

4

2012



Vedecký časopis pre potravinárstvo

Scientific Journal for Food Industry

číslo

www.potravinarstvo.com

Volume 6
Issue 4
December 2012

potravinarstvo 4 (6)
ISSN 1337-0960 (online)

Potravinárstvo

Vedecký časopis pre potravinárstvo

Šéfredaktor:

Ing. Peter Zajác, PhD.
SPU Nitra

Zástupca šéf redaktora:

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

Redaktori:

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

Predseda redakčnej rady:

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

Redakčná rada:

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

Potravinárstvo

Scientific Journal for Food Industry

Editor:

Peter Zajác
SUA Nitra

Deputy of Editor:

Jozef Golian
SUA Nitra

Sub-Editor:

Radoslav Židek,
Jozef Čapla,
Vladimír Vietoris
SUA Nitra

Chairman, Editorial Board:

Jozef Golian,
SUA Nitra

Editorial Board:

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

• **Potravinárstvo**® • **Ročník:** 6, č. 4/2012 • Vedecký časopis pre potravinárstvo • Scientific Journal for Food Industry • **Vydavateľ:** Ing. Peter Zajác, HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce. Vydavateľ úzko spolupracuje s Katedrou hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre • **Nakladateľ:** Združenie HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **Periodicita:** vychádza 4x do roka v elektronickej forme • **Internetová stránka časopisu:** www.potravinarstvo.com • **Adresa redakcie:** Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **E-mail:** info@potravinarstvo.com • **Tel.:** +421908164361, +421904138562 • **Jazyková úprava:** Publikované články neprešli jazykovou úpravou • **Grafická úprava:** Flame-studio Nitra • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **Miesto vydania:** Nitra • **Právne informácie a autorské práva:** Za obsah jednotlivých článkov zodpovedajú autori. Za obsah inzerátov zodpovedajú inzerenti • Časopis je indexovaný v databázach: UIUC OAI registry, OAIster, AGRIS FAO, DOAJ, Google Scholar a CrossRef • **Názov a skratka pomocou ktorých je časopis indexovaný v medzinárodných databázach:** *Potravinarstvo, Potr.*

Všetky práva vyhradené, © 2012 Potravinárstvo®
Evidenčné číslo Ministerstva kultúry SR: 3771/09
ISSN 1337-0960 (online verzia)



Katedra hygieny a bezpečnosti
potravín



HISTOLOGICAL CHANGES IN *POECILIA RETICULATA* AFTER INTERACTION OF IONIZING RADIATION AND ZINC SULFID

Viera Almášiová, Andrej Renčko, Katarína Holovská, Michaela Špalková

ABSTRACT

In our experiment we have studied interaction of ionizing radiation and zinc at *Poecilia reticulata*. Fish were irradiated with a 20 Gy of gamma-rays. Zinc sulphate in concentration 25 mg.l⁻¹ was added to water in aquarium. Food intake, clinical symptoms and histological changes were followed after gamma-irradiation and zinc sulfid in guppy *Poecilia reticulata*. In the first days timidity and lethargy were observed. The most prominent clinical symptoms observed were emaciation, hampered breathing and haemorrhages. Histological findings corresponded with these symptoms.

Keywords: histological changes, ionizing radiation, zinc sulfid, *Poecilia reticulata*

ÚVOD

V súvislosti s rozsiahlym zavádzaním atómovej energie do praxe sa prejavila nutnosť vypracovať spôsoby ochrany pred žiarením. Z týchto dôvodov je dôležité poznať biologické vplyvy ionizujúceho žiarenia a patogenézu choroby z ožiarenia. V súčasnej dobe už bolo zhromaždené obrovské množstvo faktov o rôznych aspektoch pôsobenia ionizujúceho žiarenia na živé organizmy (Cigánková et al., 1993; Cigánková and Cigánek, 1998), avšak aj napriek tomu neexistuje jednotná teória mechanizmu ich biologického pôsobenia. Vo väčšine publikovaných prác sa venuje len malá pozornosť tak závažným účinkom interakcií žiarenia a kovov u rýb. Do ovzdušia, vody a pôdy sa dostávajú toxické látky, ktoré sa následne stávajú súčasťou kolobehu látok v prírode. Prírodnou súčasťou všetkých ekosystémov sú rôzne ťažké kovy (Koréneková et al., 2002; Nováková et al., 2007). Medzi najdôležitejšie kontaminanty životného prostredia zo skupiny ťažkých kovov patria ortuť, olovo, kadmium, zinok, meď, chróm a polokov arzén, ktoré nepriaznivo pôsobia na organizmus ľudí (Kimáková, 2008) aj zvierat (Kramárová et al., 2005; Kolesárová et al., 2008; Koréneková et al., 2008; Massányi et al., 2008; Lukačinová et al., 2008; Cigánková et al., 2010).

Klasickým príkladom prvku, ktorého biologický účinok je v maximálnej miere závislý na koncentrácii je zinok. Ako významný biogénny prvok je prítomný prakticky vo všetkých živočíšnych a rastlinných tkanivách. Ovplyvňuje syntézu a metabolizmus bielkovín, sacharidov a hormónov. Mechanizmus účinku a toxicita spočíva v inhibícii niektorých enzýmov acetylcholinesterázy, katalázy, kyslej fosfatázy, pepsínu, trypsínu a amylázy závislej na SH- skupinách (Bencko et al., 1984). Zinok ako karcinogén je preskúmaný najmenej, aj keď nádorové tkanivo má vyššiu koncentráciu zinku ako normálne. Boli potvrdené aj jeho mutagénne účinky. Pre overovanie citlivosti biotestov je štandardne používaný síran zinočnatý. Účinok gama žiarenia a zvýšených dávok zinku na ryby sa skúmal v relatívne menšom rozsahu. V ostatnej

dobe sa v biomedicínskych výskumoch začínajú používať alternatívne modelové systémy (Dvořák and Beňová 2002; Dvořák et al., 2005; Sklenář et al., 2006; Nováková et al., 2007). Široké uplatnenie nadobúdajú tiež akváriové ryby, predovšetkým *Poecilia reticulata* a *Danio rerio* (Lešník and Jurčina, 1994).

MATERIÁL A METODIKA

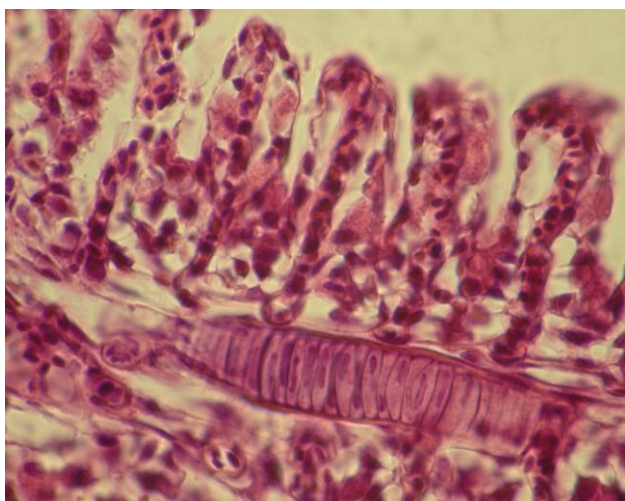
V experimente sme použili ryby *Poecilia reticulata* z laboratórneho chovu založeného pred dvoma rokmi z jedincov získaných zo špeciálneho chovu gupiek určených pre laboratórne účely. Chov sme udržiavali za konštantných podmienok: voda o teplote 24 °C, obsah Ca + Mg 0,7 mmol.l⁻¹, pH 7,04, umelé vzduchovanie, filtrácia vody, fotoperiódá 12 hod/deň (OECD, 1992). Ryby sme krmili živou, vložkovou a granulovanou potravou. Pokusné ryby náhodne vybrané a rozdelené do skupín sme chovali za rovnakých podmienok. V každej experimentálnej skupine bolo 30 rýb. Pre 1 chovnú skupinu sme použili akvárium o objeme 20 litrov. V priebehu pokusu sme skrmovali vložkové krmivo (AQUA EXOTIC, Kapušany, Slovakia).

V priebehu 30 dní po ožiarení sme ryby pozorovali a denne zaznamenávali údaje o klinických príznakoch a zmenách správania. Ryby boli ožiarené dávkou 20 Gy gama lúčmi ⁶⁰Co-zdroj Chisostat pri príkone 11,36 Gy/min. Ryby sme ožiarili v sklenenej Petriho miske v akváriovej vode, pri výške vodného stĺpca 1 cm. Zdanlivo boli ožiarené aj kontroly, t.j. podrobili sa všetkým procedúram manipulácie ako ožarované, s výnimkou samotného ožarovania gama lúčmi.

Do akváriovej vody sme pridali síran zinočnatý v koncentrácii 25 mg.l⁻¹. Vzorky na histologické vyšetrenie boli spracované bežne zaužívanou metódikou. Celé ryby boli fixované v 4 % neutrálnom formole a zaliate do parafínu. Histologické zmeny o hrúbke 7 µm boli ofarbené Hematoxylin-eozínom. Vzorky sme vyšetřovali svetelným mikroskopom JENAMED s digitálnym mikrografickým zariadením.

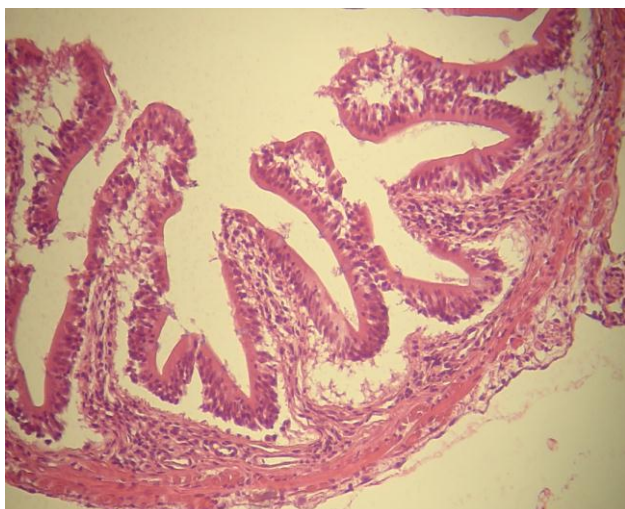
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V prvých dňoch po ožiarení sme u rýb pozorovali plachosť a malátnosť, málo sa pohybovali a mali nekoordinované pohyby. Príjem potravy bol znížený a od 10. dňa po ožiarení sme pozorovali odmietanie potravy, čo viedlo k nápadnému vychudnutiu. Medzi prvé zmeny na tele ožiarených rýb patrilo exoftalmus na oboch očiach, ktorému často predchádzala hemoragia oka. Od 7. dňa po ožiarení sme pozorovali nápadné prudké dýchanie s kŕčovito doširoka otvorenými ústnymi otvormi. 3 dni pred úhynutím telo rýb bolo v polohe kolmo na hladinu tak, že papuľky mali na hladine a chvostové plutvy smerovali ku dnu akvária. Vyššie percento úhynu a výraznejšie klinické príznaky sme pozorovali u samíc. Naše pozorovania sa zhodujú s výsledkami aj iných autorov (Eliáš et al., 2004).

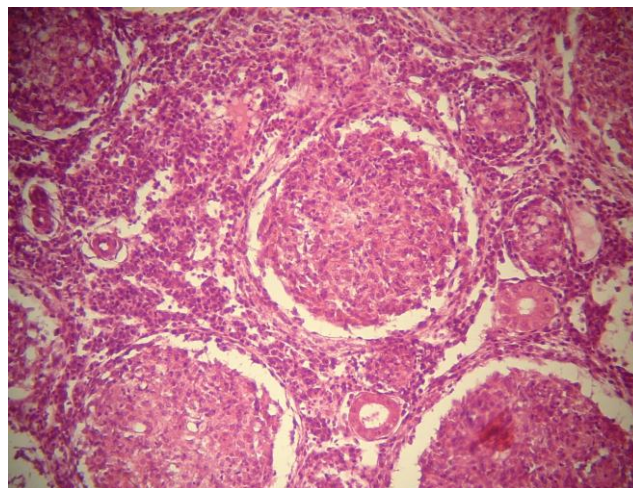


Obr. 1 Pozdĺžny rez časťou žiabier po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého (H – E; zväčšenie 400 x)

Po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a zinku z klinických príznakov sme pozorovali plachosť, malátnosť, znížený príjem potravy, krvácaniny, sťažené



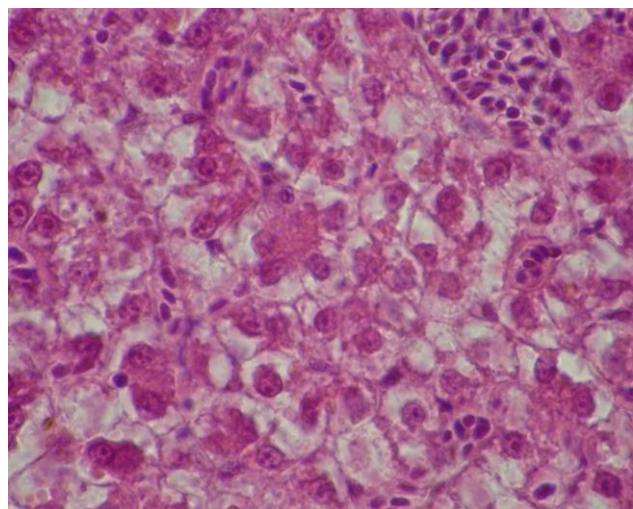
Obr. 2 Priečny rez časťou čreva po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého (H – E; zväčšenie 200 x)



Obr. 3 Rez parenchýmom obličky po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého (H – E; zväčšenie 200 x)

dýchanie a vychudnutosť.

Histologickým vyšetrením sme zistili u pokusných rýb po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého na žiabrach patologické zmeny. Na báze epitelových buniek sa nachádzali vakuoly a v niektorých žiabrach sme pozorovali masy denzného materiálu. Predpokladáme, že sa jedná o krvné zrazeniny v cievach (obr. 1). Výrazné zmeny sme pozorovali aj v štruktúre čreva (obr. 2). Črevné klky boli výrazne poškodené v celom rozsahu. Epitel bol odlúpnutý a na báze črevných klkov sa nachádzali rozsiahle prázdne priestory. Pozorovali sme zvýšené množstvo intraepitelových lymfocytov, ako aj lymfocytov vo väzive. V dôsledku vysokej radiosenzitivity deliacich sa enterocytov dochádza k prerušeniu ich tvorby v kryptách, posunu k vrcholom klkov a náhrade funkčne odumretých enterocytov. Tento stav vedie k prerušeniu celého obnovovacieho procesu črevnej sliznice a strate funkčnej schopnosti črevnej sliznice. Klinicky sa tento stav prejavuje hnačkami, nechutenstvom a následnou kachexiou. Porušenie črevného



Obr. 4 Rez časťou parenchýmu pečene po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého (H – E; zväčšenie 200 x)

bariéry bolo pozorované aj pri chorobe z ožiarenia u cicavcov (Procházka and Dvořák, 2002; Beňová et al., 2007) aj rýb (Beňová et al., 2009) a súvisí s vysokou rádiosenzitivitou epitelových buniek. Nami pozorované nechutenstvo je podobné ako sa uvádza po ožiarení cicavcov a vtákov a aké popisala u *Poecilia reticulata* ožiarených x-lúčmi (Seilerová, 1986).

V parenchýme obličiek boli najvýraznejšie poškodené obličkové telieska (obr. 3), ktoré boli ohraničené Bowmanovým púzdom s výrazne poškodeným jednovrstvovým dlaždicovým epitelom. Niektoré obličkové telieska obsahovali homogénny materiál a odumierali. Kanáliky nefrónu nejavili výraznejšie známky poškodenia štruktúry. V interstíciu tkaniva obličiek sa nachádzali zhluky hemopoetického tkaniva, ktoré zohráva dôležitú úlohu v tvorbe erytrocytov a leukocytoov a množstvo krvných ciev.

V porovnaní s kontrolou sme morfológické zmeny pozorovali aj v parenchýme pečene po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého (obr. 4). Pečeňové bunky – hepatocyty boli polyedrického tvaru s výrazným okrúhlym centrálnou uloženým jadrom a výrazným jadriekom a v ich cytoplazme sa nachádzali početné tukové vakuoly rôznej veľkosti. Krvné cievy boli nastrieknuté a obsahovali množstvo krvných elementov.

Zinok patrí k biogénnym prvkom a je prítomný prakticky vo všetkých živočíšnych a rastlinných tkanivách. Hlavnou cestou jeho vstupu do organizmu je inhalácia a ingescia. Resorpcia zinku v tráviacom aparáte je obmedzená. Do organizmu sa z čreva dostane len asi 10 %. Ak je sliznica tenkého čreva poškodená, vstrebávanie môže byť podstatne vyššie.

Po inhalácii pár alebo veľmi jemného prachu kovového zinku a oxidu zinočnatého dochádza u ľudí k tzv. horúčke zlievačov. Dostávajú sa pocity malátnosti, bolesti hlavy, sucho v ústach s pocitom kovovej chuti, škrabanie v krku, bolesti na hrudníku a dráždivý kašeľ. Po niekoľkých hodinách sa objaví zimnica a teplota vystúpi až na 39 °C. Horúčka trvá niekoľko dní a pripomína záchvat malárie. Klinicky možno na pľúcach nájsť astmoidný nález. Častá býva glykosúria, albuminúria a leukocytóza. Pri expozícii ZnCl₂ môže dôjsť k ťažkému postihnutiu dýchacieho aparátu, k pneumónii a pľúcnemu edému (Gandini et al., 2002). Otravy zlúčeninami zinku patria medzi zriedkavé ochorenia. Klinický obraz otravy rozpustnými soľami zinku nie je typický. Spočiatku dochádza len k zastaveniu rastu u mladých zvierat, alebo zlému zužitkovaniu krmiva. Vzniká lokálne bolestivé dráždenie až poleptanie sliznice hltana, žalúdka a čriev, čo má za následok zvracanie a krvavú hnačku s abdominálnymi bolesťami, vzniká pankreatitída (Smith and Embling, 1999; Hammond et al., 2004; Gandini et al., 2002; Meiser and Schulz, 1997). Nastáva pokles krvného tlaku a tachykardia. Poškodenie pečene sa prejavuje ikterickým zafarbením viditeľných slizníc (Hammond et al., 2004). Po dlhšom podávaní zvýšeného množstva zinku v krmive sa rast zvierat zastavuje, dostávajú sa únava, pri ošipaných krívanie, paréza panvových končatín a artritída. Pri akútnych otravách zinkom sa zvyšuje jeho obsah v pečeni a v mlieku, prejavuje sa malátnosť, znižuje sa chuť k prijímaniu potravy, objavujú sa hnačky, anémia.

ZÁVER

Po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a síranu zinočnatého sme pozorovali u rybičiek znížený príjem potravy, kachexiu, plachosť, malátnosť, sťažené dýchanie a početné hemorágie. Histologickým vyšetrením sme zistili výrazné morfológické zmeny na žiabrách, kde na báze epitelových buniek sa nachádzali vakuoly a v cievach krvné zrazeniny. Výrazné patologické zmeny boli aj v štruktúre čreva. Poškodené boli črevné klky, ich epitel bol odlúpnutý a výrazne bolo zvýšené množstvo intraepitelových lymfocytov, ako aj lymfocytov vo väzive. Nedochádzalo tu k obnove enterocytov v črevných kryptách a ich posunu k vrcholom klkov. V parenchýme obličiek boli najvýraznejšie poškodené obličkové telieska, zatiaľ čo kanáliky nefrónu nejavili výraznejšie známky poškodenia. V cytoplazme pečenej buniek sa nachádzali početné tukové vakuoly rôznej veľkosti a krvné cievy boli výrazne nastrieknuté. Na základe uvedených klinických príznakov a patologicko-morfológických zmien v sledovaných orgánoch u rýb po kombinovanom účinku ionizujúceho žiarenia a zinku konštatujeme, že tieto sú podobné ako boli popísané u vtákov, cicavcov aj u ľudí.

LITERATÚRA

- BENCKO, V., CIKRT, M., LENER, J. 1984. Toxické kovy v pracovnom a životnom prostredí človeka. Praha, Avicenum, s. 48-56.
- BEŇOVÁ, K., STRÍŠKOVÁ, K., DVOŘÁK, P. 2007. Postirradiational changes in hematologic parameters and in intestinal microflora in rats. *Acta Facult. Ecol.*, vol. 16, Suppl. no. 1, p. 33-36.
- BEŇOVÁ, K., DVOŘÁK, P., HALÁN, M., KALENIČOVÁ, Z., SEHNÁLKOVÁ, H., CIGÁNKOVÁ, V. 2009. Effects of gamma-irradiation on microbial contamination and on histological changes of muscle in *Poecilia reticulata*. *Acta Vet. Brno*, no. 78, p. 173-177.
- CIGÁNKOVÁ, V., CIGÁNEK, J., TOMAJKOVÁ, E., 1993. Post-irradiation morphological changes in the testes of adult dogs. *Folia Veter.* vol. 37, no. 3-4, p. 103-109.
- CIGÁNKOVÁ, V., CIGÁNEK, J., TOMAJKOVÁ, E. 1996. Post-irradiation morphological changes in the testes of sexually immature dogs. *Folia Veter.* vol. 40, no. 1-2, p. 5-8.
- CIGÁNKOVÁ, V., CIGÁNEK, J. 1998. Apoptóza a nekróza semenníkov psov po ožiarení gama lúčmi. *Slov. Vet. Čas.* no. 23, p. 259-263.
- CIGÁNKOVÁ, V., ALMÁŠIOVÁ, V., HOLOVSKÁ, K. 2010. Morphological changes in duodenal epithelium of Japanese quail after chronic cadmium exposure. *Polish J. of Environ. Stud.* vol. 19, no. 2, p. 275-282.
- DVOŘÁK, P., BEŇOVÁ, K. 2002. The investigation of interaction of low doses of ionizing radiation and risk factors by means of *Artemia salina* biotest. *Folia Veter.*, vol. 46, no. 4, p. 195-197.
- DVOŘÁK, P., ŠUCMAN, E., BEŇOVÁ, K. 2005. The development of a ten-day biotest using *Artemia salina* nauplii. *Biologia Bratislava* vol. 60, no. 5, p. 593-597.
- ELIÁŠ, E., BEŇOVÁ, K., FALIS, M., KEREKÉNIÓVÁ, E. 2004. Changes of ionizing radiation on *Poecilia reticulata* exposed to various doses. VI. KMVP, VFU Brno, p. 142-144, ISBN 7305-493-0,
- GANDINI, G., BETTINI, G., PIETRA, M., MANDRIOLI, L., CARPENE, E. 2002. Clinical and pathological findings of acute zinc intoxication in a puppy. *J. Small Anim. Pract.* no. 43, p. 539-542.

- HAMMOND, G. M., LOEWEN, M. E., BLAKLEY, B. R. 2004. Diagnosis and treatment of zinc poisoning in a dog. *Veterinary and Human Toxicology* no. 46, p. 272-275.
- KIMÁKOVÁ, T. 2008. Niektoré informácie k výskytu ortuti na Slovensku. *Medicínsky monitor* no. 4, s. 8-15.
- KOLESÁROVÁ, A., SLAMEČKA, J., JURČÍK, R., TARTARUCH, F., LUKÁČ, N., KOVÁČIK, J., CAPCAROVÁ, M., VALENT, M., MASSÁNYI, P. 2008. Environmental levels of cadmium, lead and mercury in brown hares and their relation to blood metabolic parameters. *J. Environm. Sci. Health A* no. 43, p. 646-650.
- KORÉNEKOVÁ, B., SKALICKÁ, M., NAĎ, P. 2002: Cadmium exposure of cattle after long-term emission from polluted area. *Trace Elem. Electrolytes* no. 19: p. 97-99.
- KORÉNEKOVÁ, B., SKALICKÁ, M., KOŽÁROVÁ, I., NAGY, J., MÁTĚ, D., NAĎ, P. 2008. Comparison of cadmium, lead and nickel accumulation in liver, breast and leg muscles of shot and killed pheasants. *Slov. J. Anim. Sci.* vol. 41, no. 4, p. 184-186.
- KRAMÁROVÁ, M., MASSÁNYI, P., SLAMEČKA, J., TATARUCH, F., JANČOVÁ, A., GAŠPARÍK, J., FABIŠ, M., KOVÁČIK, J., TOMAN, R., GALOVÁ, J., JURČÍK, J. 2005. Distribution of cadmium and lead in liver of some wild animals in Slovakia. *J. Environ. Sci. Health A*, no. 40, p. 593-600.
- LEŠNÍK, F., JURČINA, A. 1994. Model system-fishis. *Veterinářství* 2, no. 94, p. 77.
- MASSÁNYI, P., WEIS, J., LUKÁČ, N., TRANDŽÍK, J., BYSTRICKÁ, J. 2008. Cadmium, zinc, copper, sodium and potassium concentrations in rooster and turkey semen and their correlation. *J. Environm. Sci. Health A* no. 43, p. 563-565.
- LUKACINOVA, A., BENACKA, R., LOVASOVA, E., RACZ, O., NISTIAR, F. 2008. Reproduction parameters in low dose chronic exposure with heavy metals in rats. *Polish J. Environ. Stud.* no. 17, p. 911.
- MEISER, H., SCHULZ, R. 1997. Zinc poisoning and copper deficiency in the dog – an expanded case study. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* no. 110, p. 284-287.
- NOVÁKOVÁ, J., DAŇOVÁ, D., STRIŠKOVÁ, K., HROMADA, R., MIČKOVÁ, H. 2007. Zinc and cadmium toxicity using a biotest with *Artemia franciscana*. *Acta Vet. Brno* no. 76, p. 635-642.
- SEIDELOVÁ, A. 1986. Lethal effect of X-rays on penquin fish varieties *Poecilia reticulata* Peters and *Brachydanio rerio*. *Radiobiologia* no. 6, p. 820-822
- SKLENÁŘ, Z., DVORÁK, P., BEŇOVÁ, K. 2006. Možnosti využití biotestu s salina pri studování *Artemia* toxikologických účinků inhibitoru cyklin-dependentních kináz. *Klin. Farmakol. Farm.* no. 20, p. 62-65.
- SMITH, B. L., EMBLING, P. P. 1999. Effect of prior sporidesmin intoxication on the pancreopathy associated with zinc oxide toxicity, *New Zeland Veterinary Journal* no. 47, p. 25-27.

Contact address:

MVDr. Viera Almasiova, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic, E-mail: almasiova@uvm.sk

MVDr. Andrej Rencko, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic, E-mail: rencko@uvm.sk

MVDr. Katarina Holovska, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic, E-mail: kholovska@uvm.sk

MVDr. Michaela Spalkova, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic, E-mail: spalkova@uvm.sk

QUANTIFICATION OF GENETICALLY MODIFIED MAIZE MON 810 IN PROCESSED FOODS

Eva Bergerová, Zuzana Godálová, Peter Siekel

ABSTRACT

Maize MON 810 (*Zea mays* L.) represents the majority of genetically modified food crops. It is the only transgenic cultivar grown in the EU (European Union) countries and food products with its content higher than 0.9 % must be labelled. This study was aimed at impact of food processing (temperature, pH and pressure) on DNA degradation and quantification of the genetically modified maize MON 810. The transgenic DNA was quantified by the real-time polymerase chain reaction method. Processing as is high temperature (121 °C), elevated pressure (0.1 MPa) and low pH 2.25 fragmented DNA. A consequence of two order difference in the species specific gene content compared to the transgenic DNA content in plant materials used has led to false negative results in the quantification of transgenic DNA. The maize containing 4.2 % of the transgene after processing appeared to be as low as 3.0 % (100 °C) and 1.9 % (121 °C, 0.1 MPa). The 2.1 % amount of transgene dropped at 100 °C to 1.0 % and at 121 °C, 0.1 MPa to 0.6 %. Under such make up the DNA degradation of transgenic content showed up 2 or 3 time higher decrease a consequence of unequal gene presence. Such genes disparity is expressed as considerable decrease of transgenic content while the decrease of species specific gene content remains unnoticed. Based on our findings we conclude that high degree of processing might have led to false negative results of the transgenic constituent quantification. Determination of GMO content in processed foods may leads to incorrect statement and labelling in these cases could misleads consumers.

Keywords: processed food, MON 810 maize, PCR quantification

ÚVOD

Už více jak 10 let je v centru odborné pozornosti, ale i laické veřejnosti problematika využívání geneticky modifikovaných (GM) plodin, potravin a krmiv. Součástí potravin jsou především složky pocházející z geneticky modifikovaných organismů (GMO), přičemž kukuřice a sója jsou nejvíce používané geneticky upravené rostliny (Mazzara et al., 2009). V EU je autorizovaných celkem 30 především rostlinných produktů a z nich 12 kultivarů GM kukuřice. Legislativa EU vyžaduje označování uvedených potravin v případě, že obsah GM složky je vyšší než 0,9 %, a to za předpokladu, že je tento obsah náhodný či technologicky nevyhnutelný (Regulation (EC) No 1830/2003). Na stanovení množství transgenní složky v potravinách jsou dostupné bioanalytické metody založené na analýze DNA a proteinů. V současné době se uplatňuje zejména metoda PCR (polymerázová řetězová reakce), zaměřená na sledování přítomnosti GMO. Validované postupy, dostupné v EU, jsou optimalizované pouze pro suroviny a technologicky neopracované potraviny a jejich složky (Directive 2003/89/EC; Rodríguez-Lazáro et al., 2007). Při úpravě potravin vznikají změny analytických komponentů, významná je především degradace DNA jak cereálních (Gryson et al., 2007; Hrnčířová et al., 2008; Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011), tak i jiných rostlinných materiálů vyskytujících se např. v masových, resp. pekárenských výrobcích (Meyer et al., 1996). Na citlivost vzpomínané

PCR metody poukázal Hird a i. (Hird et al., 2006) ve své práci, která byla zaměřená na vliv velikosti amplifikované DNA v opracovaných masových výrobcích. Zjistili, že PCR produkty o velikosti 351 bp byly detekovatelné lépe, než specifické a běžně používané menší amplikony (80 – 121 bp). Technologické zpracování potravin se může podílet na ovlivnění kvality dosažených výsledků získaných po PCR z pohledu kvalitativní analýzy a i kvantifikace složek potravin (Bergerová et al., 2011; Berdal & Holst-Jensen, 2001). Názory a publikované výsledky v tomto směru však nejsou jednoznačné. Zatímco Debode a i. (Debode et al., 2007) nezjistili žádný rozdíl mezi obsahem transgenní složky DNA po technologickém ošetření, další autoři rozdíl zjistili (Yoshimura et al., 2005).

Nejznámějším zástupcem transgenní kukuřice je rostlina obsahující bakteriální gen z *Bacillus thuringiensis*, ssp. *kurstaki* HD-1, která byla modifikována na produkci proteinu CRY1A(b) (Querci et al., 2004), který je toxický a působí vůči specifickým druhům hmyzích škůdců. V České i Slovenské republice v současné době patří k povoleným i komerčně pěstovaným plodinám kukuřice MON810, která díky vlastní produkci uvedeného toxinu umožňuje velmi efektivní ochranu proti zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*), jehož housenky závažně poškozují rostlinu a následně se zvyšuje napadení zrn v palici houbovými chorobami (plísněmi produkujícími

mykotoxiny), takže dochází k poklesu množství i kvality sklizeného produktu (Knowles, 1994).

V práci jsme se zaměřili na sledování účinků technologického zpracování GM kukuřice MON 810 a konvenční kukuřice, kdy jsme pomocí sterilizace společně působení teploty, pH a tlaku navodili podobné podmínky, kterými se upravují některé konzervované potraviny. Experimenty byly založené na stanovení množství a degradace transgenní složky v technologicky opracovaných potravinových maticích.

MATERIÁL A METODY

Rostlinný materiál

Zrna konvenční kukuřice (*Zea mays* L.) byly získány z místní obchodní sítě (Mariana, Ivanka pri Dunaji, Slovensko). Vzorky modifikované kukuřice MON 810 (4,2 a 2,1 %) byly získány z České republiky (Agrokomplex Kunovice) a ze Slovenska (Merkanta International, Bratislava). Jako kontrola nám posloužily reálné vzorky konzervované kukuřice z obchodních sítí: Tesco, Billa (Novofrukt, Nové Zámky, Slovensko) a jako pozitivní kontrolu PCR jsme použili technologicky neopracovaný (nativní) vzorek konvenční kukuřice a MON 810, tedy DNA ze zelené části rostlin.

Podmínky konzervace: sterilizace

Zrna kukuřice byly konzervované ve třech různých nálevech: slaný (kontrolní) a dva druhy sladko-kyselého nálevu. Slaný nálev (pH 7,6) obsahoval 20 g soli v 1 l pitné vody. První sladkokyselý nálev (pH 2,25) obsahoval 20 g soli, 100 g cukru, 250 ml 8 % octu a 1 l pitné vody. Druhý sladko-kyselý nálev (pH 4,25) měl to stejné složení jako předcházející nálev, pouze obsahoval 3 ml octu. Vzorky kukuřičných zrn byly konzervované s využitím tlaku (120 °C; 2 min, 5 min a 10 min, 0,1 MPa) a sterilizací ve vodní koupeli (100 °C; 10 min, 20 min a 30 min), ponechány tři týdny v těchto nálevech a poté sušeny na vzduchu při pokojové teplotě.

Extrakce DNA

Konzervované vzorky byly homogenizovány na mouku pomocí mixeru AY47R1 (Moulinex, Barcelona, Španělsko). Mouka byla dále osetá přes síta poskytující velikost částic v oblasti 0,2-0,8 mm. DNA byla poté izolována v triplexu pomocí extrakční metody cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB); (ISO 21571:2005), nebo pomocí komerční soupravy GeneSpin kit (GeneScan, Teltow, Německo). DNA ze zelených částí rostliny (pozitivní kontrola) byla extrahována pomocí DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Kalifornie, USA) Množství DNA jsme určili spektrofotometricky (SmartSpec™ Plus spektrofotometr, BioRad, Hercules, Kalifornie, USA).

Monitorování degradace DNA

Degradaci DNA jsme monitorovali pomocí metody PCR použitím cyklu BioRad (iCycler Thermal Cycler, Sergate, Itálie), protokol PCR: Úvodní denaturace 95 °C 5 min., 40 cyklů: Denaturace 95 °C 30 s., Anelace 65 °C 30 s., Polymerizace 72 °C 1 min. a závěrečná polymerizace 72 °C 10 min.. PCR reakční směs ve 25 µl obsahovala: 1x koncentrovaný PCR roztok (Qiagen, Hieden, Německo); 2,5 mmol.l⁻¹ MgCl₂; 200 µmol.l⁻¹ dNTP (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA); 0,3 µmol.l⁻¹ primerů, dále 1 U HotStar Taq polymerázy (Qiagen) a 2,5 µl DNA. Primery pro jednotlivé sekvence

druhově specifických genů high mobility group (*hmg*) a invertázového genu (*ivn*), jako i transgenu *cryIAb* a sondy, se kterými jsme pracovali, byly navrhnuté pomocí GeneBank (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Maryland, USA) a optimalizované použitím speciálního programu Primer 3 (Whitehead Institute Nine Cambridge Center, Cambridge, Massachusetts, USA). Amplikony byly analyzovány elektroforézou v 1,5 % agarózovém gelu. Jako pozitivní kontrolu PCR reakce jsme použili DNA extrahovanou ze zelené části transgenní a technologicky nezatižené (nativní) rostliny. Negativní kontrola obsahovala pouze PCR reakční směs doplněná o vodu bez přidání templátu.

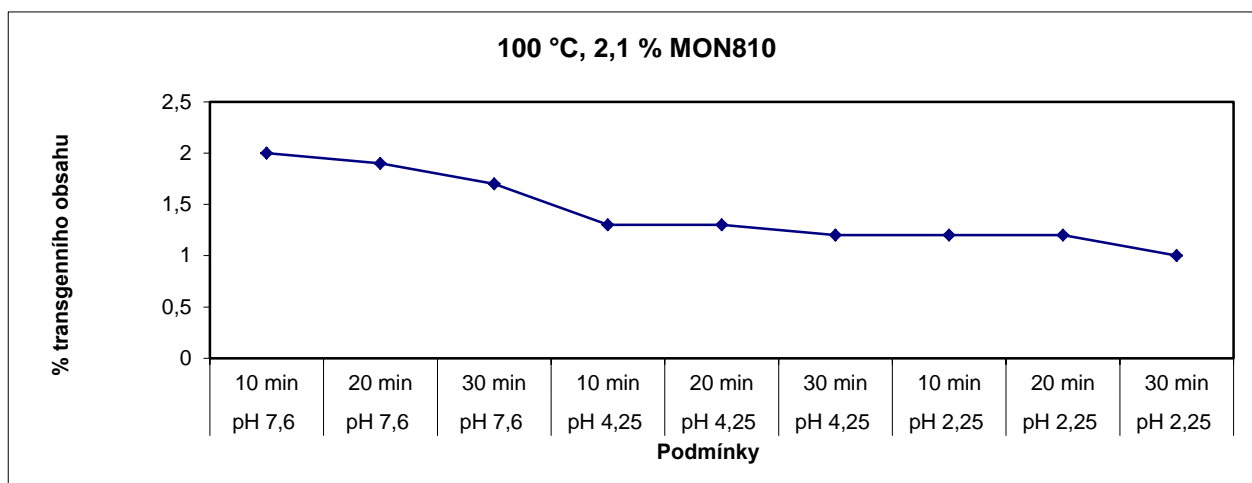
Kvantitativní analýza transgenní DNA

Pro zjištění přítomnosti množství (%) transgenní složky DNA v kukuřičných vzorcích MON 810 jsme použili metodu real-time PCR pomocí cyklu GeneAmp® PCR System 7900 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA) a BioRad iCycler (Thermal Cycler, Sergate, Itálie). PCR reakční směs ve 25 µl obsahovala: 1x koncentrovaný PCR roztok (Qiagen, Hieden, Německo); 2,5 mmol.l⁻¹ MgCl₂; 200 µmol.l⁻¹ dNTP (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA); 0,3 µmol.l⁻¹ primerů, 10 mmol.l⁻¹ sondy značenou FAM, dále 1 U HotStar Taq polymerázy (Qiagen) a 2,5 µl DNA¹⁶. Jako pozitivní kontrolu jsme použili vzorek konvenční nativní kukuřice a nativní MON 810. Negativní kontrola obsahovala pouze reakční PCR směs doplněnou o vodu bez přidání templátu. Množství extrahované a v reakci použité DNA z transgenní i netransgenní kukuřice pomocí metody CTAB bylo 40 ng.µl⁻¹ o objemu 2,5 µl DNA na reakci. Amplifikované části *hmg* genu kukuřice (79 bp) a *cryIAb* genu (92 bp) byly použity pro DNA kvantitativní analýzu. Kalibrační křivka reakce byla vytvořena softverovým vyhodnocením přístroje s parametry korelačního koeficientu R²: 0,98 – 1,0 korespondující s účinností reakce E: 99,1 – 99,8 % a slope: -2,3 – -2,4.

Pro vytvoření kalibrační křivky byl použit referenční materiál (IRMM, Geel Belgie). Obsah transgenní DNA složky byl stanoven na základě kalibrační čáry a amplifikační křivky a hodnocen vzhledem k množství transgenu k druhově specifickému genu. Každý analyzovaný vzorek byl kvantifikován osmkrát. Všechny výsledky týkající se problematiky vlivu technologických účinků na degradaci transgenní složky DNA jsou statisticky vyhodnoceny.

VÝSLEDKY

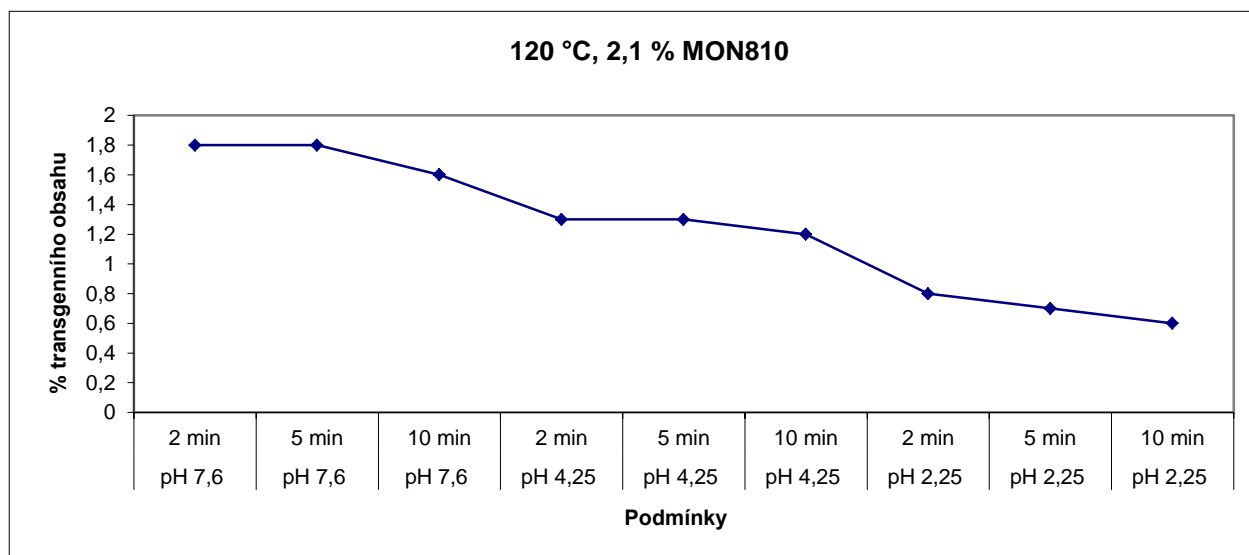
DNA byla po homogenizaci extrahována dvěma různými způsoby: CTAB a GeneSpinem. Pro pozitivní kontrolu jsme zvolili extrakci DNA pomocí komerčního kitu DNAeasy. Optimální metodou pro extrakci DNA z našich technologicky ošetřených i syrových vzorků byla metoda CTAB, pomocí které se nám podařilo získat dostatečné množství i kvalitu nukleových kyselin pro analýzu PCR (Bergerová et al., 2011). V případě komerčního kitu GeneSpinu, jsme získali sice DNA o vhodné kvantitě, ale čistota nebyla optimální. Vliv technologického zpracování potravin na degradaci DNA jsme dále analyzovali pomocí PCR a vizualizovali elektroforézou v agarózovém gelu (1,5 %). Čím jsou nastoleny přísnější podmínky sterilizace nebo konzervování (tj. vyšší stupeň degradace DNA), tím



Obr. 1A Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 2,1 % MON 810 při nízkém pH a zvýšené teplotě

se hodnoty Ct u PCR výrazně zvýší a ve vzorcích je detekována přítomnost menšího množství intaktní DNA (Moreano et al., 2005). V naší práci jsme zaznamenali degradaci u všech větších ampliconů DNA v jednotlivých maticích po technologickém zpracování. Jednoznačně byla degradována DNA pro velké amplicony (401 bp, 696 bp) invertázového genu konvenční kukuřice i MON 810. Naopak menší amplicony (79 bp, 92 bp, 124 bp) genu *hmg* nebo *cryIA(b)* u MON 810 bylo ještě možné identifikovat. Pro kvantifikaci transgenního obsahu DNA ve vzorcích technologicky ošetřené kukuřice MON 810 jsme použili metodu real-time PCR (Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011). V případě vzorku MON 810 s

obsahu 4,2 % GM se po technologickém ošetření snížilo v průměru na 3,5 % při 100 °C (Obr. 1C) a na 2,93 % GM při 120 °C; 0,1 MPa (Obr. 1D). Konkrétně v případě 4,2 % GM kukuřice, tedy transgenní obsah DNA se snížil o 43,5 % při 120 °C, v podmínce pH 2,25 a u 2,1 % vzorků MON 810 se transgenní obsah DNA snížil o 65 % ve stejné podmínce. Dokázali jsme, že jen určitý stupeň technologického procesu potravin má vliv na snížení stanovitelného množství transgenního obsahu DNA. Větší vliv na stanovení transgenní DNA byl sledován v kombinaci s účinky teploty a tlaku (120 °C a 0,1 MPa) ve srovnání se sterilizací při 100 °C. Je také zřejmé, že snížení stanovitelného obsahu transgenní složky nastalo

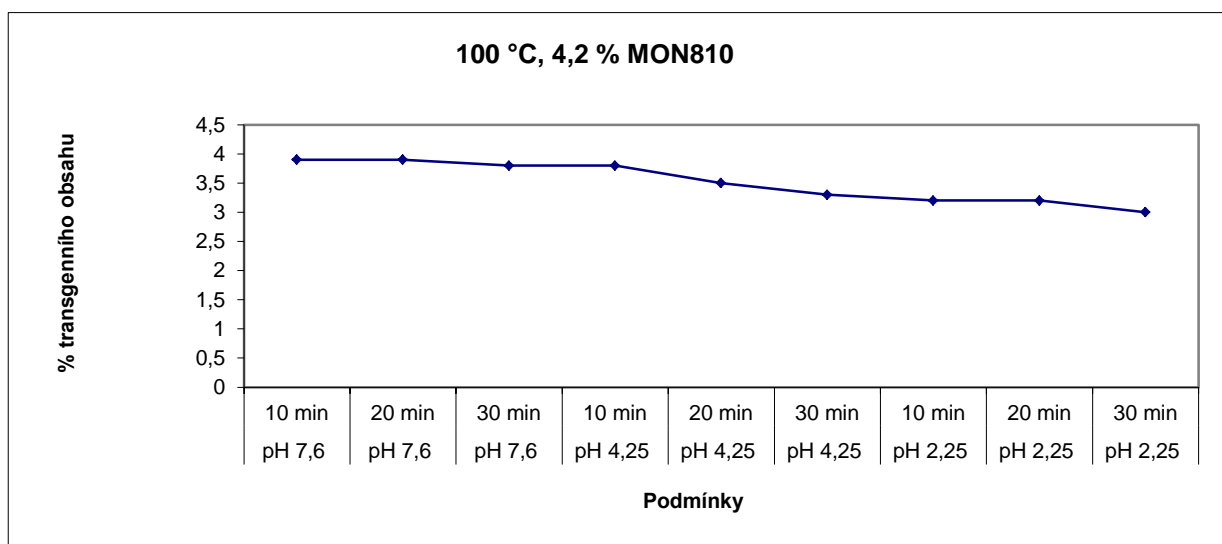


Obr. 1B Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 2,1 % MON 810 při nízkém pH, zvýšeném tlaku a zvýšené teplotě

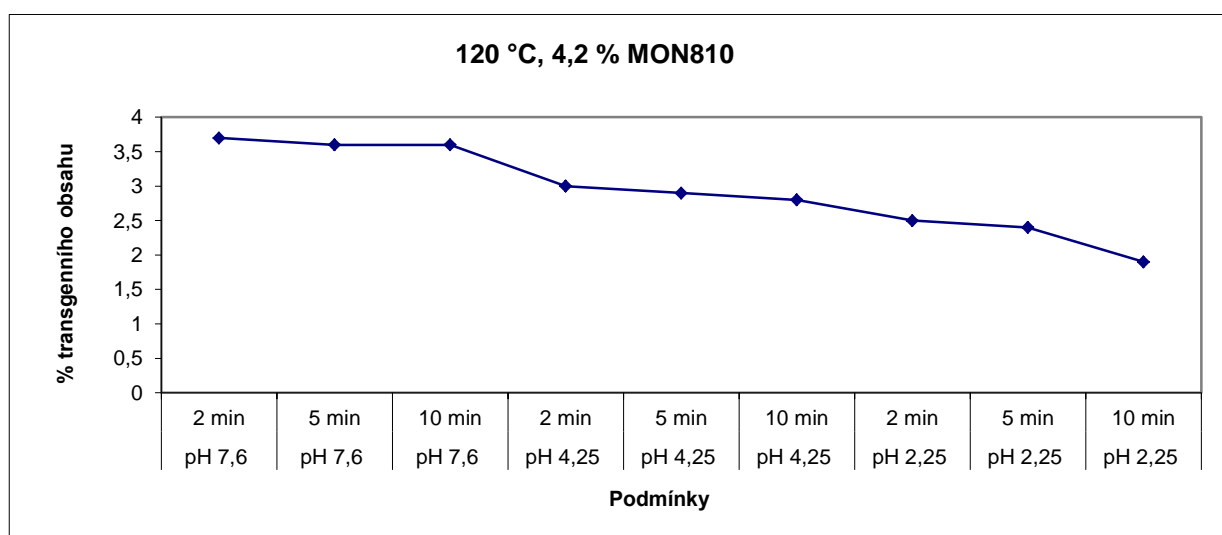
obsahem 4,2 % a 2,1 % transgenní složky (Bergerová et al., 2010) jsme zjistili, že některé technologické procesy mají značný vliv na degradaci DNA a nezávisí na druhu matrice. Podobně jsme dle získaných výsledků dosáhly toho, že množství transgenní DNA u kukuřice MON 810 o

v uvedených podmínkách, na rozdíl od vzorků, které nebyly technologicky ošetřeny (Bergerová et al., 2010).

Vzorek MON 810, který obsahoval 2,1 % transgenu, tedy jeho GM obsah poklesl průměrně na 1,41 % při 100 °C (Obr. 1A) a při 120 °C; 0,1 MPa na 1,23 % (Obr. 1B).



Obr. 1C Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 4,2 % MON 810 při nízkém pH a zvýšené teplotě



Obr. 1D Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 4,2% MON 810 při nízkém pH, zvýšeném tlaku a zvýšené teplotě

Podobně jsme dle získaných výsledků dosáhly toho, že množství transgenní DNA u kukuřice MON 810 o obsahu 4,2 % GM se po technologickém ošetření snížilo v průměru na 3,5 % při 100 °C (Obr. 1C) a na 2,93 % GM při 120 °C; 0,1 MPa (Obr. 1D).

Konkrétně v případě 4,2 % GM kukuřice, tedy transgenní obsah DNA se snížil o 43,5 % při 120 °C, v podmínce pH 2,25 a u 2,1 % vzorků MON 810 se transgenní obsah DNA snížil o 65 % ve stejné podmínce. Dokázali jsme, že jen určitý stupeň technologického procesu potravin má vliv na snížení stanovitelného množství transgenního obsahu DNA. Větší vliv na stanovení transgenní DNA byl sledován v kombinaci s účinky teploty a tlaku (120 °C a 0,1 MPa) ve srovnání se sterilizací při 100 °C. Je také zřejmé, že snížení stanovitelného obsahu transgenní složky nastalo v uvedených podmínkách, na rozdíl od vzorků, které nebyly technologicky ošetřeny (Bergerová et al., 2010).

DISKUSE

Potraviny jsou často při svém zpracování a výrobě vystavené různým technologickým podmínkám, např. pH (kyselé a alkalické), teplota, tlak, UV-záření atd. Při těchto procesech dochází k postupné fragmentaci DNA (Bergerová et al., 2011). K podobnému závěru dospěly i další práce (Bergerová et al., 2010; Meyer et al., 1996; Gryson et al., 2002). Analýza PCR vzorků sterilizovaných (100 °C) nebo autoklávovaných (120 °C) odhalila snížení extrahované DNA v závislosti na velikosti amplifikované DNA a časovému intervalu daných technologických podmínek (pH, tlak); (Obr. 1). Toto zjištění koreluje s dřívějšími pracemi (Gryson et al., 2007; Gryson et al., 2008; Hird et al., 2006; Hrnčířová et al., 2008; Moreano et al., 2005).

V předložené práci jsme se snažili posoudit účinek technologických procesů vzhledem na změnu transgenního obsahu (%) DNA v geneticky modifikovaných matricích rostlinného původu prostřednictvím metody real-time

PCR, čemuž předcházelo sledovat i uvedený efekt vzhledem na degradaci DNA pomocí PCR. Celkový obsah DNA a kvalita potravin závisí na stupni technologického zpracování, během něhož dochází k postupnému fragmentaci nukleové kyseliny (Hrnčířová et al., 2008; Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011; Trifa & Zhang, 2004). I když legislativa EU vyžaduje označování transgenního obsahu v GM potravinách, jsou analytické metody vyvinuté pouze pro syrové rostlinné materiály (Regulation (EC) No 1830/2003; Directive 2003/89/EC). Zpracování potravin a s ní související degradace DNA, může ovlivnit kvalitu i kvantitu analytických výsledků. Bylo zjištěno, že stupeň technologického zpracování potravin má vliv na množství stanovené transgenní složky DNA v potravine. Tím pádem může být nesprávně hodnocen obsah GM složky potravin (Berdal & Holst-Jensen, 2001), což může uvést spotřebitele v omyl. V některých studiích byly prokázány statisticky významné rozdíly při kvantifikaci obsahu transgenní DNA mezi syrovými a technologicky opracovanými potravinami (Yoshimura et al., 2005). Naopak, další výsledky ukázaly, že fyzikální degradace DNA neprokázala žádný vliv na detekci (Hurst et al., 1999) a relativní kvantifikaci transgenního obsahu DNA (Debode et al., 2007). Avšak např. Engel s kolektivem (Engel et al., 2006) požadovali další experimentální důkazy, které by přispěly k závěru, že ani složení potravin, ani jejich zpracování neovlivnily správnost vyhodnocení relativní kvantifikace geneticky modifikovaných potravin. V naší práci jsme se i z tohoto důvodu zaměřili na technologicky zpracované vzorky, které byly vystaveny různým podmínkám sterilizace (teplota, tlak, pH) a v různých časových intervalech. Z uvedeného vyplývá, že hlavní roli při degradaci DNA v technologicky ošetřených potravinách sehrává především spolupůsobení teploty, tlaku a pH a je časově závislé.

ZÁVER

Vliv technologického působení při opracování vzorků vzhledem na degradaci DNA a kvantitu transgenního obsahu v potravinách byl monitorován pomocí PCR/ real-time PCR. Zjistili jsme, že velikost amplikonů, stupeň a doba technologického opracování vzorků za spoluúčasti tlaku a pH mohou ovlivnit detekci ale i kvantifikaci DNA v modifikovaných a nemodifikovaných potravinách rostlinného původu. Na rozdíl od procesu, kdy byla matrice vystavena pouze tepelné úpravě a kde se neprojevil jednoznačný pokles GM obsahu DNA, tedy tepelné opracování nemělo praktické důsledky pro kvantifikaci transgenního obsahu v potravinách. Teplota, čas procesu, nízké pH a zvýšený tlak (120 °C a 0,1 MPa) však už značně ovlivňují kvantifikaci transgenní DNA. V uvedených experimentech byl zjištěn 2 – 3 násobný pokles obsahu transgenní složky. Domníváme se, že stanovení nižšího obsahu transgenní DNA oproti vzorkům před zpracováním, je zapříčiněno kromě stupně a doby technologického opracování i rozdílným počtem kopií druhově specifického genu vůči transgenu. Transgenu se vyskytuje v analyzovaných vzorcích o dva řády méně. Tento jev by mohl být způsoben zřetelnějším úbytkem transgenní DNA a zanedbatelným poklesem množství druhově specifického genu. Navíc se musí brát do úvahy i to, že typ kvantifikace transgenní složky je relativní.

LITERATURA

- BERDAL, K. H., HOLST-JENSEN, A. 2001. Roundup Ready soybean event-specific real-time quantitative PCR assay and estimation of the practical detection and quantification limits in GMO analyses. In *Eur. Food Research Technol.*, vol. 213, p. 432-438.
- BERGEROVÁ, E., GODÁLOVÁ, Z., SIEKEL, P. 2011. Combined effect of temperature, pressure and low pH on the DNA amplification of plant derived foods. In *CJFS*, vol. 29, p. 337-345.
- BERGEROVÁ, E., HRNČÍROVÁ, Z., STANKOVSKÁ, M., LOPAŠOVSKÁ, M., SIEKEL, P. 2010. Effect of Thermal Treatment on the Amplification and Quantification of Transgenic and Non-transgenic Soybean and Maize DNA. In *Food Analytical Methods*, vol. 3, p. 211-218.
- DEBODE, F., JANSSEN, E., BERBEN, G. 2007. Physical degradation of genomic DNA of soybean flours does not impair relative quantification of its transgenic content. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 226, p. 273-280.
- DIRECTIVE 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs. 2003. In *Official Journal of the European Union*, L308, p. 15.
- ENGEL, K. H., MOREANO, F., EHLERT, A., BUSCH, U. 2006. Quantification of DNA from genetically modified organisms in composite and processed foods. In *Trends in Food Sci. Technol.*, vol. 17, p. 490-497.
- GRYSON, N., MESSENS, K., DEWETTINCK, K. 2007. Influence of cocoa components on the PCR detection of soy lecithin DNA. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 226, p. 247-254.
- GRYSON, N., MESSENS, K., DEWETTINCK, K. 2008. PCR amplification of soy ingredients in bread. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 227, p. 345-351.
- GRYSON, N., RONSSSE, F., MESSENS, K., DE LOOSE, M., VERLEYEN, T., DEWETTINCK, K. 2002. Detection of DNA during the refining of soybean oil. In *JAACS*, vol. 79, p. 171-174.
- HIRD, H., CHISHOLM, J., SANCHEZ, A., HERNANDEZ, C., GOODIER, R., SCHNEEDE, K., BOLTZ, C., POOPING, B. 2006. Effect of heat and pressure processing on DNA fragmentation and implications for the detection of meat using a real-time polymerase chain reaction. In *Food Addit. Contam.*, vol. 23, p. 645-650.
- HRNČÍROVÁ, Z., BERGEROVÁ, E., SIEKEL, P. 2008. Effects of technological treatment on DNA degradation in selected food matrices of plant origin. In *JFNR*, vol. 47, p. 23-28.
- HURST, C. D., KNIGHT, A., BRUCE, I. J. 1999. PCR Detection of Genetically Modified Soya and Maize in Foodstuffs. In *Mol. Breeding*, vol. 5, p. 579-586.
- KNOWLES, B. H. 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta endotoxins. In *Adv. Insect Physiol.*, vol. 24, p. 275-336.
- MAZZARA, M., GRAZIOLI, E., SAVINI, C., VAN DEN EEDE, G. 2009. Report on the Verification of the Performance of a MON810 Event-specific Method on Maize Line MON810 Using Real-time PCR. In *Office for Official Publications of the European Communities*, Luxembourg.
- MEYER, R., CHARDONNENS, F., HÜBNER, P., LÜTHY, J. 1996. Polymerase Chain Reaction (PCR) in the Quality and Safety Assurance of Food: Detection of Soya in Processed Meat Products. In *Zeit Lebensm. Unters. Forsch.*, vol. 203, p. 339-344.

MOREANO, F., BUSCH, U., ENGEL, K. H. 2005. Distortion of genetically modified organisms quantification in processed foods: Influence of particle size composition and heat-induced DNA degradation. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 53, p. 9971-9979.

QUERCI, M. JERMINI, M., VAN DEN EEDE G. 2004. The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms, User manual. European Commission, Joint Research Centre, 114, ISBN-92-79-02242-3.

REGULATION (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. 2003. In *Official Journal of the European Union*, L 268/24.

RODRÍGUES-LAZÁRO, D., LOMBARD, B., SMITH, H., RZEZUTKA, A., D'., AGOSTINO, M., HELMUTH, R., SCHROETER, A., MALORNY, B., MIKO, A., GUERRA, B., DAVIDSON, J., KOBILINSKY, A., HERNÁNDEZ, M., BERTHEAU, Y., COOK, N. 2007. Trends in analytical methodology in food safety and quality: monitoring microorganisms and genetically modified organisms. In *Trends Food Sci. Tech.*, vol. 8, p. 306-319.

TRIFA, Y., ZHANG, D. 2004. DNA content in embryo and endosperm of maize kernel *Zea mays* L: Impact on GMO quantification. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 52, p. 1044-1048.

YOSHIMURA, T., KURIBARA, H., MATSUOKA, T., KODAMA, T., IIDA, M., WATANABE, T., AKIYAMA, H., MAITANI, T., FURUI, S., HINO, A. 2005. Applicability of

the quantification of genetically modified organisms to foods processed from maize and soy. In *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, p. 2052-2059.

Acknowledgments:

This study was supported by the research project "The use of scientific knowledge for quality and healthy food", ITMS project no. 262402213 The project was financed by the European Regional Development Fund, the measure for the transfer of knowledge to prax.

Contact address:

RNDr. Eva Bergerová, PhD., SPUR a.s., Tř. T. Bati 299, 764 22 Zlín, ČR. E mail: eva.bergerova@spur.cz

Mgr. Zuzana Godálová, Department of Microbiology, Molecular Biology and Biotechnology, Food Research Institute, Priemysel'ná 4, 324 75 Bratislava, Slovakia, E-mail: godalova@vup.sk

doc. RNDr. Peter Siekel, CSc., Department of Microbiology, Molecular Biology and Biotechnology, Food Research Institute, Priemysel'ná 4, 324 75 Bratislava, Slovakia, E-mail: siekel@vup.sk



EFFECTIVE ANTIOXIDANT PHENOLIC COMPOUNDS IN SELECTED VARIETIES OF APPLES

Dominika Bončíková, Tomáš Tóth, Ján Tomáš, Dalaram Suleiman, Juraj Tóth, Marek Slávik

ABSTRACT

Polyphenolic compounds are effective antioxidant regarding their ability to react with free radicals of fatty acid and oxygen (free radical scavenging effect). One of the richest sources of polyphenolic compounds in human nutrition are apples (*Malus Mill.*). Our work was focused on determination of total polyphenols contents and antioxidant activity and evaluate the presence of dislocation active antioxidant components in four of selected varieties of apples Idared, Jonagold, Pinova, Topaz (peel extract and pulp extract). The total contents of phenolic compounds, determined according to the Folin-Ciocalteu reagent spectrophotometric by Lachman and antioxidant activity was measured using a free radical used in this study was 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Average content of total polyphenols in selected varieties of apples was 622,67 mg.kg⁻¹ (peel extract) and 568,7mg.kg⁻¹ (pulp extract) after harvesting. Relationships between content of total polyphenols and antioxidant activity is affected by varietal differences

Keywords: apples, antioxidant activity, total polyphenols

ÚVOD

Výroba a spotreba ovocia i zeleniny na Slovensku je už roky nízka a nič na tom nezmenil ani vstupom SR do EÚ v roku 2004. Obyvatelia Slovenska dokonca skonzumujú ročne menej ovocia a zeleniny ako v roku 1989, hoci ponuka predovšetkým čerstvých vitamínov sa neporovnateľne zlepšila. Za posledných 17 rokov klesla priemerná ročná spotreba ovocia z 54 na 51 kg. Za zníženou spotrebou sú predovšetkým zlé stravovacie návyky a žiaľ aj nedostatočný príjem finančných prostriedkov obyvateľstva. Pre mnohých ľudí je ovocie a zelenina po finlačnej stránke drahou komoditou (Euro Info, 2010).

Zásadne treba konzumovať čo najpestrejší sortiment ovocia i zeleniny, najmä preto, že v jednotlivých druhoch tak ovocia ako i zeleniny je rozdielne zloženie špecificky účinných látok (Botko, 2009).

Jablká patria medzi najžiadanejšie druhy ovocia na Slovensku podieľajúce sa na harmonickej výžive obyvateľstva a sú významným zdrojom látok so silnou antioxidantnou aktivitou

Jablká sa zaraďujú do čeľade *Rosaceae* (Ružovité), podčeľade *Pomoideae* (Jabloňové) a tvoria samostatný rod *Malus* s väčším počtom druhov. Jablká a hlavne jablkové šupky sú významným zdrojom látok so silnou antioxidantnou aktivitou. Tieto účinky sú pripisované hlavne polyfenolovým látkam (Boyer a Liu, 2004).

Polyfenoly zaujímali vedcov pre ich esenciálne funkcie vo fyziológii rastlín (rast, reprodukcia, ochrana pred patogénmi, predátormi). Neskôr sa zistil ich antioxidantný potenciál, ktorý môže byť väčší ako pri niektorých vitamínoch (Nijveldt, 2000; Manach et al., 2004), ich využiteľnosť v ľudskom organizme a možná úloha v

prevencii ochorení spojených s oxidačným stresom (kardiovaskulárne, nádorové a neurodegeneratívne ochorenia) (Mandelová, 2005).

Obsah fenolických látok v prírodných materiáloch je pomerne variabilný v závislosti od jednotlivých druhov plodín, ale aj ich odrôd. Ich obsah je podmienený geneticky a ovplyvňovaný pedoklimatickými alebo agronomickými environmentálnymi podmienkami. Zmeny obsahu fenolických látok do značnej miery indikuje aj klíčenie, stupeň zrelosti, ale i technické spracovanie a skladovanie rastlinných produktov (Drewnowski, Gomez, 2000)

Rastlinné fenolové zlúčeniny reprezentujú veľmi pestrú skupinu organických zlúčenín, veľmi heterogénnu z hľadiska chemickej štruktúry. Vyskytujú sa často vo forme monomérov viazaných so sacharidmi. Chemické spojenie fenolových zlúčenín s cukrami je vo forme glykozidov, kde cukrovú zložku tvoria jednoduché cukry, disacharidy, resp. oligosacharidy. Necukrovú zložku (glykón) tvoria fenolové zlúčeniny (Vollmannová, Tomáš, Tóth, 2006).

Významnou skupinou polyfenolových látok v jablkách sú aj flavonoidy, pričom Alonso-Salces (2004), zistil, že vzorka testovaných jabĺk obsahovala šesť rôznych glykozidov kvercetínu a a šesť rôznych glykozidov izoramnetínu. Kvercetín a izoramnetín vykazujú antioxidantnú, protirakovinovú, protizápalovú (Boyer et al., 2005), antimikrobiálnu aktivitu dokázanú in vitro a in vivo.

Ovocie je v porovnaní so zeleninou na polyfenoly bohatšie, pričom fenolové kyseliny predstavujú 1/3 z celkového príjmu polyfenolov, flavonoidy zvyšné 2/3. Ľudia konzumujúci pestrú stravu by mali prijímať viac než

1g fenolických kyselín a flavonoidov denne (**Mandelová, 2005**).

V jablkách sa nachádzajú hlavne dva deriváty kyseliny benzoovej, a to kyselina protokatechuová a kyselina gálová vyskytujúca sa vo forme hydrolizovateľných tanínov (galotanínov a elagitaníny), v skupine polyfenolov jablák prevažujú flavonoly (kvercetín, kemferol), katechíny a prokyanidíny, z fenolických kyselín je to kyselina hydroxyškoricová (derivátom je kyselina chlorogénová) (**Rosa, 2005**).

Biologické vlastnosti týchto látok nie sú doposiaľ dostatočne preskúmané, no i napriek tomu už boli publikované antioxidačné, protizápalové účinky galotanínu inhibíciou exprese chymikínov a cytokínov na molekulovej i molekulárno-biologickej úrovni antikarcinogénne a hypolipidemické účinky inhibíciou skvalénovej dráhy v mieste syntézy farenzylu (**Dury-Burn et al., 2007**).

Antioxidačná sila potravín je výrazom ich schopnosti ako brániť ľudský organizmus proti pôsobeniu voľných radikálov a zabrániť vzniku degeneratívnych ochorení, ktoré vyplývajú z pretrvávajúceho pôsobenia oxidačného stresu (**Majo et al., 2008**).

Na celkovej antioxidačnej kapacite organizmu sa uplatňujú kyselina močová asi 50 %, plazmatické bielkoviny 12 %, vitamín C 24 %, vitamín E 7 % a ostatné antioxidanty 7 %.

Z pohľadu výživy sú významné najmä vitamíny a stopové prvky (**Béderová, 2000**).

Veľkú pozornosť pútajú najmä prírodné antioxidanty obsiahnuté v ovocí, pretože účinne chránia pred voľnými radikálmi a považujú sa za menej toxické ako syntetické antioxidanty, ako napríklad butylhydroxyvanizol (BHA) a butylovaný hydroxyltoluén (BHT), ktoré sú podozrivé z karcinogenity a spôsobujú poškodenie pečene (**Ratnam, Ankole et al., 2006**). Taktiež majú širokú škálu použitia v prírodných aditívach v potravinách a v kozmetike (**Jayaprakasha, 2007**).

Zvýšená konzumácia potravín bohatých na prírodné antioxidanty, znižuje riziko výskytu civilizačných ochorení (**Perez-Jimenez, Saura-Calixto, 2005**).

Na rozdiel od vitamínov a minerálnych látok v súčasnej dobe neexistuje pre spotrebiteľa žiadne odporúčanie od zodpovedných orgánov, čo sa týka konzumovaného množstva a druhu antioxidantov v dennej strave (**Kopáčová, 2006**).

Štúdie potvrdili, že 100 g čerstvých jablák má antioxidačnú aktivitu ekvivalentnú 1500 mg vitamínu C (**Boyer, 2006**).

Koncentrácie fenolových antioxidantov sú citlivé na enviromentálne podmienky pred a po zbere (**Kalt et al., 1999**).

Antioxidačnú aktivitu ovplyvňuje viacero faktorov, ako je skladovanie, prítomnosť iných výživných látok a vzájomné interakcie medzi nimi (**Cardelle-Cobas, 2005**).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky rastlinného materiálu sme pre potreby tohto experimentu zberali v štádiu plnej zrelosti. Odberným miestom bolo poľnohospodárske družstvo, Nové Zámky. Odoberané vzorky sme analyzovali jednotlivými zvolenými metodikami v časovom rozmedzí troch mesiacov. Na získanie extraktu z dužiny, ale i zo šúp vybraných odrôd

jablák bol použitý 80 %-ný etanol, pre potreby čistého extraktu sa používal filtračný papier.

Obsah celkových polyfenolov vo vzorkách sme stanovili štandardnou, všeobecne používanou spektrofotometrickou metódou podľa **Lachmanna (2003)** s použitím Folin-Ciocalteuovho skúmadla. Priemerný obsah polyfenolových látok vo vzorke sme získali zo šiestich paralelných stanovení.

Stanovenie celkovej antioxidačnej aktivity (TAC) sme uskutočnili pomocou radikálu DPPH. Zlúčenina DPPH (2,2-difenyyl-1-pikrylhydrazyl) sa v roztoku prevedie na svoju radikálovú formu, ktorá je relatívne stabilná a zároveň farebná. Po pridaní vzorky sa v prítomnosti redukčných faktorov radikál zžhaša a tým odfarbuje. Táto zmena sa hodnotí spektrofotometricky (**Brand-Williams, 1995**).

VÝSLEDKY

Najnižšiu antioxidačnú aktivitu zistenú z analyzovaných odrôd po zbere má odroda Topaz (42,59 %) v extrakte zo šúp jablák, ako aj pri extrakte z dužiny (38,68 %). Ako je z obrázku č. 1 a č. 2 zrejme, hodnoty antioxidačnej aktivity zistené po zbere a neskôr počas jednotlivých fáz skladovania vo vybraných odrodách jablák v extrakte zo šúp, ako i v extrakte z dužiny sa rapídne nemenili ani u jednej z vybraných odrôd jablák, pomerne stále a vysoké hodnoty antioxidačnej aktivity boli zaznamenané u odrody Jonagold, kde najvyššia nameraná hodnota antioxidačnej aktivity bola (85,9 %) (extrakt šupy), rovnako silnú antioxidačnú aktivitu sme zaznamenali i v odrode Pinova (84,59 %) (extrakt šupy), rozdiel medzi najvyššou a najnižšou nameranou hodnotou tejto odrody počas jednotlivých fáz skladovania bol len 1,01 %. V odrode Idared v extrakte zo šúp najvyššia hodnota antioxidačnej aktivity bola (82,43 %) a najnižšia hodnota antioxidačnej aktivity v tejto odrode predstavovala (80,20 %).

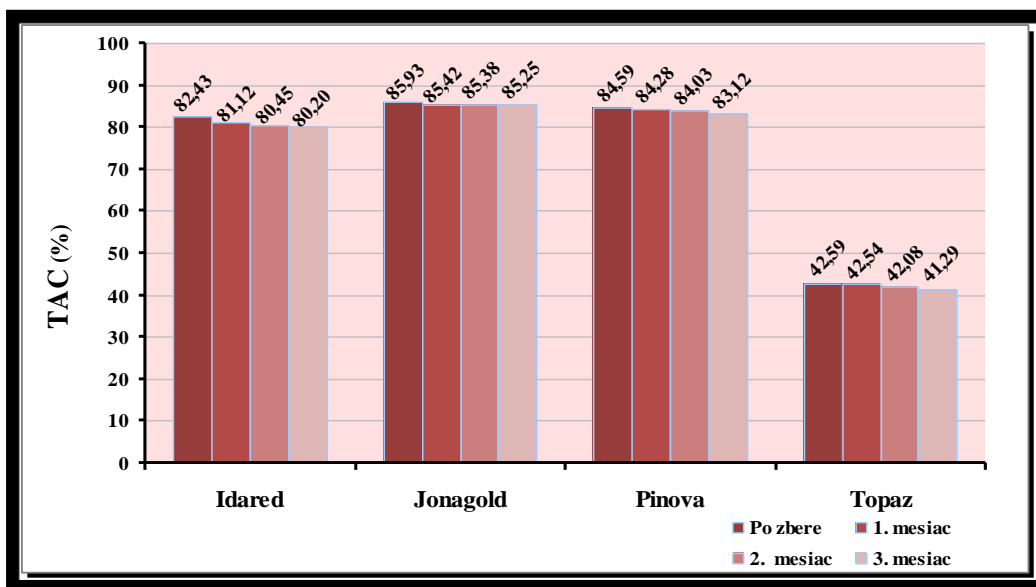
V odrodách jablák v rámci extraktu zo šúp jablák sa prejavil pokles antioxidačnej aktivity v závislosti od doby skladovania, pričom môžeme skonštatovať, že išlo však o minimálne zmeny hodnôt antioxidačnej aktivity. V porovnaní s hodnotami antioxidačnej aktivity nameranými v extrakte zo šúp jablák sú zistené hodnoty antioxidačnej aktivity merané v extrakte z dužiny jablák nižšie, a to vo všetkých odrodách, pričom v odrode Jonagold bol zaznamenaný najvýraznejší pokles antioxidačnej aktivity, kde hodnoty antioxidačnej aktivity namerané v extrakte zo šúp jablák sa pohybovali v rozmedzí od 80,59 % po zbere až po 80,27 % po treťom mesiaci skladovania, naproti tomu tá istá odroda vykazovala po zanalyzovaní extraktu z dužiny jablák hodnoty antioxidačnej aktivity od 58,43 % po zbere až po 53,98 % v treťom mesiaci skladovania. Z obrázku č. 3 a obrázku č. 4 je zrejme, že najvyšší obsah celkových polyfenolov po zbere bol nameraný v extrakte zo šúp jablák pri odrode Topaz a to 842,2 mg.kg⁻¹. Naopak, najnižší obsah celkových polyfenolov zistený po zbere v extrakte zo šúp bol v odrode Idared 496,7 mg.kg⁻¹. Priemerný obsah celkových polyfenolov v extrakte zo šúp jablák po zbere vo vybraných odrodách jablák predstavoval 585,63 mg.kg⁻¹. Podľa **Leja et al. (2003)**, **Napolatino et al. (2004)** polyfenoly prítomné v jablčnom extrakte sú zodpovedné za antioxidačnú aktivitu, nami zistené výsledky však túto skutočnosť nepotvrdzujú, príkladom toho je aj odroda

potravinárstvo

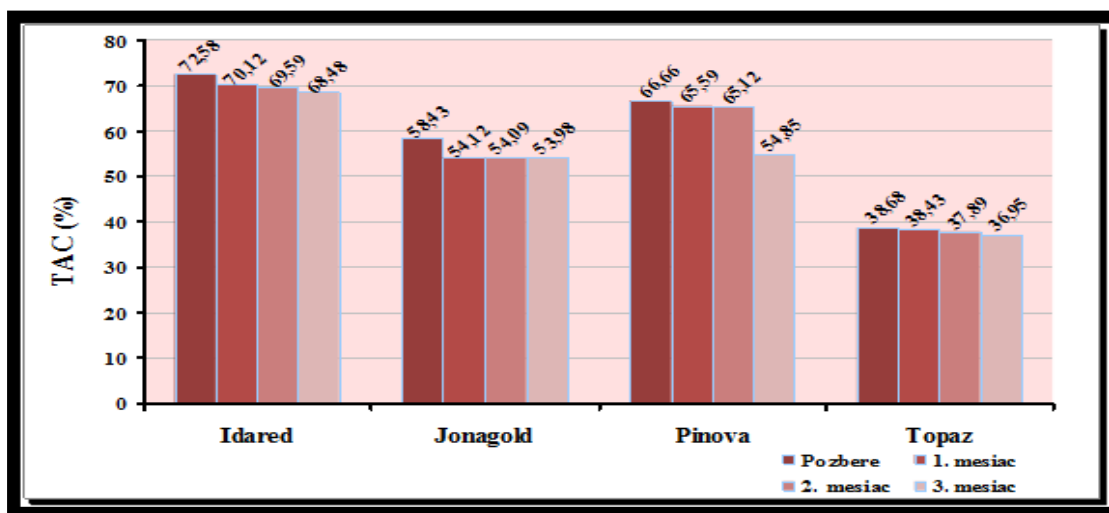
Topaz, ktorej hodnota antioxidačnej aktivity nameraná po zbere bola zo všetkých vybraných odrôd jabĺk najnižšia, predstavovala (42,59 %), ale obsah celkových polyfenolov nameraný v tom istom extrakte zo šúp jabĺk vykazoval najvyššiu hodnotu celkových polyfenolov vo všetkých vybraných odrodách jabĺk, a to 842,2 mg.kg⁻¹.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov meraných po zbere v extrakte z dužiny jabĺk sme zistili v odrode Topaz

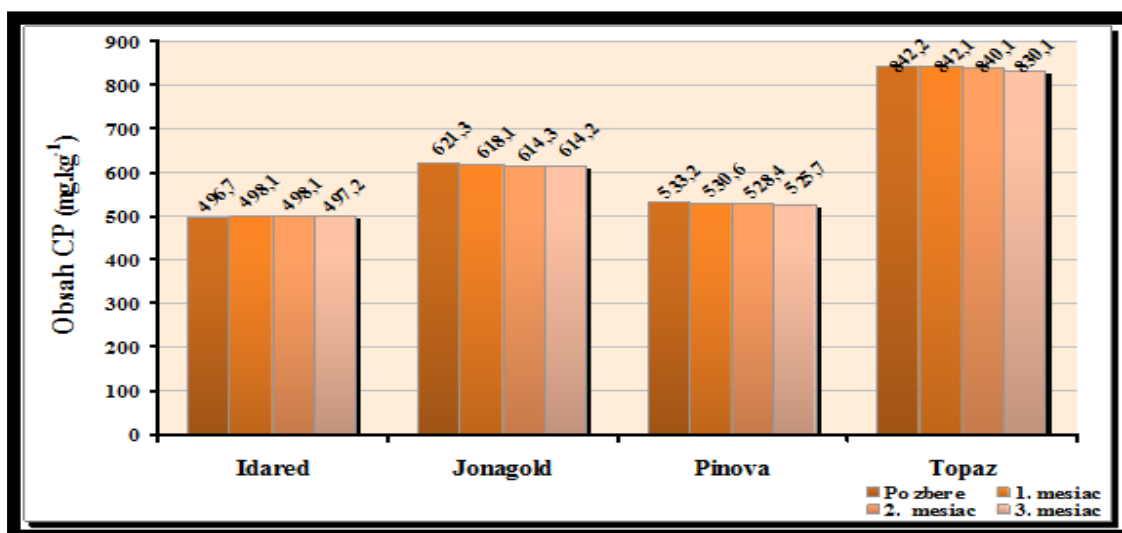
812,3 mg.kg⁻¹, pričom táto odroda mala najvyšší obsah celkových polyfenolov aj v extrakte pripravenom zo šúp jabĺk. Pomerne vyrovnané hodnoty obsahu celkových polyfenolov počas jednotlivých fáz skladovania boli zaznamenané u všetkých vybraných odrôd v rámci extraktu z dužiny jabĺk. Najnižší obsah celkových polyfenolov sme zaznamenali v odrode Idared 325,1 mg.kg⁻¹.



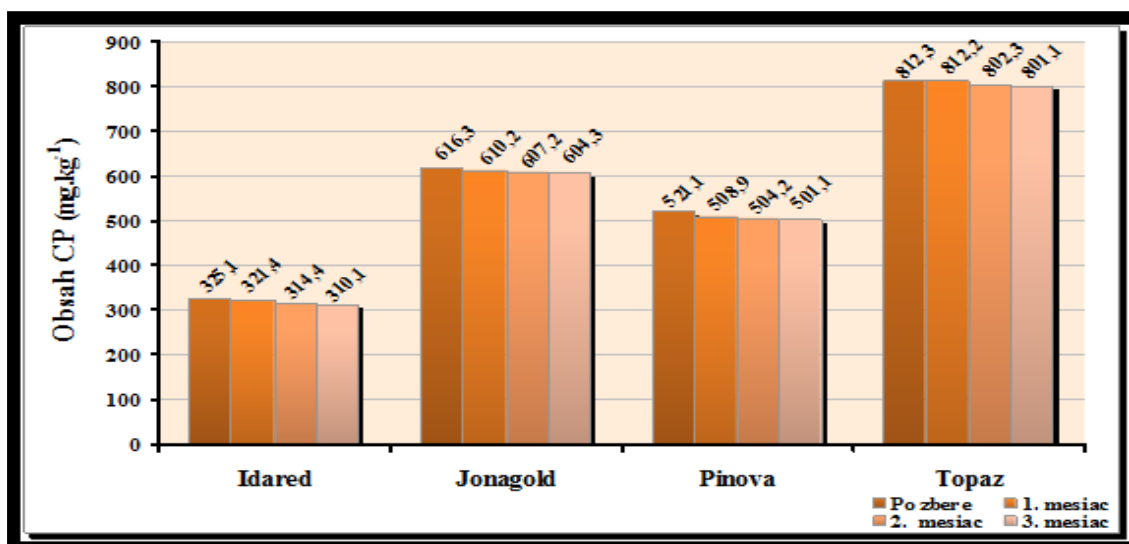
Obrázok 1 Celková antioxidačná aktivita (TAC v %) vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt šupy)



Obrázok 2 Celková antioxidačná aktivita (TAC v %) vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt dužina)



Obrázok 3 Celkový obsah polyfenolov vo vybraných odrodách jablák (extrakt šupy)



Obrázok 4 Celkový obsah polyfenolov vo vybraných odrodách jablák (extrakt dužina)

ZÁVER

Výsledok aktivity antioxidantu je ochrana biologicky dôležitých molekúl a tým v konečnom dôsledku buniek, tkanív a celého organizmu pred oxidačným poškodením voľnými radikálmi.

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) doporučuje skonzumovať päť porcií ovocia denne. Rozhodujúcim faktorom určenia antioxidantnej aktivity nebol vždy obsah celkových polyfenolov vo vybraných odrodách jablák, ale už spomínaná odrodová diferenciacia.

Niektorí autori zistili koreláciu medzi obsahom polyfenolov a antioxidantnou aktivitou, zatiaľ čo niektorí tento vzťah nepotvrdili. Naše zistené výsledky poukazujú na určitú závislosť medzi antioxidantnou aktivitou a obsahom celkových polyfenolov, no táto skutočnosť sa nepotvrdila pri všetkých odrodách jablák.

Hodnoty antioxidantnej aktivity zistené po zbere a neskôr počas jednotlivých fáz skladovania vo vybraných odrodách jablák (extrakt zo šúp) sa rapídne nemenili ani u jednej z vybraných odrôd jablák.

Najvyššiu antioxidantnú aktivitu u jablák sme zistili u odrody Jonagold, v extrakte zo šúp (85,93 %), no v dužinovom extrakte najvyššiu hodnotu antioxidantnej aktivity vykazovala už odroda Pinova (66,66%).

Najnižšiu antioxidantnú aktivitu zistenú z analyzovaných odrôd jablák po zbere mala odroda Topaz to sa potvrdilo pri meraniach tak v dužinovom extrakte, ako i v extrakte zo šúp jablák.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov po zbere bol nameraný v extrakte zo šúp jablák pri odrode Topaz a to 842,2 mg.kg⁻¹.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov meraných po zbere v extrakte z dužiny jablák sme zistili pri odrode Topaz 812,3 mg.kg⁻¹, pričom táto odroda mala najvyšší obsah celkových polyfenolov aj v extrakte pripravenom zo šúp jablák. Najnižší obsah celkových polyfenolov po zbere v dužinovom extrakte sme zaznamenali pri odrode Idared 325,1 mg.kg⁻¹.

Informácie týkajúce sa vzťahu medzi obsahom celkových polyfenolov a antioxidačnou aktivitou v ovocí uvádzané v literatúre sú protichodné

LITERATÚRA

- ALONSO, R. 2004. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. In *Journal of Agricultural Food Chemistry*, vol. 89, 2004, p. 945-948.
- BÉDEROVÁ, A. 2000. Antioxidanty v prevencii. In *Výživa a zdravie*, vol. 45, 2000, no. 3, p. 65.
- BOTKO, L. 2009. Pestovanie ovocia a zeleniny. Retrieved from the web: <http://www.tormas.sk/index.php/Pestovanie_zeleniny/zelenina.html> 24.
- BOYER, J., LIU, R. 2005. Apple phytochemicals and their health benefit. In *Nutrition Journal*, vol. 3, 2004, p. 18-21.
- BOYER, J., LIU, R. H. 2006. Polyphenols in apple extract and risk in epidemiologic studies. In *Journal of Clinical Nutrition*, vol. 31, 2006, p. 17-25
- CARDELLE-COBAS, A., MOREO, F. J., CORZO, N., OLANO, A., VILLAMIEL, M. 2005. Assessment of initial stages of Maillard reaction in dehydrated onion and garlic symplex. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 9078-9082.
- DREWNOWSKI, A., GOMEZ-CARNEROS, C. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, 2000, p. 727-747.
- DURY-BURN, C., LEQUIN, S., CHALIER P., DESOBRY, S., VOILLEY, A. Tracer aroma compound transfer from a solid and complex-flavored food matrix packed in treated papers or plastic packaging film. Publication date (Web): January 31, 2007 (Article), pp. 1411-1417. DOI:10.1021/jf0620867 2007.
- JAYAPRAKASHA, G. K., NEGI, P. S., JENA, B. S., JAGAN MOHAN RAO, L. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnanomum zeylanicum* fruit extracts. In *Journal of Food Comparison and Analysis*, vol. 20, 2007, no. 3-4, p. 330-336.
- KALT, W., FORNEY, C. F., MARTIN, A., PRIOR, R. L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol. 47, 1999, no. 11, p. 4638-4644.
- KOPÁČOVÁ, O. 2006. Jablka môžu snižovať riziko vzniku astmatu. Retrieved from the web: <http://www.agronavigator.cz>
- MAJO, D., GUARDIA, M., GIAMMANCO, S., NEVE, L., GIAMMANCO, M. 2008. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. In *Food Chemistry* 111, 2008, p. 45-49.
- MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, 2004, no. 5, p.727-747.
- MANDELOVÁ, L. 2005. Polyfenoly: rozdelení a zdroje v potravě. In *Výživa a potraviny*, vol. 60, 2005, no. 1, p. 11-14.
- NIJVELDT, R. 2000. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 74, 2000, p. 418-425.
- PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. 2005. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 5036-5040.
- RATNAM, D. V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. K., KUMAR, R. M. N. V. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. In *Journal of Controlled Release*, vol. 113, 2006, p. 189-207.
- ROSA, E. A. 2005. Changes in glucosinolate concentrations in Brassica crops throughout growing season. In *Journal Science Food Agriculture.*, 2005, vol. 4, p. 519-524.
- VOLLMANNOVÁ, A., TOMÁŠ, J., TÓTH, T. 2006. Bioflavonoidy v strukovinách, ich komponentná skladba a metódy stanovenia. In *Výživná a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*, SPU Nitra, 2006, p. 42-65. ISBN 80 – 8069 – 780 – 9.

Acknowledgments:

This work was supported by grant VEGA 1/0456/12.

Contact address:

Ing. Dominika Bončíková, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 6414376, E-mail: dominika.boncikova@gmail.com

doc. RNDr. Ing. Tomáš Tóth, PhD, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: tomas.toth@uniag.sk

prof. Ing. Ján Tomáš, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 6414264, E-mail: jan.tomas@uniag.sk

Dalaram Suleiman, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 6370 E-mail: dalaram.suleiman@uniag.sk

Ing. Juraj Tóth, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 4497 E-mail: juraj.toth@uniag.sk

Ing. Marek Slávik, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 4497 E-mail: marek.slavik@gmail.com

'OBWARZANEK KRAKOWSKI' AS A TRADITIONAL FOOD

Dorota Gałkowska, Joanna Sobolewska-Zielińska

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the quality and to compare the traditional ('obwarzanek krakowski') with the non-traditional ('obwarzanek') bakery products. Four samples were analysed for chemical composition and texture and colour of crumb. The analysed products differed in the features of general appearance and chemical composition. The traditional products became much more hard during storage time than the non-traditional ones.

Keywords: 'obwarzanek krakowski', traditional food, composition

INTRODUCTION

Traditional and regional products are strong symbols of a given region. Regional products are goods produced only in some regions of the European Union, and their name and production technology are protected by law. Traditional products owe their exceptionality to traditional manufacturing method considered as that which has been used for at list 25 years. Law regulations connected with production and protection of the traditional foods are in Council Regulation (EC) No 509/2006 of 20 March 2006 on agricultural products and foodstuffs as traditional specialities guaranteed and Council Regulation (EC) No 510/2006 of 20 March 2006 on the protection of geographical indications and designation of origin for agricultural products and foodstuffs. In Poland legal controls are contained in Law on registration and protection of names and signs of agricultural products and food products, as well as traditional products. In order to individualize these products the following measures are applied to them: Protected Designation of Origin (PDO), Protected Geographical Indication (PGI) and Traditional Speciality Guaranteed (TSG). In Poland traditional products, in number of about 937, are registered on the List of Traditional Products established by the Ministry of Agriculture and Rural Development. A registration at that List does not protect products, but only informs that some special requirements have been fulfilled. The European Union registered 34 such Polish products.

'Obwarzanek krakowski' (Kraków pretzel) is one of the traditional Polish products. It was registered on the List of Traditional Products at 28 November 2006 in the Category Bakery Products and Confectionery. In the European Union 'obwarzanek krakowski' was registered as PGI product at 30 October 2010. 'Obwarzanek krakowski' is one of the symbols of Kraków. It is a special bread product from yeast wheat dough, shaped by hand into the form of a ring twisted into a spiral, which is first boiled for a short time in water and then baked. Its crisp is browned and glossy, often sprinkled with poppy or sesame seeds or with salt. The first historical references to Krakow bakers, which granted them the right to sell their wares on the Kraków market square date back to 1257. At present

'obwarzanek krakowski' is produced by members of a guild, whose bakeries are located in the city of Krakow or in Kraków and Wieliczka districts. Unfortunately, apart from an original 'obwarzanek krakowski', which is marked by special mark, other products manufactured inconsistently with traditional recipe or beyond the area of original occurrence are sold under the name of 'obwarzanek' that is confusing for consumers.

The aim of this work was to evaluate the quality and to compare the traditional ('obwarzanek krakowski') with the non-traditional ('obwarzanek') bakery products.

MATERIAL AND METHODOLOGY

Four bakery products were bought at local bakeries or stands with products:

- A – 'obwarzanek krakowski' of producer no. 1,
- B – 'obwarzanek krakowski' of producer no. 2,
- C – 'obwarzanek' of producer no. 3,
- D – 'obwarzanek' of producer no. 4.

The samples were prepared for analyses by removing the crust from the pretzels. The crumb was analysed for water, titratable acidity, sodium chloride, ash, protein, fat, reducing sugars (PN-A-74108:1996) and total dietary fibre (AOAC Official Method 991.43). The energy value of the crumb was also determined by Atwater method (Codex Alimentarius, 2001). Moreover, the texture profile analysis (EZ Test Texture Analyzer, Shimadzu, Japan) and colour measurement in the CIE Lab system (Color i5 spectrophotometer, X-Rite, USA) of the crumb were also performed during three-day storage of the products.

RESULTS AND DISCUSSION

'Obwarzanek krakowski', as product that received PGI status, has to meet specific requirements for appearance and dimensions that are summarized in Table 1.

From the data in Table 1 it is evident that the C product differed from the other products and did not meet the requirements for 'obwarzanek krakowski' in respect of its dimensions. The appearance of the D product was similar to that of the traditional products, however, its weight was too high.

Table 1 Comparison of the analysed products in respect of the features of ‘obwarzanek krakowski’ specified in the Official Journal of the European Union (EC 2010/C 38/08)

Feature	Description	Product			
		A	B	C	D
shape	ring-shaped, in the form of an oval with a hole in the middle or, less frequently, a regular circle; surface formed by strands of dough twisted into a spiral; the strand having a round or oval cross-section	+	+	less characteristic ring-shape	+
colour	ranging from light golden through dark golden to light brown, with a distinct sheen	+	+	+	+
dimensions	diameter 12-17 cm thickness of strand 2-4 cm weight 80-120 g	+	+	higher values of the parameters	in some sites excessive thickness of strand; excessive weight
decoration	sprinkled with various ingredients, including: salt, sesame seed, poppy seed, nigella seed, mixed herbs or mixed spices (paprika, caraway, pepper), cheese or onion; also other ingredients	+	+	+	+

+ consistent with the description

Chemical composition and energy value of the products’ crust is presented in Table 2. According to the Polish Standard (PN-A-74105:1992) water content of ‘obwarzanek’ should not exceed 44%. In our study water content of products ranged from 32.1 to 34.4%. Values of titratable acidity of the products A – D were lower than 3 and therefore met the requirements of the above-mentioned Polish Standard. Reducing sugar content for low-sweetened bakery products ranges from 4 to 15% (d.b.) (PN-A-74111:1998). The traditional products (A and B) contained more reducing carbohydrates than products C and D. It is in accordance with the description of ‘obwarzanek krakowski’ in the Official Journal of the European Union (EC 2010/C 38/08) that the crisp and the crumb of ‘obwarzanek krakowski’ have a slightly sweetish taste, typical of bakery products that are first parboiled and then baked. In the literature, there is lack of information concerning ash, sodium chloride, protein and dietary fibre contents and energy value of ‘obwarzanek’. This has been also emphasized by other authors reporting on various traditional Polish products (Przygoda et al., 2009). In our study the energy value of the products A – D was calculated on the basis of their chemical composition (PN-A-79011-6:1998). The two traditional products A and B) differed significantly from each other in most of the determined chemical parameters (Table 2). The same was observed for the non-traditional products (C and D). Traditional products (‘obwarzanek krakowski’) were characterized by higher fat and reducing sugars contents

than the other products. In the case of ‘obwarzanek’ D the lowest value of titratable acidity was found. Moreover, that product had the least sodium chloride and total dietary fibre contents and the highest fat content and energy value.

Results of texture measurements of the crumb are presented in Fig. 1. It was found that on the first day of measurement hardness of the fresh traditional products (A and B) was lower than that of non-traditional ones (C and D) (Fig. 1a). Value of elasticity of product B was the highest of all the products, which did not differ significantly in respect of that parameter (Fig. 1b). The non-traditional products (C and D) were characterized by lower values of cohesiveness than product B, while no significant differences in that parameter were found between products A and D (Fig. 1c). All the four analysed products did not differ in the values of mastication measured on the day of baking (Fig. 1d). According to specification document for ‘obwarzanek krakowski’ it should have a unique crumb structure and consistency. The differences in some of the textural parameters observed in our study between ‘obwarzanek krakowski’ and ‘obwarzanek’ can result from the specificity of their production, especially the preparation of the yeast dough and parboiling.

The feature that distinguishes ‘obwarzanek krakowski’ from other bakery products is that it remains fresh for a short period of just several hours. Hardness of the crumb can be used as indicator of staling (Fiszman et al., 2005). Values of that parameter increased with storage time for

Table 2 Chemical composition and energy value of ‘obwarzanek’ products

Kind of product	Water [%]	Titrateable acidity [°]	Sodium chloride [%, d.b.]	Ash [%, d.b.]	Protein [%, d.b.]	Fat [%, d.b.]	Reducing carbohydrates [%, d.b.]	Total dietary fibre [%, d.b.]	Energy value [kcal/100 g]
A	34.4 ^a	1.7 ^a	3.3	1.06 ^a	12.0	2.9 ^a	8.9	4.1 ^a	208
B	32.4 ^b	1.3	2.7	0.90 ^b	11.0 ^a	3.1 ^a	9.7	4.2 ^a	222
C	35.8 ^a	1.5 ^a	3.5	1.11 ^a	11.4 ^b	2.5	6.7	4.1 ^a	203
D	32.1 ^b	1.0	2.8	0.87 ^b	11.2 ^{ab}	3.6	7.5	3.5	227

Means with the same letters in the columns do not differ significantly at $\alpha = 0.05$.

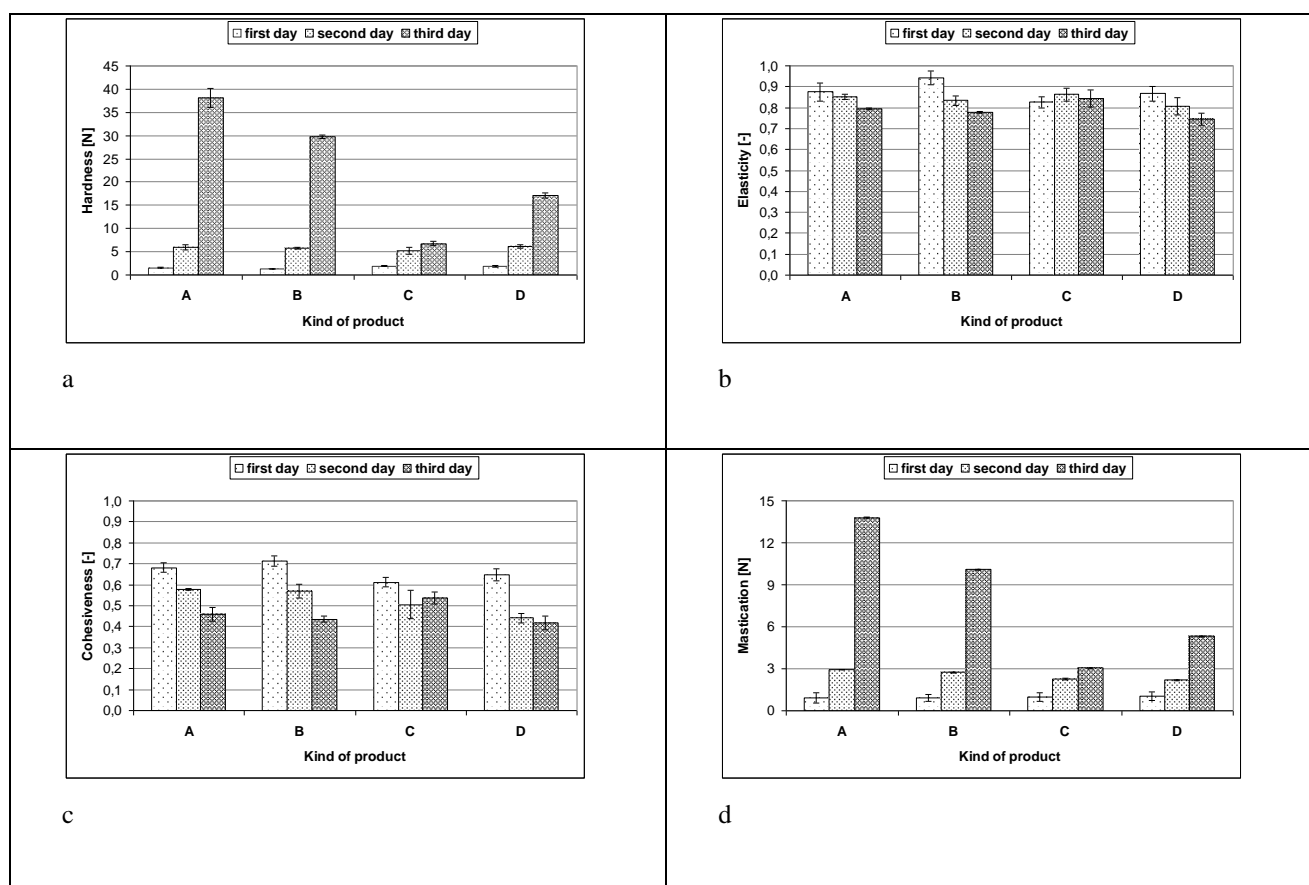


Figure 1 Texture parameters of the crumb: hardness (a), elasticity (b), cohesiveness (c), mastication (d)

all the analysed products (Fig. 1a). It was observed that the traditional products underwent staling much more than the non-traditional ones. The changes in crumb hardness values were accompanied by decreasing values of cohesiveness (Fig. 1c) and elasticity (Fig. 1b), apart from

product C in which values of the latter parameter remained constant. As a result of a significant increase in crumb hardness values, especially on third day of measurement, values of mastication also increased with storage time of the products (Fig. 1d).

Results of colour measurement revealed that products A and C did not differ significantly from each other in the value of lightness (L^*) measured on the day of baking and were darker than products B and D. The positive values of parameter a^* (ranged from 0.56 ± 0.04 to 1.87 ± 0.09) and parameter b^* (ranged from 18.64 ± 0.45 to 20.98 ± 0.72) indicated that the colour of the crumb included red and yellow components, respectively. The crumb lightness values decreased on third or second day of storage for traditional and non-traditional products, respectively. In products A and B values of parameter a^* increased during storage time, while in most cases no changes in values of parameter b^* of the analysed products were observed.

CONCLUSION

The analyzed products differed from each other in the features of general appearance. The dimensions of products C and D deviated significantly from these specified in the registration document for 'obwarzanek krakowski'. Both the traditional, and non-traditional products were diversified in the chemical composition. During storage time the values of crumb hardness of 'obwarzanek krakowski' increased much more than these of 'obwarzanek' and on the third day of measurement they were over twenty times greater than on the day of baking.

REFERENCES

- AOAC OFFICIAL METHOD 991.43. Total, Soluble and Insoluble Dietary Fiber in Foods.
- CODEX ALIMENTARIUS, 2001. Food Labelling – Complete Texts. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. *Codex Alimentarius Commission*, Rome.
- FISZMAN, S. M., SALVADOR, A., VARELA, P. 2005. Methodological developments in bread staling assessment: application to enzyme-supplemented brown pan bread. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 221, p. 616-623.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION, 16.2.2010. Publication of an application pursuant to Article 6(2) of Council Regulation (EC) No 510/2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs, EC 2010/C 38/08.

POLISH STANDARD PN-A-74105:1992. Wheat baked goods (in Polish).

POLISH STANDARD PN-A-74108:1996. Bakery products. Testing methods (in Polish).

POLISH STANDARD PN-A-74111:1998. Bakery products. Product made of dough steamed in a sodium hydrate solution or water (in Polish).

POLISH STANDARD PN-A-79011-6:1998. Dry food mixes. Test methods. Determination of calorific value (in Polish).

PRZYGODA, B., KUNACHOWICZ, H., PACZKOWSKA, M., DANIEWSKI, W., SEKUŁA, W., 2009. Nutritional value of selected traditional food. Part 1. Energy value and major constituents content. In *Bromat. Chem. Toksykol.*, vol. 42, 2009, no. 3, p. 231-235.

Contact address:

Dorota Gałkowska, PhD., University of Agriculture in Kraków, Faculty of Food Technology, Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland, E-mail: d.galkowska@ur.krakow.pl
Joanna Sobolewska-Zielińska, PhD., University of Agriculture in Kraków, Faculty of Food Technology, Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland, E-mail: rrsobole@cyf-kr.edu.pl

THE CADMIUM INTAKE OF SELECTED LEGUMES IN MODEL CONDITIONS

Luboš Harangozo, Radovan Stanovič, Július Árvay, Pavol Trebichalský

ABSTRACT

The work is to evaluate the extent of risk transfer of heavy metals from soil burdensome to their different levels of consumption of selected parts of the crop. The goal to be achieved in conditions of simulated vegetation pot experiments. To implement the experiment, we used the agricultural soil of land site Výčapy - Opatovce. The experiments use two types of leguminous plants: *Faba beans (Faba vulgaris M.)*, a variety MERLIN lentil dishes (*Lens esculentum*) variety NELKA. In one experimental tank was weighed 5 kg of soil mixed with 1 kg of silica sand, and the bottom of the container we put a small drainage layer of gravel. Within each container, we applied the calculated dose of the basic fertilizer, as well as various amounts of soluble salts of cadmium observed. Crops are harvested when fully ripe and the wet mineralization of plant samples was determined by heavy metals AAS method for device VARIAN 240FS. Significant ratio of cadmium is in the aboveground biomass of the legumes. Lentils take into aboveground biomass much more cadmium than faba beans. The cadmium content in the first two variants is significantly lower than in the next two in both crops. We may conclude that the faba beans, and lentils to accumulate an increased amount of cadmium in soil in a relatively large amount of seeds. Although it is clear that *Faba bean* received cadmium content was compared with more lentils.

Due to the significant accumulation of Cd by plants lentils and excessive production of the aboveground biomass is potentially usable lens as fytoremediation crop recovery for metallic polluted soils.

Keywords: *Faba beans*, lentils, heavy metals, cadmium, plants

ÚVOD

Kontaminácia nášho životného prostredia sa v poslednej dobe stala jedným z hlavných spoločenských problémov. Zhoršený stav životného prostredia s rozličným stupňom devastácie v jednotlivých regiónoch sa podieľa na strednej dĺžke života, zdravotnom stave obyvateľstva, genofonde hospodársky významných i voľne žijúcich druhov rastlín a živočíchov.

Medzi cudzorodé látky, ktorých je veľké množstvo, patria aj ťažké kovy. Pomerne široké použitie ťažkých kovov v rôznych oblastiach ľudských aktivít vedie k ich akumulácii v pôde, v prachových časticách, v pevných odpadoch ako i v odpadovej vode.

Potreba stanovenia obsahov rizikových stopových prvkov v pôdach vyplýva z ich toxicity pre rastliny a prostredníctvom následného vstupu do potravinového reťazca aj pre ďalšie živé organizmy. Tieto prvky sa v pôdach vyskytujú v rôznych koncentráciách a v rôznych formách. Rôzny je však aj pôvod a zdroj. Rovnako dôležitý je ich obsah v prirodzených geochemických anomáliách ako aj v oblastiach, v ktorých je zvýšený obsah ťažkých kovov spôsobený lokálnym, regionálnym alebo globálnym prenosom emisií z rôznych antropických aktivít (priemysel, energetika, doprava, poľnohospodárstvo).

Kadmium

Od objavu "Itai-Itai" choroby v Japonsku v roku 1950 si neziaduče účinky kadmia na ľudské zdravie prostredníctvom spotreby kadmium kontaminovanej ryže získali veľkú pozornosť. Boli vykonané rozsiahle výskumy ohľadom environmentálnej toxicity kadmia v kontaminovaných pôdach a vodách (Wu et al., 1992; Zhou, 1995; Ned et al., 2001; Ghosal a Kavirádž, 2002)

a (Evangelou et al., 2004). Značná časť výskumu sa zaoberala aj vplyvom kadmia na plodiny a iné poľnohospodárske rastliny (Zhou a Gao, 1994; Zhou a Gao, 1994b; Cheng a Zhou, 2002; Kukier a Chaney, 2002; Selvi et al., 2003 a Wang a Zhou, 2005).

Kadmium je rozšírené v pôde, vode a v atmosfére. Je uvoľnené do životného prostredia z vykurovacích systémov, hutí, zo spaľovní odpadov, z mestskej premávky, cementárni, a vyskytujú sa ako kontaminanty fosforečných hnojív (Di Toppi a Gabrielli, 1999; Benavides et al., 2005 a Gratão et al., 2005). Kadmium je známy inhibítor v biologických procesoch. Tento ión nemá pravdepodobne žiadnu biologickú funkciu (Nursita et al., 2009), ale jeho prítomnosť vo vode a pôde, a to aj pri nízkych koncentráciách, je závažný environmentálny problém a môže spôsobiť vážne zdravotné problémy, ako je odvápnenie, arteriálna hypertenzia a anémia (Ikeda et al., 1999 a Shiwen et al., 1990). Kadmium je nefrotoxické, môže ovplyvniť kosti, môže vyvolať rakovinu a má estrogénové účinky (Järup a Akesson, 2009).

Kadmium sa dostáva do pôdy atmosférickou depozíciou, aplikáciou kalov z čistiarní odpadových vôd, kompostov a priemyselných hnojív. Kadmium ako kation sa dobre sorbuje hlavne v ornícnom horizonte pôdy. Mobilita sa zvyšuje so stúpajúcou hodnotou pH, hnojením fyziologicky kyslými hnojivami a pri nízkom obsahu organickej hmoty v pôde (Kozák, Jehlička, 1992). Pohyblivosť sa zvyšuje aj tvorbou komplexov Cd s anorganickými a organickými ligandami, ktorých stabilita závisí najmä od hodnoty pH. Významná konkurencia iónov, napríklad kadmium môže zastúpiť

zinok v niektorých enzymatických systémoch, ktoré sa takto aktivujú (Cibuľka, 1991).

Bolo potvrdené, že nárast obsahu Pb v koreňoch rastlín sa prejavuje zvyšovaním príjmu Cd (Zaujec, 1999).

Rastliny podľa akumulácie kadmia možno rozdeliť do troch skupín (Cibuľka, 1991): 1.s nízkou akumuláciou kadmia, napr. Leguminosea 2.so strednou akumuláciou kadmia, napr. Graminae, Cucurbitaceae 3.s vysokou akumuláciou kadmia, napr. Solanaceae, Cruciferae. Podľa Beneša (1994) väčšina rastlín dobre toleruje zvýšené obsahy kadmia v pôde (paradajky, zemiaky). Citlivé plodiny reagujú negatívne na koncentráciu Cd v pôde 4 – 13 mg.kg⁻¹ (špenát, sója, tabak), ktorá je však z hygienického hľadiska veľmi vysoká. Vyššie koncentrácie kadmia v pôde inhibujú príjem Ca²⁺ a Mg²⁺ rastlinami. Rastliny sa môžu vysporiadať s prebytkom kadmia zadržiavaním prebytočných iónov v koreňoch alebo na hraniciach metabolicky dôležitých orgánov, znížením aktivity prebytočných iónov a ich prevodom na fyziologicky inertné formy, prípadne vytváraním alternatívnej reakcie výmeny, menej citlivej na pôsobenie kadmia.

Okrem toho, že kadmium je intenzívne akumulované v koreňových tkanivách, podlieha ľahko transportu v rastline a dostáva sa do všetkých orgánov. Obzvlášť sa Cd v porovnaní a inými ťažkými kovmi akumuluje v zrne (Zaujec, 1999).

Ukladanie kadmia a jeho rozdelenie v orgánoch rastlín má jasne akropetálny charakter: korene > stebľa > listy > plody (semená). Najviac kadmia koreňová a skleníková zelenina. Koncentrácia kadmia vzrastá takto: ovos < pšenica < bôb < hrach < slnečnica < kukurica < reďkovka < rajčiaky < mrkva < šalát (Kočík, 1995).

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom práce je zhodnotenie miery transferu kadmia z pôdy zaťažujúcej jeho rôznymi hladinami do konzumných častí vybraných plodín. Stanovený cieľ sme dosiahli v simulovaných podmienkach vegetačných nádobových pokusov, ktoré sme realizovali v areáli našej univerzity vo vegetačnej kletke. Na realizáciu experimentu sme použili poľnohospodársky využívanú pôdu z lokality Výčapy – Opatovce. V pokusoch sme použili dva druhy strukovín: bôb obyčajný (*Faba vulgaris* M.), odroda MERLIN a šošovica jedlá (*Lens esculentum*), odroda NELKA.

Pôda

Pred založením vegetačného nádobového pokusu sme v pôde uskutočnili všetky potrebné analýzy. Stanovili sme pôdnu reakciu, obsah dusíka podľa Kjeldahla, obsah fosforu, draslíka a horčíka podľa Mehlicha II. Následne sme stanovili aj obsah ťažkých kovov vo výluhu zmesi

Tabuľka 4 Obsah ťažkých kovov v pôde (Výčapy-Opatovce) stanovených vo výluhu zmesi kyselín HCl a HNO₃ (rozklad lúčavkou kráľovskou) (mg.kg⁻¹)

	Fe	Mn	Zn	Cu	Co	Ni	Cr	Pb	Cd
pôda	25500	621,2	52,4	45,8	15,0	31,6	31,8	22,2	0,9
220/2004 lim. hodnota	---	---	150	60	15	50	70	70	0,7

kyselín HCl a HNO₃ (rozklad lúčavkou kráľovskou) a vo výluhu v HNO₃ o c = 2 mol.dm⁻³.

Na základe hodnôt sme následne vypočítali dávku základného hnojenia (NPK), a to dusíka vo forme močoviny, fosforu vo forme superfosfátu a draslíka vo forme draselnej soli, ako aj množstvo vodorozpustnej soli kadmia potrebnej na simulovanie rôznej metallickej záťaže pôdy.

Do jednej pokusnej nádoby sme navázili 5 kg záujmovej pôdy premiešanej s 1 kg kremičitého piesku, pričom na dno nádoby dávame malú drenážnu vrstvu štrku. Do každej nádoby sme aplikovali vypočítané dávky základného hnojenia, ako aj rôzne množstvá Cd(NO₃)₂.

Tabuľka 1 Varianty experimentov

Varianty	Hnojenie
A	NPK
B	NPK + 5 násobok hygien. limitu kovu
C	NPK + 10 násobok hygien. limitu kovu
D	NPK + 15 násobok hygien. limitu kovu

Plodiny sme zberali v čase plnej zrelosti a po mineralizácii rastlinných vzoriek mokrou cestou sme stanovili obsah kadmia metódou AAS na prístroji VARIAN 240FS.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pôda

Charakteristiku v pokuse použitej pôdy udáva tabuľka 2 a 3.

Tabuľka 2 Charakteristika použitej pôdy

Humus %	C _{ox} %	pH (H ₂ O)	pH (KCl)	N mg.kg ⁻¹
2,633	1,527	5,98	4,36	2975

Pôda z lokality Výčapy - Opatovce mala extrémne kyslú pôdnu reakciu a bola stredne humózna.

Tabuľka 3 Charakteristika použitej pôdy

P mg.kg ⁻¹	K mg.kg ⁻¹	Ca mg.kg ⁻¹	Mg mg.kg ⁻¹
19,86	212,5	1459	265

Vyznačovala sa veľmi malým obsahom fosforu, dobrým obsahom draslíka a vysokým obsahom horčíka.

Obsah ťažkých kovov v danej pôde udávajú tabuľky 4 a 5. Všetky obsahy ťažkých kovov boli pod maximálnymi prípustnými množstvami podľa zákona 220/2004 okrem kadmia, ktoré prekračovalo limitnú hodnotu o 22,3 %.

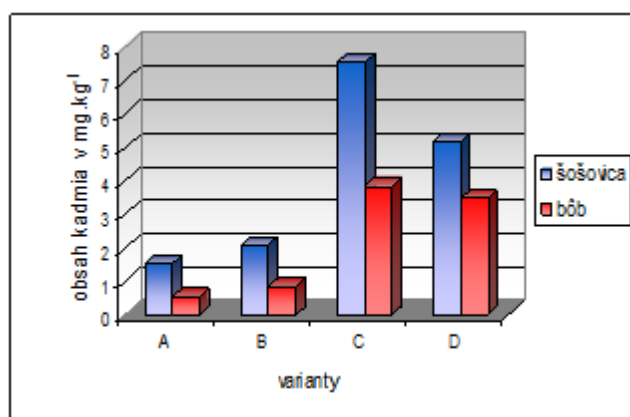
Obsah kobaltu bol na úrovni hygienického limitu. Pôdna obsah rizikového prvku stanovený v extrakte HNO₃

Tabuľka 5: Obsah ťažkých kovov v pôde (Výčapy-Opatovce) stanovených vo výluhu HNO₃ o c= 2 mol.dm⁻³ (mg.kg⁻¹).

	Fe	Mn	Zn	Cu	Co	Ni	Cr	Pb	Cd
pôda	894	141	5,34	9,12	1,84	6,38	1,92	8,88	0,22
531/94 A ₁	--	--	40	20	--	10	10	30	0,3

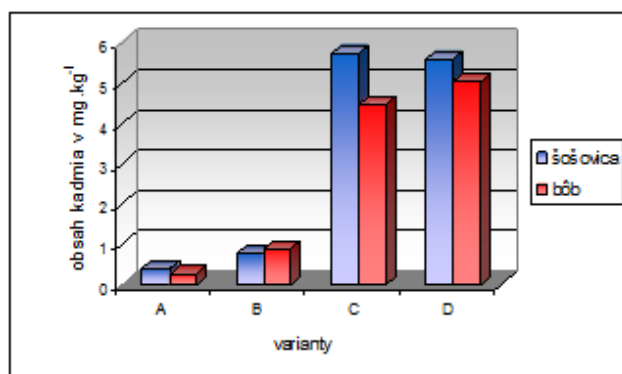
(c= 2 mol.dm⁻³) predstavuje obsah jeho potenciálne mobilných foriem v pôde. Referenčná hodnota A1 určená týmto legislatívnym nariadením zodpovedá požadovanej hodnote obsahu daného rizikového prvku v pôde.

V nasledujúcich obrázkoch udávame vzájomné porovnanie prijatého obsahu kadmia v sledovaných plodinách v ich nadzemnej biomase a konzumných častiach.



Obrázok 1 Obsah kadmia v nadzemnej biomase bôbu obyčajného a šošovice jedlej v mg.kg⁻¹

Výraznejší pomer k príjmu kadmia je pri nadzemnej biomase daných strukovín. Šošovica prijala do nadzemnej biomase oveľa väčšie množstvo kadmia ako bôb. Najvyšší obsah kadmia bol stanovený vo variante C u oboch plodín, zvýšenie predstavovalo u šošovice 5-násobok a u bôbu 7-násobok v porovnaní s kontrolným variantom A. Pri ešte vyššom prídavku kadmia v nasledovnom variante nastal



Obrázok 2 Obsah kadmia v semenách bôbu obyčajného a šošovice jedlej v mg.kg⁻¹

pokles jeho obsahu v nadzemnej biomase oboch plodín.

Obsah kadmia v prvých dvoch variantoch je podstatne nižší ako v dvoch nasledujúcich u oboch plodín. Možno teda konštatovať, že bôb, aj šošovica kumulujú pri

zvýšenom množstve kadmia v pôde pomerne značné množstvo do semena. Aj keď je zrejme, že prijatý obsah kadmia bôbom bol v porovnaní so šošovicou väčší; nárast obsahu kadmia v semene bol u šošovice 14-násobne vyšší ako v kontrolnom variante. Zvýšenie obsahu kadmia v semenách bôbu bolo 17-násobné v porovnaní s kontrolným variantom.

Porovnaním obsahu kadmia v nadzemnej biomase bôbu vo variante D s obsahom kadmia v semenách bôbu vo variante D bola potvrdená štatistická významná negatívna korelácia (p < 0,05). Pri variantoch šošovice nebola zistená žiadna štatisticky významná korelácia.

Prídavok kadmia do pôdy vo variante B a D mal štatisticky významný vplyv na obsah kadmia v danom variante v semenách šošovice pri hladine významnosti p < 0,05. Čo sa týka bôbu, tak všetky prídavky kadmia v pôde mali štatisticky významný vplyv na obsah kadmia v jednotlivých variantoch pri hladine významnosti p < 0,05.

ZÁVER

Z doterajších výsledkov vyplýva, že zámerne pridávané kadmium v určených množstvách do pôdy sa priamoúmerne prejavilo aj v jeho obsahu v daných plodinách, aj keď sa u oboch plodín pri najvyšších dávkach kadmia do pôdy, neprejavil jeho zvýšený obsah v nadzemnej biomase v porovnaní s predchádzajúcim variantom C.

Hoci sa nadzemná biomasa už v dnešnom poľnohospodárstve nevyužíva až v takej miere ako v minulosti, z hľadiska kumulovania Cd sa javí jej krmovinárske využitie ako rizikové, pretože sa u nej preukázal značný príjem kadmia najmä u šošovice jedlej.

Z dôvodu výraznej akumulácie Cd rastlinami šošovice a nadmernej tvorby jej nadzemnej biomasy, je šošovica potenciálne využiteľná aj ako fytoremediačná plodina pre ozdravenie metalicky zaťažených pôd.

Získané výsledky by bolo možné využiť v praxi na fytoremediáciu metalicky zaťažených pôd, a to využitím vhodných plodín na týchto pôdach s cieľom zníženia pôdneho obsahu rizikových prvkov.

LITERATÚRA

- BENAVIDES, M. P., GALLEGO, S. M., TOMARO M. L. 2005, Cadmium toxicity in plants, In *Brazilian Journal of Plant Physiology*, vol. 17, 2005, p. 21-34.
- BENEŠ, S. 1994. Obsahy a bilance prvků ve sférahch životního prostředí. I. II. Část. Praha, ministerstvo zemědělství ČR, 1994.
- CIBULKA, J., DOMAŽLICKÁ, E., KOZÁK, J. 1991. Pohyb olova, kadmia, a rtuti v biosféře. Praha. Academia, 1991, 247S. ISBN 80-200-0401-7.
- DI TOPPI, L. S., GABBRIELLI, R. 1999, Response to cadmium in higher plants, In *Environmental and Experimental Botany*, vol. 41, 1999, p. 105-130.

- EVANGELOU, M. W. H., DAGHAN, H., SCHAEFFER, A. 2004 The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. In *Chemosphere*, vol. 57, 2004, p. 207-213.
- GHOSAL, T. K., KAVIRAJ, A., 2002, Combined effects of cadmium and composted manure to aquatic organisms. In *Chemosphere*, vol. 46, 2002, p. 1099-1105.
- GRATÃO, P. L., POLLE, A., LEA, P. J., AZEVEDO, R. A., 2005, Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. In *Functional Plant Biology*, vol. 32, 2005, p. 481-494.
- CHENG, Y., ZHOU, Q. X. 2002. Ecological toxicity of reactive X-3B red dye and cadmium acting on wheat (*Triticum aestivum*). In *J. Environ. Sci.*, vol. 14, 2002, p. 136-140.
- IKEDA, M., ZHANG, Z. W., HIGASHIKAWA, K., WATANABE, T., SHIMBO, S., MOON, C. S., NAKATSUKA, H., MATSUDA-INOGUCHI, N. 1999. Background exposure of general women populations in Japan to cadmium in environment and possible health effects. In *Toxicology Letters*, vol. 108, 1999, p. 161-166.
- JÄRUP, L., AKESSON, A., 2009, Current status of cadmium as an environmental health problem. In *Toxicology and Pharmacology*, vol. 238, 2009, p. 201-208.
- KOČÍK, K., DUCSAY, L. 1995. *Aktívny biomonitoring rizikových prvkov v systéme pôda – rastlina*. In : *Cudzorodé látky v poľnohospodárstve*. Nitra : SPU, 1997, s. 29-31.
- KOZÁK, J., JEHLIČKA, J. 1992. Retence vybraných kovů púdami. In *Pedol. Melior.*, vol. 28, 1992, no. 1, p. 3-11.
- KUKIER, U., CHANEY, R. L., 2002, Growing rice grain with controlled cadmium concentrations, In *J. Plant Nutr.*, vol. 25, 2002, p. 1793-1820.
- NURSITA, A. I. NURSITA, B. SINGH, E. LEES, 2009, Cadmium bioaccumulation in *Proisotoma minuta* in relation to bioavailability in soil. In *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 72, 2009 , p. 1767-1773.
- SELVI, M., GÜL, A., YILMAZ, M., 2003, Investigation of acute toxicity of cadmium chloride ($CdCl_2 \cdot H_2O$) metal salt and behavioral changes it causes on water frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771). In *Chemosphere*, vol. 52, 2003, p. 259-263.
- SHIWEN, C., LIN Y., ZHINENG, H., XIANZU, Z., ZHAOLU, Y., HUDONG, X., YUANRRONG, L., RONGDI, J., WENHUA, Z., FANGYUAN, Z. 1990. Cadmium exposure and health effects among residents in an irrigation area with ore dressing wastewater. In *The Science of the Total Environment*, vol. 90, 1990, p. 67-73.
- SUN, T. H., ZHOU, Q. X., LI, P. J., 2001. Pollution Ecology. In *Science Press*, Beijing 2001.
- WANG, M. E., ZHOU, Q. X. 2005. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium and copper acting on wheat In *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 60, 2005, p. 169-175.
- WU, Y. Y., TIAN, J. L., ZHOU, Q. X. 1992. Study on the proposed environmental guidelines for Cd, Hg, Pb, and As in soil of China. In *J. Environ. Sci.*, vol. 4, 1992, p. 66-73.
- ZAUJEC, A. 1999. *Cudzorodé látky a hygiena pôd*. Nitra. SPU, 1999, 103 p. 39-62, ISBN 80-7137-567-5.
- ZHOU, Q. X. 1995, Ecology of Combined Pollution. In *China Environmental Science Press*, Beijing 1995.
- ZHOU, Q. X., GAO, Z. M., 1994a, Compound contamination and secondary ecological effects of Cd and As in soil-alfalfa ecosystems. In *J. Environ. Sci.*, vol. 6, 1994, p. 330-336.
- ZHOU, Q. X., GAO, Z. M., 1994b, Interaction between Cd and Zn in seeds of crops and its mechanisms. In *Agro-Environ. Prot.*, vol. 13, 1994, p. 148-151.

Contact address:

Ing. Ľuboš Harangozo, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail:harangozolubos@gmail.com

Ing. Radovan Stanovič, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: radovan.stanovic@uniag.sk

Ing. Július Árvay, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: julius.arvay@uniag.sk

Ing. Pavol Trebichalský, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: pavol.trebichalsky@uniag.sk

EFFECT OF NITROGEN APPLICATION ON SELECTED NUTRITIONAL COMPONENTS OF POTATO TUBERS

Diana Hrabovská, Janette Musilová, Judita Bystrická, Ján Tomáš, Daniel Bajčan

ABSTRACT

In this work the influence of graduated nitrogen fertilizers doses to the soil on starch and vitamin C formation in potato tubers grown in field conditions in locality Veľká Čalomija was studied. The investigated potato cultivar Solara is medium early potato cultivar. The determined average starch content in potato samples ranged in interval 12,426 % – 15,084 %, while the highest starch content was determined in variant 1 (without nitrogen addition to the soil). The starch content in potato tubers was decreased in order: variant 1 (15,084 %) > variant 2 (14,427 %) > variant 3 (14,378 %) > variant 4 (14,023 %) > variant 5 (12,603 %) > variant 6 (12,426 %). The content of C vitamin was increased with the graduated nitrogen doses to the soil only till variant 4 and after that the content of vitamin C was decreased. The average content of C vitamin ranged in interval 3,786 – 6,225 mg.kg⁻¹ of fresh matter.

Keywords: potato, starch, vitamin C, nitrogen fertilizer

ÚVOD

Hľuzy ľuľka zemiakového – *Solanum tuberosum* sú všeobecne považované za rastlinný produkt, ktoré majú význam hlavne v ľudskej výžive a v spracovateľskom priemysle. V oboch uvedených prípadoch je význam zemiakovej hľuzy spojený s obsahom škrobu ako hlavou zásobnou látkou v hľuze a v prípade priamej ľudskej výživy aj ako významný zdroj vitamínu C (Bárta, Čurn, 2004).

Najdôležitejšou zložkou sušiny zemiakovej hľuzy, a to nie len z hľadiska ekonomického, ale i z hľadiska kvality zemiakov všetkých úžitkových smerov, je škrob (Míča, 1992). Škrob tvorí podstatnú časť sušiny zemiakov a plní tzv. sýtiacu funkciu zemiakov, napr. pri 15 % obsahu škrobu je 87 % celkového energetického obsahu sušiny tvoreného škrobom. Pri optimálnej dennej dávke 300 g zemiakov kryje škrob energetickú potrebu ľudského organizmu z 11,4 % (Míča, 1992). Obsah škrobu v zemiakových hľuzách sa pohybuje v rozpätí 15 – 20 % (od 8 do 29,5 %), (Francák, 2002; Šmálik, 1987), pričom najnižší obsah majú skoré konzumné zemiaky. Táto vlastnosť závisí od kultivaru (Jansen, Flamme, Schüler, Vandrey, 2001; Ganga, Corku, 1999; Morrison et al., 2000), zatiaľ čo jeho množstvo v rámci od kultivaru ovplyvňujú pestovateľské podmienky (Šmálik, 1987). Oplyvnenie obsahu škrobu i jeho kvality je v úzkom vzťahu nielen k odrode a výžive (Míča, 1992), ale závisí i od ekologických podmienok (Šmálik, 1987), ktoré zahŕňajú nielen pestovanie zemiakov v rámci aplikácie organických resp. anorganických hnojív, ale i od kvality pôdy, v ktorej sú zemiaky pestované. Pri úvahách o vplyve dusíkatých hnojív na chemické zloženie zemiakovej hľuzy je najčastejšie diskutovanou témou vplyv uvedeného hnojenia na obsah dusičnanov v hľuzách konzumných zemiakov, nie je to však jediný parameter,

ktorý je ovplyvňovaný dusíkatým hnojením (Bárta et al., 2000).

Vitamíny patria medzi faktory, ktoré radia zemiaky medzi potraviny zvláštno významu. Najdôležitejším vitamínom obsiahnutým v zemiakoch je vitamín C (Kováč et al., 2001). Zemiaky sú spoľahlivým zdrojom vitamínu C – stredne veľký uvarený zemiak (180 g) ho obsahuje asi 10 mg, čo predstavuje asi jednu osminu denných nárokov dospelého človeka. V nových zemiakoch je asi dvojnásobné množstvo, takže ich bežná porcia dodá dospelému človeku asi štvrtinu dennej potreby vitamínu C. Vitamín C sa nachádza v rôznych plodoch a šľavách, žiadne iné škrobnaté bežne konzumované potraviny nám však nedodávajú také významné množstvo tohto vitamínu ako zemiaky. Hoci je vitamín C citlivý na záhrev a pri tepelnej úprave sa do určitej miery rozkladá, stále sa ho zachová dosť na to, aby boli tepelne upravené zemiaky jeho užitočným zdrojom. Okrem iného vitamín C pôsobí v organizme ako antioxidant (FAO, 2008).

Dôležitým faktorom pre producentov aj konzumentov zemiakov je okrem výnosu hľúz aj vonkajšia a vnútorná kvalita zahrňujúca zdravotnú nezávadnosť, ktorá je daná aj obsahom cudzorodých látok v dužine. Nepredstavuje len zložky významné vo výžive človeka, ale ovplyvňujú ju aj látky nežiaduce – ťažké kovy, najmä olovo, kadmium, ortuť, arzén, chróm, zinok, meď a nikel (Júzl et al., 2008).

MATERIÁL A METÓDY

Cieľom práce bolo, na základe experimentov uskutočnených v poľných podmienkach na pôdach relatívne čistých z hľadiska obsahu prístupných foriem rizikových kovov, sledovať a vyhodnotiť zmeny základných nutričných zložiek sušiny zemiakov v závislosti od obsahu dusíka v pôde, ktorý bol aplikovaný do pôdy vo forme hnojiva. Stupňované dávky dusíka pre

jednotlivé varianty boli nasledovné: variant 1 (0 kg N.ha⁻¹ pôdy), variant 2 (40 kg N.ha⁻¹ pôdy), variant 3 (80 kg N.ha⁻¹ pôdy), variant 4 (120 kg N.ha⁻¹ pôdy), variant 5 (160 kg N.ha⁻¹ pôdy) a variant 6 (240 kg N.ha⁻¹ pôdy). Testovanou plodinou bola stredne skorá odroda zemiakov Solara. Vzorky rastlinného materiálu sme odoberali v štádiu plnej

zrelosti z lokality Veľká Čalomija, okres Veľký Krtíš. Pôda z danej lokality bola slabo alkalická, s nízkou zásobou humusu, stredným obsahom fosforu, veľmi vysokým obsahom horčika a vysokým obsahom draslíka (Bielek, 1996).

Tabuľka 1 Charakteristika pôdy a obsah živín (mg.kg⁻¹)

odberné miesto	agrochemická charakteristika				obsah živín			
	pH/H ₂ O	pH/KCl	C _{ox} (%)	humus (%)	P	K	Ca	Mg
Veľká Čalomija	7,46	6,32	0,96	1,66	84,62	259,40	2471,54	274,13

ANALYTICKÉ METÓDY

V odobraných pôdnych vzorkách sme stanovovali agrochemickú charakteristiku pôdy (aktívna pôdna reakcia pH/H₂O a výmenná pôdna reakcia pH/KCl, Cox (%) – oxidimetricky metódou podľa Ľurina a % humusu – prepočtom % Cox) a obsahy živín. Obsahy živín (P, K, Ca, Mg) sme stanovovali metódou podľa Mehlichia (Mehlich II), výstupnou analytickou metódou stanovenia bola AAS (AAS Varian AA Spectr DUO 240FS/240Z/UltraA).

Z lyofilizovaných rastlinných vzoriek sme stanovili obsah ťažkých kovov v hľuzách zemiakov. Vzorku sme mineralizovali mokrým spôsobom, obsah rizikových prvkov sme stanovili metódou AAS.

Charakteristické nutričné vlastnosti zemiakovej hľuzy sme stanovili nasledovnými metodikami: obsah vitamínu C sme stanovili titračnou metódou, pričom sme vzorku titrovali roztokom 2,6-dichlórfenolindofenolu. Obsahy škrobu sme stanovili metódou podľa Ewersa.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

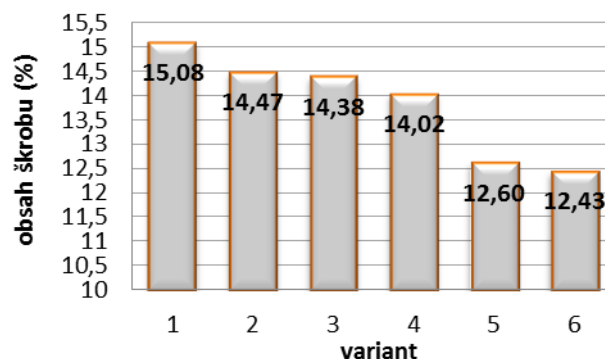
OBSAH ŠKROBU V ZEMIAKOVEJ HLUZE

Zemiakové hľuzy sú zásobnými orgánmi, kde sa v aminoplastoch zhromažďujú sacharidy vo forme škrobu. Vokál et al. (2003) uvádzajú, že škrob patrí medzi základné zložky, ktorý je uložený vo forme škrobových zrn. Tie sú tvorené amylozou a amylopektinom v pomere 1:4. Škrob je najdôležitejšou zložkou sušiny zemiakovej hľuzy a to nie len z hľadiska ekonomického, ale i z hľadiska kvality zemiakov všetkých úžitkových smerov. Obsah škrobu spolu s ostatnými látkami, ktoré tvoria sušinu je rozhodujúci pre zaradenie odrôd do varných typov (A, B, C). Čím je obsah škrobu vyšší, tým sú zemiaky múcnatejšie (Houba et al., 2007). Z celkovej sušiny v zemiakovej hľuze tvorí škrob približne 80 % (Vreugdenhil et al., 2007), pričom najnižší obsah majú skoré konzumné zemiaky.

V odobratých vzorkách zemiakov sa stanovený priemerný obsah škrobu pohyboval v rozmedzí od 12,43 % do 15,08 %, pričom najvyššie obsahy škrobu sme stanovili vo variante 1, bez prídavku dusíka do pôdy. Obsah škrobu klesal v nasledovnom poradí: variant 1 (15,08 %) > variant 2 (14,43 %) > variant 3 (14,38 %) > variant 4 (14,02 %) > variant 5 (12,60 %) > variant 6 (12,43 %).

Celkový obsah škrobu rôznych odrôd zemiakov sa môže značne líšiť od 9 do 23 % z čerstvej hmotnosti (Burlingame et al., 2009). Tieto hodnoty predstavujú 66 – 80 % sušiny zemiakového škrobu (Liu et al., 2007). Táto vlastnosť závisí od kultivaru, zatiaľ čo jeho množstvo v

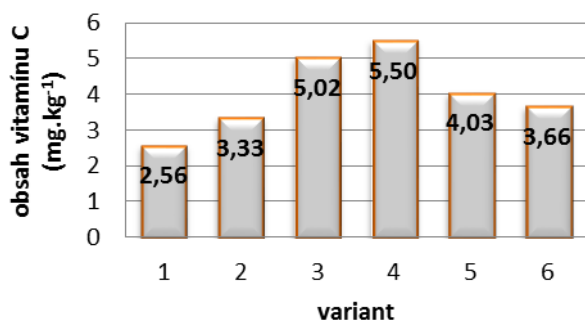
rámci od kultivaru ovplyvňujú pestovateľské podmienky (Šmálik, 1987). Ovplyvnenie obsahu škrobu i jeho kvality je v úzkom vzťahu nie len k odrode, ale i k výžive. Najmä nadmerné hnojenie dusíkom znižuje obsah škrobu, rovnako nepriaznivo pôsobia i vysoké dávky draslíka. Pozitívna je aplikácia fosforu, a to ako na obsah, tak na kvalitu škrobu (Míča, 1992). Z uvedenými výsledkami korešponujú aj naše výsledky získané z analýz zemiakov dopestovaných v lokalite Veľká Čalomija. Postupným zvyšovaním množstva dusíka aplikovaného do pôdy sa obsah škrobu znižoval, pričom najvyšší obsah škrobu bol vo variante 1 (0 kg N.ha⁻¹) a najnižší vo variante 6 (240 kg N.ha⁻¹) (obrázok 1). Rozdiely obsahu škrobu v zemiakoch medzi jednotlivými variantmi sú štatisticky preukazné (hodnota korelačného koeficienta R = 0,608), regresné koeficienty sú štatisticky významné (P-value = 3,681.10⁻⁴).



Obrázok 1 Obsah škrobu v zemiakových hľuzách (%) v závislosti od množstva aplikovaného dusíka do pôdy

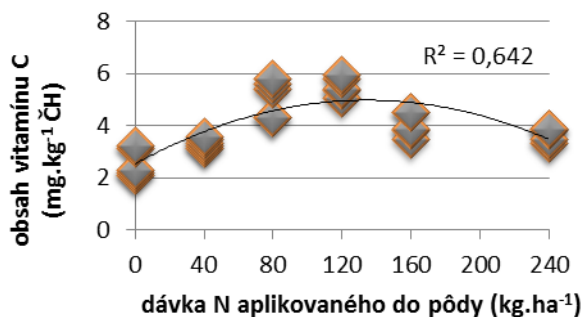
OBSAH VITAMÍNU C V ZEMIAKOVEJ HLUZE

Jedným z faktorov vplývajúcich na obsah vitamínu C v zemiakoch je aplikácia vyšších dávok dusíka do pôdy. V zemiakoch z lokality Veľká Čalomija sme sledovali vplyv aplikácie zvyšujúcich sa dávok dusíka do pôdy na obsah vitamínu C. Postupným zvyšovaním množstva dusíka aplikovaného do pôdy sa obsah vitamínu C zvyšoval iba do určitej miery (variant 1 – 4; 0 – 120 kg N.ha⁻¹), a pri ďalej sa zvyšujúcich dávkach dusíka obsah vitamínu C klesal (obrázok 2).



Obrázok 2 Obsah vitamínu C v zemiakových hľuzách (mg.kg⁻¹) v závislosti od množstva aplikovaného dusíka do pôdy

Zistené výsledky sú štatisticky preukazné. Na zistenie závislosti bola použitá polynommická funkcia 2. stupňa ($y=2,52+0,03x-0,00014x^2$), ktorá vhodne vykresľuje priebeh závislosti (signif. $f=9,49.10^{-7}$). Zvolený regresný model vysvetľuje variabilitu obsahu vitamínu C na 64 %.



Obrázok 3 Obsah vitamínu C (mg.kg⁻¹) v zemiakoch v závislosti od množstva aplikovaného dusíka do pôdy

Naše výsledky korešponujú s výsledkami **Shekhara (1978)**, ktorý zistil zvýšenie obsahu vitamínu C s vyššími dávkami hnojenia dusíkom. Zvýšenie obsahu vitamínu C o 28 % pri vyššej dávke dusíka potvrdil aj **Mondy (1979)**, ale organická hmota pridávaná vo forme hnoja alebo kompostu na obsah vitamínu C v hľuzách zemiakov nemá výrazný vplyv (**Zhang, 1997**). Naopak mnoho autorov popisuje negatívne účinky hnojenia dusíkom na obsah vitamínu C (**Takebe, Yoneyama, 1992; Rogozińska, Wojdyla, 1996; Nowacki et al., 2000**). Ako nepriaznivý vplyv hnojenia dusíkom na obsah vitamínu C v zemiakoch uvádza aj **Augustin (1975)**, keď aplikáciou zvýšených dávok dusíka do pôdy sa obsah vitamínu C znížil o 15 – 20 %. **Hamouz et al. (2009)** zaznamenali, že pri aplikácii 180 kg N/ha⁻¹ pôdy sa obsah vitamínu C znížil o 12,4 % v porovnaní so 100 kg N/ha⁻¹ pôdy. Avšak **Lin et al. (2004)** zistili len malý vplyv hnojenia dusíkom na obsah vitamínu C. Zemiaková odroda Solara je veľmi vďačná za hnojenie dusíkom, pokiaľ ale aplikovaná dávka neprekročila 160 kg N/ha⁻¹, čo korešponduje aj s výsledkami ďalších autorov (**http1**). Pri vyšších dávkach hnojenia (variant 5 a variant 6) sa nám potvrdil preukazný pokles obidvoch nutričných zložiek zemiakovej hľuzy, škrobu (obrázok 1) ako aj vitamínu C (obrázok 3).

ZÁVER

Zemiakový škrob predstavuje významnú zložku sušiny zemiakov. Jeho obsah je významne geneticky fixovaný, avšak môže byť ovplyvnený nesprávnou výživou, najmä dusíkom. Najvyšší obsah škrobu (15,08 %) bol v zemiakoch z kontrolného variantu (variant 1) a najnižší vo variante 6 (12,43 %). Medzi množstvom aplikovaného dusíka do pôdy a obsahom škrobu v zemiakových hľuzách sa potvrdila negatívna, štatisticky preukazná korelácia. Rovnako sa potvrdila závislosť medzi aplikovaným dusíkom a obsahom vitamínu C v zemiakoch, v tomto prípade sa ale obsah vitamínu C zvyšoval iba do určitej miery – jeho najvyšší obsah (5,50 mg.kg⁻¹ ČH) sme stanovili vo variante 4, ďalším zvyšovaním množstva dusíka jeho obsah klesal.

Uvedené výsledky potvrdzujú, že obsah škrobu aj vitamínu C v zemiakových hľuzách môžu byť ovplyvňované zvyšujúcimi sa dávkami dusíka v pôde. Nedá sa však povedať, že dusíkaté hnojenie pôsobí na obsahy základných nutričných zložiek zemiakovej hľuzy jednoznačne negatívne. Obsahy obidvoch hodnotených nutričných zložiek môžu byť významne ovplyvňované aj odrodou, pestovateľskou lokalitou a ročníkom.

LITERATÚRA

- AUGUSTIN, J. 1975. Variations in the nutritional composition of fresh potatoes. In *Journal of Food Science*, vol. 40, 1975, no. 6, p. 1259-1299.
- BÁRTA, J., ČURN, V. 2004. Bilkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.) – klasifikace, charakteristika, význam. In *Chemické listy*, vol. 98, 2004, p. 373-378.
- BÁRTA, J., DIVIŠ, J., ČURN, V. 2000. Dusíkaté látky bramborových hlíz a jejich ovlivnění dusíkatým hnojivem. In *Bramborářství*, roč. VIII, 2000, no. 2, p. 11-12.
- BIELEK, P. 1996. *Ochrana pôdy. Kódex správnej poľnohospodárskej praxe*. VÚPÚ : Bratislava, 1996, ISBN 80-85361-21-3.
- BURLINGAME, B., MOUILLE, B., CHARRONDIERE, R. 2009. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. In *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 22, 2009, no. 6, p. 494-502.
- FRANČÁK, J. 2002. *Mechanizácia pestovania, zberu a pozberového spracovania zemiakov*. Nitra : ÚVTIP, 2002. 103 p. ISBN 80-89088-09-0.
- GANGA, Z. N., GANGA, H. 1999. Physical properties of starch of Asian-adapted potato varieties. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 79, 1999, p. 1642-1646.
- HAMOUIZ, K., LACHMAN, J., DVOŘÁK, P., ORSÁK, M., HEJTMÁNKOVÁ, K., ČÍŽEK, M. 2009. Effect of selected factors on the content of ascorbic acid in potatoes with different tuber flesh colour. In *Plant Soil Environ.*, vol. 55, no. 7, p. 281-287.
- HOUBA, M. 2007. *Poznejte pěstujte používejte brambory*. Vydala firma Europlant šlechtitelská spol. s r. o. Praha. 150 p. ISBN 978-80-239-9419-3.
- JANSEN, G., FLAMME, W., SCHÜLER, K., VANDREY, M. 2001. Tuber and starch quality of wild and cultivated potato species and cultivars. In *Potato Research*, vol. 44, 2001, p. 137-146.

JŮZL, M., HLUŠEK, J., ZRŮST, J. 2008. *Rizikové látky v bramborách a ve výrobkách z hlíz*. Brno : MZLU, 2008. 172 p. ISBN 978-80-7375-167-8.

KOVÁČ, K. et al. 2001. *Ekologické pestovanie zemiakov*. Nitra : ÚV TIP, 2001, 102 p. ISBN 80-85330-86-5.

LIN, S., SATTELMACKER, B., KUTZNUTZ, E., MÜHLING, K. H., DITTERT, K. 2004. Influence of nitrogen nutrition on tuber quality of potato with special reference to the pathway of nitrate transport into tubers. In *Journal of Plant Nutrition*, vol. 27, 2004, no. 2, p. 341-350.

LIU, Q., TARN, R., LYNCH, D. 2007. Physicochemical properties of dry matter and starch from potatoes grown in Canada. In *Food Chemistry*, vol. 105, 2007, no. 3, p. 897-907.

MÍČA, B. 1992. Bramborový škrob a jeho význam pro kvalitu brambor. In *Úroda*, vol. 1992, no. 4, p. 171-172.

MONDY, N. I., KOCH, R. L., CHANDRA, S. 1979. Influence of nitrogen fertilization on potato discoloration in relation to chemical composition. 2. Phenols and ascorbic acid. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 27, 1979, no. 2, p. 418-420.

MORRISON, I. M., COCHRANE, M. P., COPPER, A. M., DALE, M. F. B., DUFFUS, C. M., ELLIS, R. P., LYNN, A., MACKAY, G. R., PATERSON, L. J., PRENTICE, R. D. M., SWANSTON, J. S., TILLER, S. A. 2000. Potatostarches: Variation in composition and properties between three genotype grown at two different sites and in two different years. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 81, 2000, p. 319-328.

NOWACKI, W., GLUSKA, A., LIS, B. et al. 2000. Growing of potatoes ware and technological quality of tubers. In *Proceedings of the Scientific Conference of Agricultural University in Wroclaw*, Polanica Zdrój, p. 23-32.

ROGOZIŃSKA, I., WOJDYLA, T. 1996. The effect of mineral fertilization on the vitamin C content in potato tubers. In *Abstract of 13th Triennial Conference*, EAPR, Veldhoven, p. 216-217.

SHEKHAR, V. C., IRITANI, W. M., ARTECA, R. 1978. Changes in ascorbic acid content during growth and short-term storage of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). In *American Journal of Potato Research*, vol. 55, 1978, no. 12, p. 663-670.

TAKEBE, M., YONEYAMA, T. 1992. *Plant growth and ascorbic acid 1: Changes of ascorbic acid concentrations in the leaves and tubers of sweet potato (Ipomea batatas Lane) and potato (Solanum tuberosum L.)* Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi, vol. 63, p. 447-454.

SVETOVÁ ORGANIZÁCIA PRE
POĽNOHOSPODÁRSTVO A VÝŽIVU 2008. Medzinárodný rok zemiakov 2008 Zemiaky, potrava a výživa. Retrieved from the web: <<http://www.potato2008.org/en/potato/IYP-6en.pdf>>.

ŠMÁLIK, M. *Zemiaky*. Vyd. Príroda, Bratislava. 1987, 304 p.

VOKÁL, B., ČEPL, J. 2003. *Pěstujeme brambory*. Praha : Grada, 2003, 102 p. ISBN 80-247-0567-2.

VREUGDENHIL, D., BRADSHAW, J., GEBHARDT, CH., GOVERS, F., MACKERRON, D. K. L., TAZLOR, M. A., ROSS, H. A. 2007. *Potato biology and biotechnology. Advances and perspectives*. 857 p. ISBN-13: 978-0-444-51018-1.

Acknowledgments:

This work was supported by grants VEGA 1/0456/12 and VEGA 1/0724/12.

Contact address:

Ing. Diana Hrabovská, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: JonasovaDiana@azet.sk

doc. Ing. Janette Musilová, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: janette.musilova@uniag.sk

doc. Ing. Judita Bystrická, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: judita.bystricka@uniag.sk

prof. Ing. Ján Tomáš, CSc, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: jan.tomas@uniag.sk

RNDr. Daniel Bajčan, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: daniel.bajcan@uniag.sk



INFLUENCE OF MEAT MATURATION TO THE PRESENCE OF COLIFORM BACTERIA

Simona Kunová, Klára Vavrišínová, Miroslava Kačániiová, Juraj Čuboň, Dagmar Kozelová, Lubomír Lopašovský

ABSTRACT

The aim of our study was detection of coliforms bacteria and pH changes in the process of beef maturation. The number of coliforms bacteria were lower as 1 log cfu.g⁻¹ in four samples and the highest coliforms bacteria count was 3,1 log cfu.g⁻¹ after 1st week of meat maturation. Average number of coliforms bacteria was lower as 1,43 log cfu.g⁻¹. The pH values of meat varied from 5,5 to 6,1 after 1st week. Average value of pH was 5,75. The number of coliforms bacteria were from 2,61 log cfu.g⁻¹ to 3,35 log cfu.g⁻¹ after 2nd week of meat maturation. Average number of coliforms bacteria was 3,17 log cfu.g⁻¹. The pH values of meat were from 6,0 to 6,2 after 2nd week of meat maturation. Average value of pH was 6,05.

Keywords: meat, coliform bacteria, beef maturation

INTRODUCTION

Meat is defined as the flesh of animals used as food. The term 'fresh meat' includes meat from recently processed animals as well as vacuum-packed meat or meat packed in controlled-atmospheric gases, which has not undergone any treatment other than chilling to ensure preservation (Storia et al., 2008). The diverse nutrient composition of meat makes it an ideal environment for the growth and propagation of meat spoilage micro-organisms and common food-borne pathogens. It is therefore essential that adequate preservation technologies are applied to maintain its safety and quality (Aymerich et al., 2008). The processes used in meat preservation are principally concerned with inhibiting microbial spoilage, although other methods of preservation are sought to minimise other deteriorative changes such as colour and oxidative changes (Tume et al., 2010).

Microbial contamination of meat starts during processing on the slaughter line. First, the microorganisms reach the carcass surface from where they penetrate into deeper layers of the meat. Reducing this primal surface contamination and avoiding or limiting the microbial growth, we can considerably prolong the shelf life of carcasses. Reducing surface contamination would improve food safety and extend shelf life.

Microbial pathogens of current concern that need to be controlled in fresh meat include *Salmonella*, *Campylobacter*, enterohaemorrhagic *E. coli* including serotype O157:H7, as well as other enteric pathogens. Even though progress is being made in their control, some of these pathogens will continue being of concern well into the future, considering that some of them (e.g., *Salmonella*) have been the target of control efforts for

many decades and they are still involved in large numbers of illnesses (Bacon, Sofos, 2003).

Salmonella is one of the most prevalent foodborne pathogens and infects over 160,000 individuals in the EU annually, with an incidence rate of 35 cases per 100,000. The annual cost of foodborne *Salmonella* is believed to reach up to €2.8 billion per year. Reports from the World Health Organisation surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe, revealed the majority of outbreaks, where causative agents were reported, were caused by *Salmonella* serotypes (McGuinness et al., 2009).

Salmonellae are most often associated with any raw food of animal origin which may be subject to faecal contamination, such as raw meat, poultry, fish/seafood, eggs and dairy. *Salmonella* testing in the slaughter environment is important as intestinal pathogens are carried into the abattoir in the bowels and on the skin of the animals (Wray, 2000). Although total viable counts (TVC) and *Enterobacteriaceae* testing are routinely performed on fresh meat carcasses, there was no requirement to test for *Salmonella* contamination prior to 2006 (McGuinness et al., 2009).

Good hygiene practice (GHP) and a hazard analysis critical control point (HACCP) system must be employed to ensure minimal microbial contamination of meat carcasses during slaughter (Bolton et al., 2002).

The aim of our study was detection of coliforms bacteria and pH changes in the process of beef maturation. nápojoch.

MATERIAL AND METHODOLOGY

Occurrence of coliform bacteria and pH changes were examined in beef during maturation.

Determining the number of coliforms bacteria

Six samples of meat were examined. Swabs were collected from the surface of the meat that was stored at 4 °C. Swab swere taken after 1st week of storage and after 2nd week of storage. Dilution plating method was used to determine the number of coliforms bacteria. Dilutions of 10⁻¹ and 10⁻² were used to determine the number of coliforms bacteria. Inoculation was performed with a sterile pipette, 1 ml of triple repeats (parallel to the three Petri dishes) for each dilution used. Plates were embedded by VRBL agar (VIOLET RED BILE AGAR) for determination of coliforms bacteria. Agar was cooled to temperature 50 °C. The plates were cultivated upside down in a thermostat at 37 °C for 24 hours. Grown colonies were counted after incubation. The number of microorganisms in 1 g samples (N) were calculated using the following formula:

$$N = \Sigma C / [(n_1 + 0,1n_2) \cdot d]$$

ΣC – sum of characteristic colonies on selected plates,

n_1 – number of dishes from 1. dilutions used to calculate,

n_2 – number of dishes from 2. dilutions used to calculate,

d – dilution factor identical with 1. used dilution.

The number of coliforms bacteria were compared with Commission regulation 2073/2005.

Measure the pH of meat

Meat pH was measured using a pH meter– Gryf 259

Statistics

For statistical analysis was used program STATGRAPHICS and differences was analysed by t-test. MiniCyclerTM, MJ Research, Watertown USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Coliforms, especially *Escherichia coli* are microorganisms of concern in almost every food product, since high counts of coliforms and presence of *E. coli* in foods usually reflect unhygienic handling during production process, improper storage conditions and post-process contamination (Blood, Curtis, 1995; de Sousa et al., 2002; Gonzalez et al., 2003).

Six samples of meat were examined for the presence of coliforms bacteria. The number of coliforms bacteria were lower as 1 log cfu.g⁻¹ in samples no. 2, 3, 5 and 6 after 1st week of maturation. The number of coliforms bacteria was 1,47 log cfu. g⁻¹ in sample number 1 and 3.1 log cfu.g⁻¹ in sample number 4. Average number of coliforms bacteria was lower as 1,43 log cfu.g⁻¹.

The values of pH were from 5,5 (sample 2) to 6,1 (sample 4) after 1st week of maturation. Average value of pH was 5,75. This value is typical for *rigor mortis*.

Total coliform bacteria are used most frequently as indicator microbes (Turner et al., 2000). Their presence is indicative of external contamination (Gill et al., 2001). They are defined as rod-shaped Gram-negative non-spore forming organisms that ferment lactose with the production of acid and gas when incubated at 35–37 °C. Coliforms are abundant in the feces of warm-blooded animals, but can also be found in the aquatic environment, in soil and on vegetation. In most instances, coliforms themselves are not the cause of sickness, but their presence is used to indicate that other pathogenic organisms of fecal origin may be present.

The number of coliforms bacteria were from 2,61 log cfu.g⁻¹ in sample a to 3,35 log cfu.g⁻¹ in sample 5 after 2nd week of meat maturation. Average number of coliforms bacteria was 3,17 log cfu.g⁻¹.

Table 1 Number of coliform bacteria and pH values after 1st week

Samples	log cfu.g ⁻¹	pH
1	1,47	6
2	< 1,00	5,5
3	< 1,00	5,6
4	3,1	6,1
5	< 1,00	5,7
6	< 1,00	5,6

Table 2 Number of coliform bacteria and pH values after 2nd week

Samples	log cfu.g ⁻¹	pH
1	2,61	6,2
2	3,3	6,0
3	3,27	6,0
4	3,26	6,1
5	3,35	6,0
6	3,27	6,0

Table 3 Summary statistics of coliform bacteria number and pH value after 1st and 2nd week of meat maturation

	CB after 1 week	CB after 2. week	pH after 1. week	pH after 2. week
n	6	6	6	6
x	1,43	3,17	5,75	6,05
s	0,84	0,28	0,24	0,08
s _x	0,34	0,11	0,09	0,03
v%	58,82	8,80	4,22	1,38
t-test	+++		+	

CB – number of coliforms bacteria, n – samples, x – average, s – standard deviation, s_x – standard error, v % - coefficient of variation, + P_≥ 0,05; +++ P_≥ 0,001.

The values of pH were from 6,0 to 6,2 after 1nd week of maturation. Average value of pH was 6,05. This value is typical for stadium of matured meat.

For coliforms, although they can be effectively destroyed at pasteurizing step, coliforms can still be found occasionally in products after cooking even though GMP and HACCP programs are implemented. As contamination can come from various sources in the processing environment, identification of these sources is necessary, in order to establish effective control measures and strengthen the GMP and HACCP programs (Kochhar, Evans, 2007).

Differences between number of coliforms bacteria after 2nd week was significantly higher in compare with 1st week.

The safety of meat has been at the forefront of societal concerns in recent years, and indications exist that challenges to meat safety will continue in the future. Major meat safety issues and related challenges include the need to control traditional as well as “new,” “emerging,” or “evolving” pathogenic microorganisms, which may be of

increased virulence and low infectious doses, or of resistance to antibiotics or food related stresses (Thomas, Noppenberger, 2007).

On the base of correlation analysis was found out positive correlation between CB1 and pH1 (0,8354), value of pH1 and pH2 (0,8365) and negative correlation between CB2 and pH2 (-0,897).

Other microbial pathogen related concerns include cross-contamination of other foods and water with enteric pathogens of animal origin, meat animal manure treatment and disposal issues, foodborne illness surveillance and food attribution activities, and potential use of food safety programs at the farm (Doyle, Erickson, 2006).

Chilling is critical for meat hygiene, safety, shelf life, appearance and eating quality. Chilling in air reduces carcass surface temperature and enhances carcass drying; both of which reduce the growth of bacteria. An increase in air velocity and/or a decrease in temperature (both controllable) decrease chilling time. A limiting factor, however, is the difficulty in removing heat quickly from the deeper tissue of carcasses (Ockerman, Basu, 2004).

CONCLUSION

We determined the number of coliform bacteria and pH of the meat during two weeks of maturation. Veal has a higher water content. We recommend to reduce the time maturation of meat for one week, because the number of coliforms bacteria was higher as authorized Commission regulation 2073/2005 after two weeks of maturation.

Despite all efforts targeted on the maintenance of good hygiene practices during meat production, contamination of carcasses with meat-borne pathogens cannot be completely prevented. Efforts to control pathogens of biological origin associated with meat consumption will continue being one of our major goals well into the future.

REFERENCES

- AYMERICH, T., PICOUET, P. A., MONFORT, J. M. 2008. Decontamination technologies for meat products. In *Meat Science*, vol. 78, 2008, p. 114-129.
- BACON, R. T., SOFOS, J. N. 2003. Food hazards: biological food; characteristics of biological hazards in foods. In *Food Safety Handbook*, 2003, p. 157-195.
- BLOOD, R. M., CURTIS, G. D. W. 1995. Media for total *Enterobacteriaceae*, coliforms and *E. coli*. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 26, 1995, p. 93-115.
- BOLTON, D. J., PEARSE, R. A., SHERIDAN, J. J., BLAIR, I. S., MCDOWELL, D. A., HARRINGTON, D. 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 92, 2002, p. 893-902.
- Commission regulation 2073/2005 on Microbiological criteria for foodstuffs.*
- DE SOUSA, G. B., TAMAGNINI, L. M., OLMOS, P. D., GONZALEZ, R. D. 2002. Microbial enumeration in ready-to-eat foods and their relationship to good manufacturing practice. In *Journal of Food Safety*, vol. 22, 2002, p. 27-38.
- DOYLE, M. P., ERICKSON, M. C. 2006. Emerging microbiological food safety issues related to meat. In *Meat Science*, vol. 74, 2006, p. 98-112.
- GILL, C. O., MCGINNIS, I. C., BRYANT, J. 2001. Contamination of beef chucks with *Escherichia coli* during carcass breaking. In *Journal of Food Protection*, vol. 64, 2001 p. 1824-1827.
- GONZALEZ, R. D., TAMAGNINI, L. M., OLMOS, P. D., DE SOUSA, G. B. 2003. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. In *Food Microbiology*, vol. 20, 2003, p. 601-604.
- KOCHHAR, H. P. S., EVANS, B. R. 2007. Current status of regulating biotechnology-derived animals in Canada – Animal health and food safety considerations. In *Theriogenology*, vol. 67, 2007, p. 188-197.
- MCGUINNESS, S., MCCABE, E., O'REGAN, E., DOLAN, A., DUFFY, G., BURGESS, C., FANNING, S., BARRY, T., O'GRADY, J. 2009. Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat. In *meat science*, vol. 83, 2009, no. 3, p. 555-562.
- OCKERMAN, H. W., BASU, L. 2004. Carcass chilling and boning. In *Encyclopedia of Meat Sciences, Elsevier*, 2004, p. 144-149.
- STORIA, A. L., ERCOLINI, D., MARINELLO, F., MAURIELLO, G. 2008. Characterization of bacteriocin-coated antimicrobial polyethylene films by atomic force microscopy. In *Journal of Food Science*, vol. 73, 2008, p. 48-54.
- THOMAS, J. K., NOPPENBERGER, J. 2007. Avian influenza: A review. In *American Journal of Health-System Pharmacy*, vol. 64, 2007, no. 2, p. 149-165.
- TUME, R. K., SIKES, A. L., SMITH-ENRICHING, S. B. 2010. *M. sternomandibularis* with alpha-tocopherol by dietary means does not protect against the lipid oxidation caused by high-pressure processing. In *Meat Science*, vol. 84, 2010, p. 66-70.
- TURNER, K. M., RESTAINO, L., FRAMPTON, E. W. 2000. Efficacy of chromocult coliform agar for coliform and *Escherichia coli* detection in foods. In *Journal of Food Protection*, vol. 63, 2000, no. 4, p. 539-541.
- WRAY, A. 2000. *Salmonella in domestic animals*. CABI Publishing, Wallingford and New York, 400 p.

Contact address:

Ing. Simona Kunová, PhD., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: simona.kunova@gmail.com

doc. Ing. Klára Vavrišínová, CSc., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Department of Animal Husbandry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Nitra, Slovakia, E-mail: Klara.Vavrisinova@uniag.sk

doc. Ing. Miroslava Káčániová, PhD., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Microbiology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Nitra, Slovakia, E-mail: Miroslava.Kacaniova@uniag.sk

prof. Ing. Juraj Čuboň, CSc., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Evaluation and Processing Animal Products, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Nitra, Slovakia, E-mail: Juraj.Cubon@uniag.sk

Ing. Dagmar Kzelová, PhD., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Nitra, Slovakia, E-mail: Dagmar.Kozelova@uniag.sk

MVDr. Lubomír Lopašovský, PhD., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Nitra, Slovakia, E-mail: Lubomir.Lopasovsky@uniag.sk



APPLICATION OF NISIN INTO SLOVAK FERMENTED SALAMI PÚCHOV EXPERIMENTALLY INOCULATED WITH *LISTERIA INNOCUA*

Andrea Lauková, Peter Turek

ABSTRACT

Púchov salami is favorite fermented salami among Slovak consumers. Nisin is the only bacteriocin accepted by European Commission for a commercial use as additive for food preservation (although not commonly used in meat products). Because of its possibility to prolong shelf-life of the products and its antimicrobial activity, its effect in dry fermented Slovak salami Púchov experimentally inoculated with *Listeria innocua* Li1 strain was checked. The initial number of *L. innocua* Li1 in the inoculated salami mixtures was 10^4 CFU/g (log 10; 4.04 ± 0.07). After nisin addition, the count of Li1 strain in the meat samples (inoculated with Li1 and treated by nisin) was 1.36 ± 0.07 CFU/g; difference 2.68 logarithmic cycle was noted between Li and Li/Ni samples. At day 2, the difference 3.23 log cycle was detected between Li1 and Li/Ni samples (Li: 5.46 ± 0.08 , Li/Ni: 2.14 ± 0.07 CFU/g); at weeks 3, 4, it was 1.69 and 1.80 log cycle. Activity of nisin itself was not recovered from the experimental salamis by the analytical method; however, its inhibitory effect was shown by Li1 count decrease. The pH in salamis during processing was almost at the same level (5.52, 5.53, 5.55). Water activity was not negatively influenced. Water content in Li/Ni salamis reached almost requested levels (maximum percentage of water requested is 34 %).

Keywords: nisin, *Listeria innocua*, fermented salami

INTRODUCTION

Púchov salami is a smoked fermented meat product having a flat shape form, a brown-red colour, a strong, spring consistency, with smoked, pepper smell without moulds on its surface; it is smooth and presents homogenous cuts with eventual few air bubbles; its taste is salty and spicy. It is one of favorite fermented salami among Slovak consumers. Nisin is the only bacteriocin (antibiotic) accepted by European Commission for a commercial use as additive in food preservation (although not commonly used in meat products). It was admitted into the European food additive list, where it was assigned the number E234 (1983). Nisin was also approved by the Food and Drug Administration in the USA as Generally Recognized As Safe. It is a peptide composed of 34 amino acid residues with a molecular mass of 3.5 kDa with an inhibitory activity against Gram-positive, spoilage bacteria (Sahl & Bierbaum, 1998). However, its *in vitro* activity towards Gram-negative bacteria was also reported (Delves-Broughton et al., 1996; Lauková, 2000; Bozaris & Adams, 2001) due to permeabilization of outer membrane cell layer as caused by sublethal heating, freezing and chelating agents. Nisin is a highly surface-active molecule that can bind to different compounds e.g. fatty acids of phospholipids. This feature makes it suitable for adsorption to solid surfaces and killing bacterial cells that adhering there

(Sobrin-López & Martín-Belloso, 2008). Several authors reported successful use of nisin to reduce the growth of *Listeria monocytogenes* or *Staphylococcus aureus* on meats (Chung et al., 1989) or to prolong shelf-life of the products (Scannel et al., 1997). Therefore, we decided to check nisin effect in dry fermented salami Púchov which was experimentally inoculated with *Listeria innocua* Li1 strain as a model meat contaminant. Although more frequently *Listeria monocytogenes* has been found as meat contaminant; because of sausage preparing in the meat manufacture, here *Listeria innocua* Li1 instead *L. monocytogenes* was used. The experiment was conducted to have possibility to compare nisin effect in meat with those previously obtained with nisin in dairy products such as cow cheese lump where *S. aureus* SA5 was reduced by nisin treatment; and also to compare use of other bacteriocins (enterocins) in the same or similar niches as previously tested in dairy products (Lauková & Czikková, 1999; Lauková et al., 1999a; Lauková et al., 2001a).

MATERIAL AND METHODOLOGY

Bacterial strains, media, experimental salami manufacture

Listeria innocua Li1 was kindly supplied by Dr. Hans Blom (Matforsk, As, Norway). It was incubated in Trypticase soy broth enriched with 0.6 % yeast extract

(TSB, Becton & Dickinson, Cockeysville, USA) at 32 °C for 18 h before use. Li1 strain (10^7 CFU/ml) was used for direct inoculation into a salami during the manufacture experiment as well as in the bacteriocin activity testing.

The meat mixture for Púchov salami contained the following components (g): pork lean meat (800); pork without skin (650); beef back without bones (130); nitrite curing salt (32); glucose (1.0); black pepper (3.5); red pepper (7.0); chilli pepper, (4.0); garlic (1.0); muscat nutmeg (0.4); grind caraway seeds (1.0). Starter culture "Flora Carn" (Christian Hansen Laboratory, a.s. Copenhagen, Denmark, containing *Lactobacillus pentosus* and *Staphylococcus carnosus*) was added at 25 g per 100 kg (i.e. 1.87g per 7.5 kg-3 trials in each 2.5 kg of meat mixture (10^{11} CFU/ml). The strains involved in Flora Carn were not inhibited by nisin. The initial pH of the meat mixture was 6.19. The bulk salami mixture was prepared in the pilot plant and 2.5 kg for each of three trials was transferred to the laboratory for the experiment. Three independent trials were conducted, each trial comprising then five salamis (0.500 g). Trial A (reference control), involving only untreated salami mixture. Trial B represents salami mixture inoculated with *Listeria innocua* Li1 (10^7 CFU/ml). For trial C, nisin (commercial product Nisaplin, *Aplin & Barrett*, Dorset, England) in concentration 1mg/g was added to the salami mixture inoculated with *L. innocua* Li1 strain. Nisin for use was prepared and maintained as described **Kišidayová et al. (2009)**. The meat mixtures were stuffed into 50 mm diameter collagen casings and the flat shape salamis prepared by this way were transferred back to the pilot plant, kept separately and ripened at 2-4 °C for 2 days in the cool room. The salamis smoking procedure was performed according to the technological parameters; the products were smoked permanently at 20 °C for 24h, kept for 14 days under 12° C and relative humidity 80 % in the dry chamber. They were stored (ripened) for 4 weeks.

Salami sampling and analyses

Sterile lancet, removing 10 g from the middle of the each product was used to take samples for the microbiological determination by the standard microbiological method according to International Organization for Standardization (ISO). The samples were homogenized in Stomacher (Stomacher 80, Seward Laboratory Stems, England) with 90 ml of peptone water (Oxoid) for several minutes. Then, serial dilutions were prepared and spread onto Fraser agar base supplemented with Fraser additive (Becton & Dickinson) and simultaneously on Mc Bridge *Listeria* agar/Oxford agar (Becton & Dickinson) and cultivated at 29-31° C for 48 h. The counts of bacteria were enumerated in CFU/g \pm SD. In the reference salami samples, the total bacterial count was estimated using Columbia blood agar and Trypticase soy blood agar (Becton & Dickinson) continually in the time of the experiment. Sampling was provided at day 1 (before and after bacteriocin addition), at day 2 and at weeks 3, 4. All samples (from each trial) were examined in duplicate (five salamis in each trial in duplicate). The bacteriocin activity in the salami samples was checked according to **Coffey et al. (1998)**. Briefly, 5g of salami was mixed with 70% of *iso*-propanol to a total volume of 10 ml and homogenized. The homogenate was diluted and 50 μ l aliquots of it were

applied into wells in an agar plates which had been seeded with *L. innocua* Li1 strain. Plates were incubated at 37° C for 4 h (first check-up), then for 16 h. The pH measurement was carried out by inserting the pin electrode of pH-meter Hanna Checker^R (Fischer Scientific Ltd. Pardubice, Czech Republic). Water activity (a_w) and water content were determined by the standard norm STN 56 0030.

RESULT AND DISCUSSION

The initial number of *L. innocua* Li1 in the inoculated meat mixtures was 10^4 CFU/g (log 10; 4.04 ± 0.07 , Table 1). After nisin addition, the *Listeria* count detected in the samples infected with Li1 strain and treated by nisin was 1.36 ± 0.07 CFU/g; difference 2.68 logarithmic cycles was noted between Li samples and Li/Ni samples. At day 2, the difference 3.23 log cycles was noted between Li1 and Li/Ni samples (Li: 5.46 ± 0.08 , Li/Ni: 2.14 ± 0.07 CFU/g). Although, at weeks 3 and 4 slight increase in Li1 cells was determined in Li samples, the difference of Li1 cells in Li samples and Li/Ni samples was still noted (difference 1.69; 1.80 log cycles, Table 1). The microbial background of the reference salami (concerning an unsuitable microbiota) was under detection limit (<1.0 respectively 0.60 CFU/g). Inhibitory activity of nisin was demonstrated by the decrease of Li1 strain in Li/Ni samples; however, the bacteriocin activity of nisin itself was not possible to measure in the product by the analytical method. Nisin action can either be bactericidal or bacteriostatic depending on the nisin concentration, bacteria concentration, physiological state of the bacteria and the prevailing conditions. Nisin will show a more pronounced bactericidal effect when conditions to test are optimum for the growth of the bacteria, e.g. optimum temperature, pH, water activity, redox potential and nutrient availability and the bacteria are in an energised stage (**Sahl, 1991; Maisner-Patin et al., 1992**). So, there exist contradictory results of nisin use in meat; e.g. **Rayman et al. (1983)** who have underlined an interference of nisin by meat components. This could be explanation why bacteriocin has been not detected in salami or meat; however in our experiment decrease of Li1 cells was demonstrated. **Davies et al. (1999)** reported higher effect of nisin in bologna-type sausage to control lactic acid bacterial spoilage when lower fat content was detected in the product. Loss of nisin activity in meat has been ascribed, in part, to the formation of a nisin-glutathione adduct. Activity is lost more quickly in raw meat than in cooked meat, and this has been taken as evidence that the reaction is enzyme mediated. Formation of the nisin-glutathione adduct has been confirmed but is shown not to be enzyme mediated. Retention of activity in cooked meat is shown to be due to the loss of free sulfhydryl groups during cooking as a result of the reaction of glutathione with proteins and not a result of the inactivation of endogenous enzymes. Microbial enzymes do not appear to play a role, as similar losses are seen in raw and cooked meat extracts, both of which contained undetectable levels of microorganisms (**Sergiou et al., 2006**). Lost of activity could be also the response of environmental factors on nisin activity; that is, the activity may be affected by changes in solubility, binding of the bacteriocin to food components, etc. (**Gänzle et al., 1999**). Cells reduction but

no activity was also reported in our studies with enterocin addition to Hornád salami (Lauková et al., 1999b). Under *in vitro* conditions an inhibitory effect of nisin was demonstrated by Delves-Broughton et al. (1996); Lauková & Juriš, 1998; Lauková et al., 2001b). To compare effect of nisin with the effect of *e.g.* enterocin 4231 after its addition in the same type of the product- Púchov salami; at the beginning higher decrease of Li1 cells was achieved between untreated samples and samples treated with nisin than after enterocin addition; then at weeks 3, 4, lower decrease of Li1 cells was achieved in the salamis with nisin than in salamis with enterocin 4231 (Ni:1.69, 1.80; Ent:4.2.36, 2.38 log cycles; Lauková et al., 2011).

The initial pH of the meat mixture was quite high-6.19. This value was decreased in Li/Ni salami, Li1 salami and the reference salamis almost to the same level (R-5.52, Li-5.53, Li/Ni-5.55, Table 2). The values of a_w were only slightly decreased. At week 4, the initial a_w 0.92 was decreased to 0.84 in Li/Ni, Li and R as well (Table 2). That is, pH in the salamis was not influenced by nisin addition as well as by Li1 contamination. Moreover, a_w was not influenced by nisin. There are not so many studies concerning the study of the effect of bacteriocins and/or their producers on a_w or pH values in meat products. They are more focused on their antimicrobial effect or sensory character. The similar pH and a_w as in our study were reported by Lauková et al. (1999b) in Hornád salami processed with enterocin 4231 (produced by *Enterococcus faecium* CCM 4231) and in the salami Štart processed with bacteriocin-producing strain *Staphylococcus xylosus* SX S03/1M/1/2, Lauková et al., 2010).

Although no specific sensory analyses were provided, the salamis kept their typical character. Water content in Li/Ni salamis possess 23.4 % comparing to the reference control salamis (24.9%) and Li salamis (23.5 %). The salamis processed in our experiment reached almost requested levels (maximum percentage of water requested is 34 %). In conclusion, nisin treatment has led to *L. innocua* cells decrease. The value of pH and water activity were not influenced. In our experiment nisin seems to be promising additive in this type of fermented salami. Because of some contradictory results reported previously, of course, further more detail studies and more parameters to search are requested.

Tab.1 The counts of *Listeria innocua* Li1 in Púchov salami after nisin treatment (expressed as log₁₀ CFU/g, colony forming units per g ± SD)

Sampling	Li ^a	Li/Ni ^b
Day 0-1	4.04 ± 0.07	1.36 ± 0.07
Day 2	5.46 ± 0.08	2.14 ± 0.07
Week 3	6.40 ± 0.11	4.71 ± 0.09
Week 4	6.50 ± 0.08	4.70 ± 0.08

Li^a - the samples with *Listeria innocua* Li1, Li/Ni^b- the experimental samples with Li1 strain and nisin, Day 0-1: the start of the experiment, Day 2, weeks 3, 4: sampling at day 2, at weeks 3,4; at day 0-1, after nisin addition into mixture difference 2.68 log cycle was noticed between samples infected with Li1 strain and those also treated by nisin; at day 2 this difference was 3.32 log cycles, at weeks 3,4 it was 1.69, 1.80

Tab. 2 The pH values and water activity (a_w) in Slovak fermented salami Púchov treated by nisin and experimentally inoculated with *L. innocua* Li1

Sampling	pH			a_w	
	R ^a	Li ^b	Li/Ni ^c	R ^a	Li ^b
Li/Ni ^c					
Day 0-1	6.19	6.19	6.19	0.92	0.92
0.92					
Week 1	5.35	5.42	5.41	0.91	0.92
0.92					
Week 2	5.38	5.33	5.38	0.90	0.90
0.90					
Week 3	5.47	5.47	5.55	0.90	0.90
0.89					
Week 4	5.52	5.53	5.55	0.84	0.84
0.84					

^aReference control samples, ^bsamples infected with *L. innocua* Li; ^cexperimental samples-infected with Li1 strain and treated with nisin, pH values, a_w -water activity

CONCLUSION

Although nisin is the only bacteriocin accepted by European Commission for a commercial use as additive for food preservation (however not commonly used in meat products) the results achieved confirmed its effectivity in dry fermented Púchov salami experimentally inoculated with *Listeria innocua* Li1 strain. Inhibitory effect if nisin in the experimental salamis was demonstrated by Li1 count decrease. The pH in salamis during processing was almost at the same level. Water activity was not negatively influenced.

REFERENCES

- BOZIARIS, I. S., ADAMS, M. R. 2001. Temperature shock, injury and transient sensitivity to nisin in Gram negatives. In *J. Appl. Microbiol.* Vol. 91, 2001, p. 715-724.
- COFFEY, A., RYAN, M., ROSS, R. P., HILL, C., ARENDT, E., SCHWARZ, G. 1998. Use of a broad host range bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* transconjugant as an alternative starter for salami manufacture. In *Int. J. Food Microbiol.* vol. 43, 1998, p. 231-235.
- CHUNG, K. T., DICKSON, J. S., CROUSE, J. D. 1989. Effect of nisin on growth of bacteria attached to meat. In *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 55, 1989, p. 1329-1333.
- DAVIES, E. A., MILNE, C. F., BEVIS, H. E., POTTER, R. W., HARRIS, J. M., WILLIAMS, G. C., THOMAS, L. V., DELVES-BROUGHTON, J. 1999. Effective use of nisin to control lactic acid bacterial spoilage in vacuum-packed bologna-type sausage. In *J. Food Prot.* Vol. 62, 1999, p. 1004-1010.
- DELVES-BROUGHTON, J., BLACKBURN, P., EVANS, R. J., HUGENHOLTZ, J. 1996. Applications of the bacteriocin, nisin. In *Ant. Leeuwenhoek.* vol. 69, 1996, p. 193-202.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. 1983. EEC Commission Directive 83/463/EEC
- GANZLE, M. G., WEBER, S., HAMMES, W. P. 1999. Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. In *Int. J. Food Microbiol.* vol. 46, 1999, p. 207-217.
- KIŠIDAYOVÁ, S., LAUKOVÁ, A., JALČ, D. 2009. Comparison if nisin and monensin effects on ciliate and selected bacterial populations in artificial rumen. In *Folia Microbiol.* vol. 54, p. 527-532.
- LAUKOVÁ, A., JURIS, P. 1998. Antagonistic effect of lantibiotic nisin against bacteria isolated from wastewater. In *Proceedings of the International Conference Ecology and Veterinary Medicine IV.*, Košice, 13-16 May, pp. 115-120.
- LAUKOVÁ, A., CZIKKOVÁ, S. 1999. The use of enterocin CCM 4231 in soy milk to control the growth of

- Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. In *J. Appl. Microbiol.* vol. 87, 1999, p. 182-186.
- LAUKOVÁ, A., CZIKKOVÁ, S., DOBRÁNSKY, T., BURDOVÁ, O. 1999a. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* by enterocin CCM 4231 in milk products. In *Food Microbiol.* vol. 16, 1999a., p. 93-99.
- LAUKOVÁ, A., CZIKKOVÁ, S., LACZKOVÁ, S., TUREK, P. 1999b. Use of enterocin CCM 4231 to control *Listeria monocytogenes* in experimentally contaminated dry fermented Hornád salami. In *Int. J. Food Microbiol.* vol. 52, 1999b, p. 115-119.
- LAUKOVÁ, A. 2000. *In vitro* treatment of different isolates from cattle dung and pig slurry by nisin. In *Acta Vet. Brno* vol. 69, 2000, p. 147-151.
- LAUKOVÁ, A., VLAMYNCK, G., CZIKKOVÁ, S. 2001a. Effect of enterocin CCM 4231 on *Listeria monocytogenes* in Saint-Paulin cheese. In *Folia Microbiol.* vol., 46, 2001a, p. 157-160.
- LAUKOVÁ, A., ŠTYRIAK, I., MAREKOVÁ, M. 2001b. *In vitro* antagonistic effect of nisin on fecal enterococci and staphylococci. In *Vet. Med. Czech* vol. 46, 2001b, p. 237-240.
- LAUKOVÁ, A., SIMONOVÁ, M., STROMPFOVÁ, V. 2010. *Staphylococcus xylosus* S03/1M/1/2, bacteriocin - producing meat starter culture or additive. In *Food Control* vol. 21, 2010, p. 970-973.
- LAUKOVÁ, A., TUREK, P. 2011. Effect of enterocin 4231 in Slovak fermented salami Púchov after its experimental inoculation with *Listeria innocua* Li1. In *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* vol. 10, 2011, p. 423-431.
- MAISNIER-PATIN, S., DESCHAMPS, N., TATINI, S. R., RICHARD, J. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin -producing starter. In *Lait* vol. 72, 1992, p. 249-263.
- RAYMAN, K., MALIK, N., HURST, A. 1983. Failure of nisin to inhibit outgrowth of *Clostridium botulinum* in a model cured meat system. In *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 46, 1983, p. 1450-1452.
- SAHL, H. G. 1991. Pore formation in bacterial membranes by cationic lantibiotics. In: Jung, G. & Sahl, H.G. (Eds) *Nisin and Novel Lantibiotics. Proceedings of the First International Workshop on Lantibiotics*, pp. 347-358. Escom, Leiden, The Netherlands.
- SAHL, H. G., BIERBAUM, G. 1998. Lantibiotics: Biosynthesis and Biological activities of Uniquely modified peptides from Gram-positive bacteria. In *Ann. Rev. Microbiol.* vol. 52, 1998, p. 41-79.
- SCANNEL, A. G. M., HILL, C., BUCKLEY, D. J., ARENDT, E. K. 1997. Determination of the influence of organic acids and nisin on shelf-life and microbiological safety aspects of fresh pork sausage. In *J. Appl. Microbiol.* vol. 83, 1997, p. 407-412.
- SERGIU, V. A., THOMAS, L. V., ADAMS, M. R. 2006. Interactions of nisin with glutathione in a model protein system and meat. In *J. Food Prot.* vol. 69, 2006, p. 951-956.
- SOBRINO-LÓPEZ, A., MARTIN-BELLOSO, O. 2008. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. In *Int. Dairy J.* vol.18, 2008, p. 329-343.

Acknowledgments:

The experiment was performed in continuity with EU-Copernicus project ERBCIPACT940160. Following further study, the search has been also partially provided by the project TRADISAUSAGE QLK1 CT-2002-02240.

Contact address:

MVDr. Andrea Lauková, PhD., Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 04 001 Košice, Slovakia, E-mail:laukova@saske.sk

prof. MVDr. Peter Turek, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 73, 048 01 Košice, Slovakia, E-mail:turek@uvm.sk

INFLUENCE OF LIFETIME EXPOSURE OF SUBLETHAL DOSES OF CADMIUM TO SELECTED PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM

Agnesa Lukačinová, Jaroslava Nováková, Eva Lovásová, Iveta Cimboláková, František Ništiar

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effects of exposure to low doses of cadmium dissolved in drinking water (at a concentration 200 times higher than the maximum permissible dose) on selected parameters of carbohydrate metabolism in 20 Wistar rats. Animals were divided into two groups – control and experimental groups exposed to low doses of cadmium chloride in concentration 20 μM of drinking water. We studied the biochemical parameters, as glucose, hemoglobin, glycated hemoglobin, lactate dehydrogenase and amylase in blood of rats. Glucose, hemoglobin, glycated hemoglobin and amylase levels increased, lactate dehydrogenase was not changed of rats exposed to cadmium. Good indicators of chronic intoxication by cadmium are elevated levels of glucose, hemoglobin and mainly glycated hemoglobin in blood. The evaluation results should be taken into account not only the data at the end of the experiment but for the entire duration of trials (i.e., more time steps), which results largely make objective.

Keywords: cadmium, haemoglobin, glucose, amylase, lactate dehydrogenase

ÚVOD

Ťažké kovy sú bežné kontaminanty životného prostredia následkom priemyselnej a poľnohospodárskej výroby (Tipping et al., 2006), ktoré nepodliehajú biologickej degradácii a ich hladiny v jednotlivých zložkách prostredia (ovzdušie, voda a potraviny) postupne stúpajú (Li et al., 2010). Bežná populácia je kontaminovaná najmä potravinovým reťazcom (CDC, 2009).

Ťažké kovy môžu vyvolať širokú škálu toxicko-biochemických účinkov, pôsobiť nepriaznivo na mnohé orgány a systémy u ľudí a zvierat (Massányi et al., 2007; Holovská et al., 2009). Určité ťažké kovy ako zinok, meď a mangán sú potrebné pre fyziologické procesy, oproti tomu iné toxické ťažké kovy ako napr. kadmium sú polutanty prostredia (ATSDR, 2008) a môžu nepriaznivo pôsobiť na zdravie ľudí (Liu, Qu, Kadilská, 2009). Najnovšie štúdiá poukazujú na to, že tvorba reaktívnych foriem kyslíka (RFK) predstavuje základný patogenetický článok kovmi indukovanej karcinogenézy (Valko et al., 2006), so špeciálnym zreteľom na úlohu v aktivácii signálno-transdukčných dráh, epigenetických zmien a reparačných procesoch DNA (Salnikov & Zhitkovich, 2008). Základný patogenetický mechanizmus toxicity ťažkých kovov spočíva v oxidatívnom strese postihnutých orgánov, následkom tvorby RFK a lipidovej peroxidácie, ktoré poškadzujú rôzne zložky buniek vrátane proteínov, membránových lipidov a nukleových kyselín (Martiniaková et al., 2010). Rastúce znečisťovanie prostredia toxickými ťažkými kovmi má za následok rôzne ochorenia, vrátane nádorov, hematotoxicity, alergických ochorení a imunotoxicity (Lukáč et al., 2009).

Cieľom tejto práce bolo sledovať priemernú dobu života, prežívanie, vývoj telesnej hmotnosti a vybrané parametre sacharidového metabolizmu po celoživotnej expozícii nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode u potkanov.

MATERIÁL A METÓDY

Zvieratá, podmienky chovu a experimentálny protokol: Do pokusu sme zaradili 20 samcov potkana Wistar, vo veku 52 dní, priemernej hmotnosti 128 ± 11 g získaných z SPF chovu Centrálného zvieratníka UPJŠ LF (CZ UPJŠ LF) v Košiciach, ktoré boli zaradené náhodne do dvoch skupín, kontrolnej a kadmium exponovanej pokusnej skupiny. Potkany boli chované individuálne v celosklených metabolických klietkach s voľným prístupom k pitnej vode a potrave od 52. dňa veku (0. deň pokusu). Kontrolná skupina (C, $n = 10$) dostávala čistú pitnú vodu. Pokusná skupina (Cd, $n = 10$) dostávala pitnú vodu obsahujúcu chlorid kadmiový v koncentrácii $20 \mu\text{mol.l}^{-1}$, t.j. 2.0 mg Pb.l^{-1} pitnej vody čo predstavuje 200-násobok MPK (maximálne prípustná koncentrácia) vo vode.

Obe skupiny boli kŕmené štandardnou krmivom *ad libitum*. Zvieratá boli chované pri konštantnej teplote 22 ± 2 °C, relatívnej vlhkosti 50%, a pri svetelnom režime 12 h svetlo:12 h tma. Pokusy boli vykonané v CZ UPJŠ LF, ktoré má akreditáciu na chov a pokusy na zvieratách. Pokusy boli povolené Etickou komisiou UPJŠ LF a Štátnou veterinárnou potravinovou správou SR (č. Ro-7879/04-220/3).

V 26 týždňových intervaloch pokusu sme sledovali prežívanie, priemernú dobu života, hmotnosť, príjem potravy a vody, stanovili sme hladiny glukózy,

glykovaného hemoglobínu, hemoglobínu, amylázy a laktátdehydrogenázy v krvnej plazme. Krv sme odoberali vždy ráno medzi 07⁰⁰ a 09⁰⁰.

Biochemické analýzy: Krv sme odoberali z chvostovej vény (500 µl) do antikoagulačnej zmesi lítium heparinátu, odstredili pri 1 000 g počas 45 min pri 4 °C a stiahnutá plazma bola uložená do vyšetrenia pri -24 °C. Ak boli známky hemolýzy plazma nebola použitá na vyšetrenie. Vyšetrovali sme: glukózu, glykovaný hemoglobín, hemoglobín, amylázu (AMS, E.C.3.2.1.1.) a laktátdehydrogenázu (LDH, E.C.1.1.1.27) použitím komerčných testov firmy Dot Diagnostics a.s., Česká republika.

Štatistické analýzy: Údaje boli analyzované ako priemery Studentovým *t*-testom a Mann–Whitney U-testom alebo jednocestnou ANOVA s následným Newman-Keuls *post-hoc* testom. Pre korelačné analýzy sme použili Spearmanov test. Významnosť bola určená na hladine <0,05 pre všetky štatistické hodnotenia. Hodnoty sme vyjadrili ako priemer ±S.E.

VÝSLEDKY

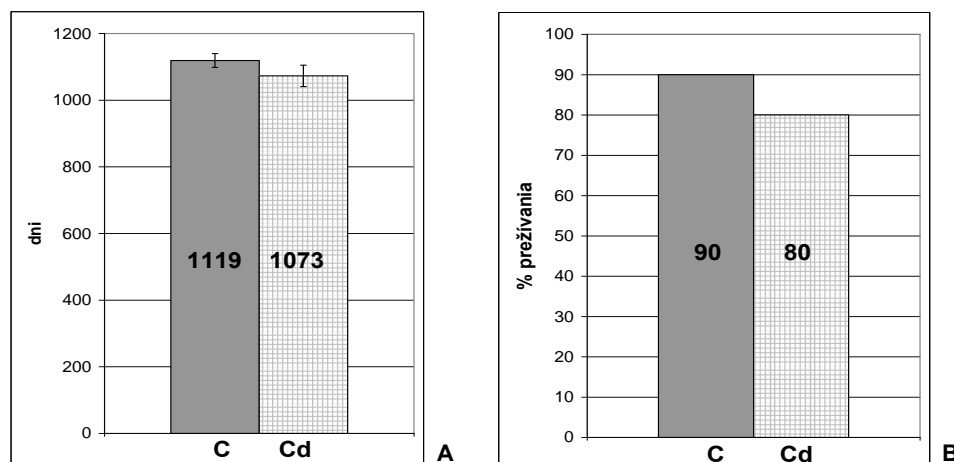
Priemerná doba života a prežívanie: Porovnanie priemernej doby života v 156. týždni pokusu pre jednotlivé skupiny uvádzame na obr. 1A. Medzi kontrolnou a kadmiovou exponovanou skupinou neboli zistené významné rozdiely. Prežívanie potkanov prezentujeme na obr. 1B.

Prežívanie u kadmiovou exponovaných potkanov bolo nižšie o 10 % oproti kontrolnej skupine. Medzi hlavné príčiny mortality patrili krvácanie do gastrointestinálneho traktu a nádory.

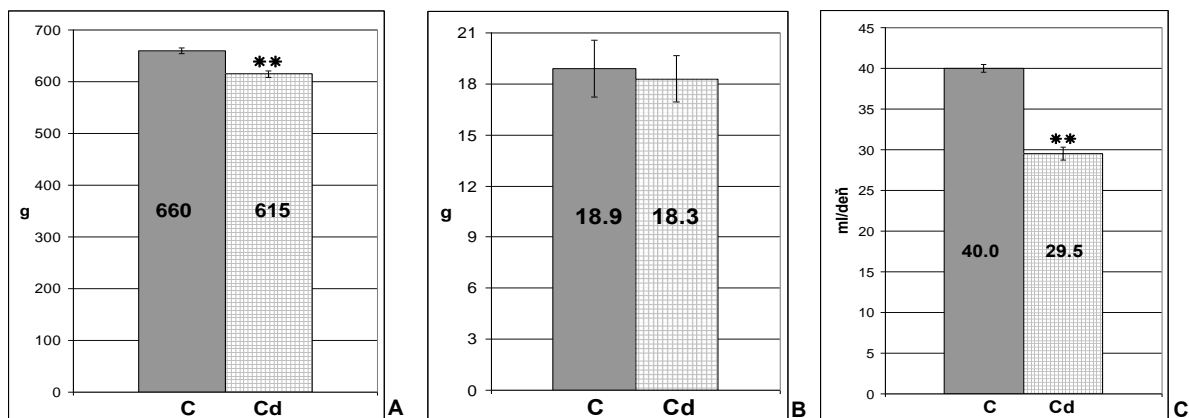
Telesná hmotnosť, príjem potravy a vody: Telesná hmotnosť (obr. 2A) bola významne nižšia u kadmiovou exponovaných potkanov ($p < 0,001$). Príjem potravy nebol významne odlišný medzi vyšetrovanými skupinami (obr. 2B), aj keď po expozícii kadmiovou bol mierne nižší. Príjem vody bol štatisticky významne nižší ($p < 0,001$) v skupine exponovanej kadmiovou (obr. 2C). Znížený príjem vody u potkanov exponovaných kadmiovou je možné pripísať chuťovému fenoménu.

Účinok na metabolizmus sacharidov: Porovnanie hladín glukózy v krvi (glykémie) medzi kontrolnými a kadmiovou exponovanými potkanmi uvádzame na obr. 3A a tab. 1. Po expozícii kadmiovou boli zistené významne vyššie hladiny glukózy v krvi exponovaných potkanov oproti kontrolnej skupine ($p < 0,05$). Po expozícii kadmiovou bol zistený významný vzostup ($p < 0,001$) hemoglobínu (obr. 3B, tab. 1). Glykovaný hemoglobín (gHb, obr. 3C, tab. 1) po expozícii kadmiovou vysoko významne stúpol v porovnaní s kontrolnými zvieratami ($p < 0,01$).

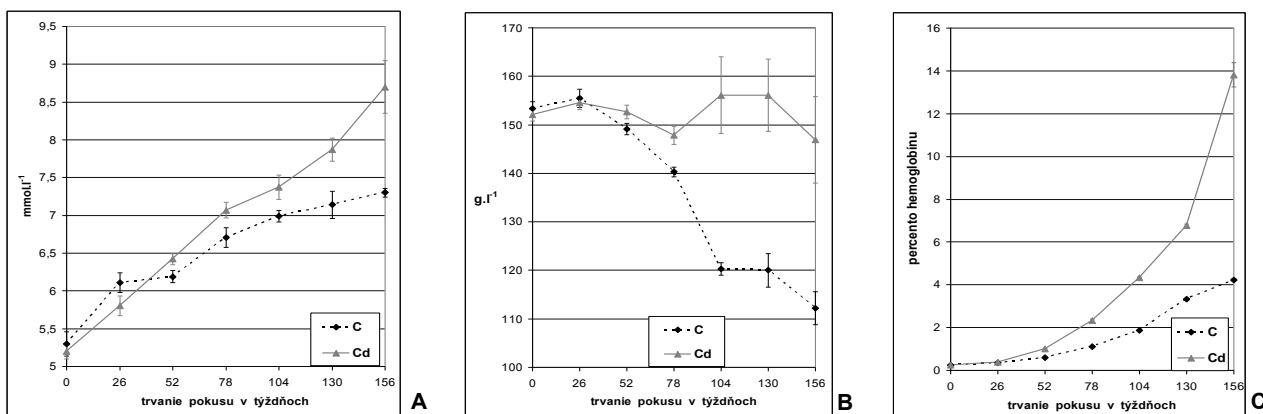
Hladiny amylázy (obr. 4A, tab. 1) boli po expozícii olovom štatisticky významne zvýšené ($P < 0,05$). Aktivity laktátdehydrogenázy (obr. 4B, tab. 1) v krvi potkanov boli štatisticky nevýznamne zvýšené po expozícii olovom.



Obr. 1 – Priemerná doba života (A) and % prežívania (B) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.E.).



Obr. 2 – Telesná hmotnosť (A), príjem potravy (B) a vody (C) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.E.). (***) = $p < 0,001$ medzi kontrolnou a pokusnou skupinou

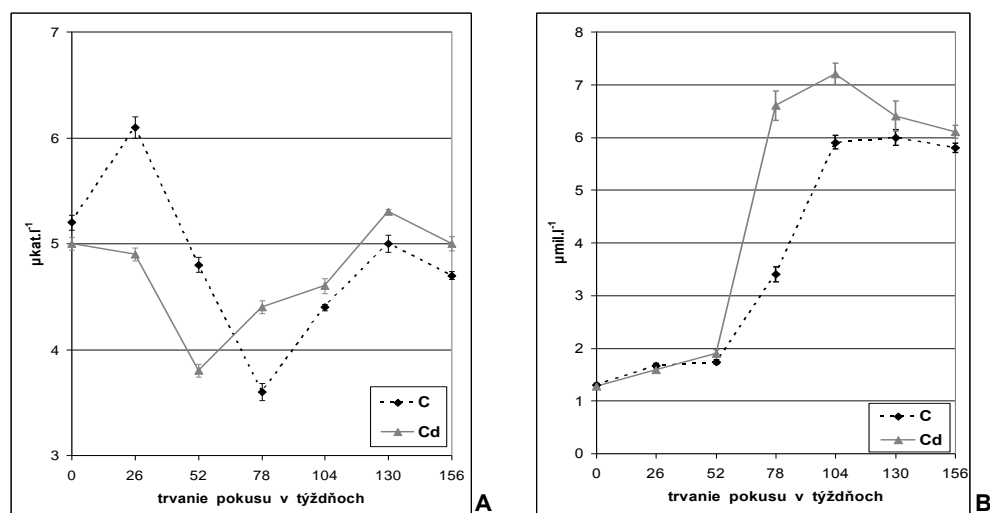


Obr. 3 – Zmeny hladín glukózy (A), hemoglobínu (B) a glykovaného hemoglobínu (C) v krvi potkanov počas pokusu (priemer ±S.E.).

Tabuľka 1 Porovnanie vybraných parametrov metabolizmu sacharidov medzi kontrolnými a kadmom exponovanými potkanmi

Parameter	Glukóza		Hb		gHb		AMS		LDH	
	C	Cd	C	Cd	C	Cd	C	Cd	C	Cd
Priemer	7,3	8,7	112,2	146,9	4,23	13,8	4,7	5	5,8	6,1
S.D.	0,18	0,93	10,3	25,2	0,11	1,62	0,11	0,19	0,27	0,35
S.E.	0,06	0,31	3,45	8,91	0,04	0,57	0,04	0,07	0,09	0,12
GP	7,3	8,65	111,8	145,1	4,23	13,7	4,7	5	5,79	6,09
Maxim um	7,5	10,5	125	190	4,35	16,4	4,9	5,4	6,4	6,9
HKV	7,43	8,9	122,5	172,5	4,33	15,1	4,8	5,1	5,9	6,18
Medián	7,35	8,7	110	137,5	4,25	13,8	4,7	4,95	5,8	6
DKV	7,1	8,55	105	130	4,18	12,4	4,6	4,86	5,6	5,9
Minim um	7	6,8	95	120	4	11,5	4,55	4,8	5,5	5,8
Rozsah	0,5	3,7	30	70	0,35	4,9	0,35	0,6	0,9	1,1
VK	0,02	0,11	0,09	0,17	0,03	0,12	0,02	0,04	0,05	0,08
P hodnota	0,003		<0,001		<0,001		0,001		0,063	

Hb = hemoglobín; gHb = glykovaný hemoglobín; AMS = amyláza; LDH = laktátdehydrogenáza; GP = geometrický priemer; HKV = horný kvartil; DKV = dolný kvartil; VC = variačný koeficient;



Obr. 4 – Zmeny aktivít amylázy (A) a laktátdehydrogenázy (B) v krvi potkanov

DISKUSIA

Kadmium pôsobí toxicky takmer na všetky orgánové systémy, aj keď najcitlivejšími sú pečeň, obličky, reprodukčný, nervový a kardiovaskulárny systém. V dostupnej literatúre je pomerne málo údajov o vplyve chronickej expozície kadmium na metabolizmus sacharidov a tieto sú často protikladné a väčšina údajov pochádza zo štúdií na rybách (Cicik & Engin, 2005). Je známe, že expozícia kadmium má hyperglykemizujúci účinok a zvyšuje intoleranciu na glukózu (Shepeľova, Dekach, Mel'nikova, 2007). Prejav toxicity kadmia sú dobre popísané, ale podrobnosti o jeho patogenetickom účinku na metabolizmus sacharidov pri dlhodobej expozícii nízkymi dávkami nie sú úplne objasnené.

Na základe štúdií LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) bola táto hladina stanovená na 7,0 mg Cd.kg⁻¹ na deň. V našich pokusoch táto hladina nebola prekročená. MRL (*Minimal Risk Level*) pre chronickú orálnu expozíciu kadmium bola určená na 0,1 µg.kg⁻¹ na deň. Táto hodnota bola v našich pokusoch prekročená 1 000 násobne.

Nižší účinok kadmia na dĺžku života v porovnaní s ostatnými ťažkými kovmi (Lukačínová et al., 2011) je možné pripísať skutočnosti, že kadmium v nízkych dávkach môže byť esenciálny prvok (Schwarz, 1977). O možnej esenciálnej úlohe kadmia pojednáva aj súborný článok (Anke a spol., 2005), a potvrdzujú to aj naše štúdie (Lukačínová et al., 2008). Druhým možným vysvetlením nízkeho účinku kadmia na dĺžku života môže byť, že počas celého života prijali len 64% jednorazovej LD₅₀. Jednorazová LD₅₀ pre kadmium je 225 mg.kg⁻¹ ž.hm. (Kotsonis & Klaasen, 1977).

Normálne hladiny glukózy u samcov potkana Wistar sú v rozmedzí od 5,3 – 8,3 mmol.l⁻¹ a vekom stúpajú od dolnej až po hornú hranicu tohto rozpätia (Lukačínová et al., 2011). Hladina glukózy v krvi je signálom pre príjem potravy a zároveň dôležitým parametrom homeostázy a metabolizmu sacharidov.

Zaujímavý bol vývoj hladín glukózy počas pokusu, kde u kontrolných potkanov postupne stúpala glykémia až do konca pokusu (obr. 3A), aj keď dynamika bola aj u exponovaných potkanov rovnaká, hladiny glykémie boli od 52. týždňa vyššie ako u kontrolných potkanov. Pri porovnaní za celú dobu trvania pokusu sú rozdiely v glykémii medzi kontrolnou a kadmium exponovanou skupinou tiež štatisticky významné už od 78. týždňa ($p < 0,05$), preto zvýšenie hladín glukózy v krvi je vhodným doplnkovým markerom pre chronickú expozíciu kadmium. Na uspokojivé zodpovedanie otázky, prečo sú po expozícii kadmium napriek nižšiemu príjmu potravy vyššie glykémie budú potrebné ďalšie štúdiá.

Naše výsledky sú v zhode s údajmi z literatúry, kde po intoxikácii s kadmium bol zistený vzostup glukózy v krvi asi o 20% (El-Demerdash et al., 2004). Vysvetľujú to poškodením molekuly inzulínu.

Hemoglobín je uvoľňovaný do plazmy z erytrocytov. Normálne hodnoty hemoglobínu u potkanov sa pohybujú v rozmedzí 115 – 160 g.l⁻¹ (Miller, Friedman, Deuei, 1946). V literatúre popisali pokles hemoglobínu po subchronickej intoxikácii kadmium o 25 % (El-Demerdash et al., 2004). V našich pokusoch sme pokles hemoglobínu nezistili, pravdepodobne preto, že sme použili podstatne nižšie dávky kadmia.

Z našich výsledkov vyplýva, že hemoglobín je vyšší po expozícii kadmium. Vyššie hladiny hemoglobínu sa zdajú byť vhodným doplnkovým chronickej expozície nízkymi dávkami kadmia. Hladiny hemoglobínu počas pokusu vekom klesali (obr. 3B) v kontrolnej skupine, zatiaľ čo v skupine exponovanej olovom sa počas celého pokusu držali na približne rovnakej hladine.

Hladiny glykovaného hemoglobínu (HbA1c) záviseli od hladín glukózy v krvi (obr. 3C). Jeho hladiny vekom stúpali a v kadmium exponovanej skupine bol štatisticky vysoko významný vzostup hladín glykovaného hemoglobínu ($p < 0,001$).

V dostupnej literatúre sme nenašli relevantné údaje o vplyve chronickej expozície kadmium na hladiny glykovaného hemoglobínu.

O účinku ťažkých kovov na aktivitu amylázy je v literatúre len málo údajov (Kalahasthi et al., 2006). Naše výsledky ohľadom významného zvýšenia aktivít amylázy po expozícii kadmium potvrdzujú údaje iných autorov (Kalahasthi et al., 2006), ale boli publikované aj opačné údaje (Linari, Nencini, Nucero, 2001). Zmeny aktivity amylázy svedčia o poškodení exokrinného pankreasu po dlhodobej expozícii kadmium.

Za referenčné hodnoty AMS u samcov potkanov kmeňa Wistar považujeme hodnoty 4,0 – 5,9 µkat.l⁻¹ (Lukačínová et al., 2011). Vývoj hladín amylázy počas pokusu (obr. 4A) vykazoval zaujímavý priebeh, v prvých 26. týždňoch stúpala, potom klesala do 78. týždňa a stúpala zase do 130. týždňa, potom už klesala až do konca pokusu. Tento trend vývoja bol rovnaký v oboch skupinách, ale hladiny AMS boli u kadmium exponovaných potkanov podstatne vyššie ($p < 0,05$) od 78. týždňa a dá sa predpokladať, že to bolo následkom poškodenia obličiek a čriev, snáď aj rozvoja malígnych procesov. Zvýšenie hladiny amylázy nebude vhodným markerom chronickej intoxikácie kadmium, nakoľko v prvej perióde pokusu sú oproti kontrole nižšie (do 52. týždňa) potom zase vyššie. Práve prípad amylázy dokazuje dôležitosť hodnotenia za celé obdobie pokusu (viac časových etáp), ako len na základe údajov z konca pokusu. Pri hodnotení výsledkov za celé obdobie trvania pokusu je rozdiel medzi hodnotenými skupinami štatisticky nevýznamný.

U potkanov sú normálne hodnoty LDH v rozmedzí 1,7 až 6,2 µkat.l⁻¹ (Preus et al., 1988). LDH vykazuje stúpajúci trend do 104. týždňa v oboch skupinách (obr. 4B). V oboch skupinách potom klesá od 104. týždňa. Zvýšenie hladín LDH nebude vhodným doplnkovým markerom chronickej intoxikácie kadmium.

Aby sme mohli naše výsledky interpretovať s náležitou zodpovednosťou, bude potrebné pokračovať ďalej v štúdiu a doplniť ju o sledovanie ďalších biochemických, imunologických a genetických parametrov.

ZÁVER

Získané výsledky rozširujú naše poznatky o celoživotnej expozícii nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode u potkanov. Výsledky je potrebné hodnotiť počas viacerých časových etáp počas expozície, nielen na základe údajov na začiatku a na konci pokusu.

LITERATÚRA

- ANKE, M., DORN, W., MÜLLER, M., SEIFERT, M. 2005. Recent progress in exploring the essentiality of the ultratrace element cadmium to the nutrition of animals and man. In *Biomed Res. Trace Elem.*, vol. 16, 2005, p. 198-202.
- ATSDR, 2008. *Toxicological Profile for Cadmium*. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 454 p.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. p. 176-242
- CICIK, B., ENGIN, K. 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). In *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, vol. 29, 2005, p. 113-117.
- EL-DEMERDASH, F. M., YOUSEF, M. I., KEDWANY, F. S., BAGHDADI, H. H. 2004. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. In *Food Chem. Toxicol.*, vol. 42, 2004, p. 1563-1571.
- HOLOVSKA, K., CIGANKOVA, V., ALMASIOVA, V., SOBEKOVA, A., NAD, P., SKALICKA, M. 2009. Ultrastructural and biochemical changes in the turkey liver after the chronic cadmium exposure. In *Acta Vet. Brno*, vol. 59, 2009, p. 167-175.
- KALAHASTHI, R. B., RAO, R. H. R., MURTHY, R. B. K., KUMAR, M. K., 2006. Effect of cadmium exposure on serum amylase activity in cadmium electroplating workers. In *Environ. Bioindicators*, vol. 1, 2006, p. 260-267.
- KOTSONIS, F. N., KLAASEN, C. D. 1977. Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.* vol. 41, 1977, p. 667-680.
- LI, Q., CAI, S., MO, C., CHU, B., PENG, L., YANG, F. 2010. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. In *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 73, 2010, p.84-88.
- LINARI, G., NENCINI, P., NUCERITO, V. 2001. Cadmium inhibited stimulated amylase secretion from isolated pancreatic lobules of the guinea-pig. In *Pharmacol Res.*, vol. 43, 2001, p. 219-223.
- LIU, J., QU, W., KADILSKA, M. B. 2009. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 238, 2009, p. 209-214.
- LUKÁČ, N., MASSÁNYI, P., CAPČÁROVÁ, M., KOVÁČIK, J., MARTINIAKOVÁ, M. 2009. Effect of toxic metals to the immune system. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, p. 35-38.
- LUKAČINOVÁ, A., BEŇAČKA, R., LOVÁSOVÁ, E., RÁČZ, O., NIŠTIAR, F. 2008. Reproduction parameters in low dose chronic exposure with heavy metals in rats. In *Polish J. Environ. Stud.*, vol. 17, 2008, p. 911-915.
- LUKAČINOVÁ, A., NOVÁKOVÁ, J., SEDLÁKOVÁ, E., LOVÁSOVÁ, E., DOMBROVSKÝ, P., NIŠTIAR, F. 2011. Referenčné hodnoty u samcov potkana Wistar. 2. Vybrané parametre metabolizmu sacharidov. In: „Výživa a zdravie 2011“. Zborník vedeckých prác. SPU v Nitre, 2011, p. 324-331. ISBN 978-80-552-0699-8.
- LUKAČINOVÁ, A., RÁČZ, O., LOVÁSOVÁ, E., NIŠTIAR, F. 2011. Effect of lifetime low dose exposure to heavy metals on selected serum proteins of Wistar rats during three subsequent generations. In *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 74, 2011, p. 1747-1755.
- MARTINIAKOVÁ, M., OMEĽKA, R., MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N. 2010. The effect of abiotic factors on the immune system. In: Proceeding Book of X. International Scientific Conference “Risk Factors of Food Chain” 2010, SUA in Nitra, Slovak Republic, 2010, p. 241-245, ISBN 978-80-552-0436-9.
- MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., UHRÍN, V., TOMAN, R., PIVKO, J., RAFAY, J., FORGÁCS, Z. S., SOMOSY, Z. 2007. Female reproductive toxicology of cadmium. In *Acta Biol. Hung.*, vol. 58, 2007, p. 287-299.
- MILLER, Z. B., FRIEDMAN, M., DEUEI, H. J. jr. 1946. The influence of caloric restriction on plasma protein, hemoglobin and hematocrit values in the rat. In *Am. J. Physiol.*, vol. 147, 1946, p. 423-427.
- PREUS, M., BHARGAVA, A. S., KHATER, A. E., GUNZEL, P. 1988: Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. In *Toxicol. Lett.*, vol. 42, 1988, p. 225-233.
- SALNIKOV, K., ZHITKOVICH, A. 2008. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. In *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 21, 2008, p. 28-44.
- SCHWARZ, K. 1977. Essentiality versus toxicity of metals. In *Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals*. Amsterdam, Elsevier, 1977, p. 3-22.
- SHEPEĽOVA, I. A. DEKACH, I. E. A. MELNYKOVA, N. M. 2007. Effect of cadmium sulphate on the metabolism of carbohydrate in organism of rats of different ages. In *Ukr. Biokhim. Zh.*, vol. 79, 2007, no. 3, p. 92-96.
- TIPPING, E., LAWLOR, A. J., LOFTS, S., SHOTBOLT, L. 2006. Simulating the long-term chemistry of an upland UK catchment: heavy metals. In *Environ. Pollut.*, vol. 141, 2006, p. 139-150.
- VALKO, M., RHODES, C. J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. In *Chem-Biol. Inter.*, vol. 160, 2006, p. 1-40.

Acknowledgments:

This work was supported by the Ministry of Education grants VEGA No. 01/8235/01 and 01/0387/10

Contact address:

MVDr. Agnesa Lukačínová, PhD. Department of Medicinal Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: agnesa.lukacinova@upjs.sk

MVDr. Jaroslava Nováková, PhD., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: jaroslava.novakova@upjs.sk

MVDr. Eva Lovásová, PhD., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: eva.lovasova@upjs.sk

Ing. Iveta Cimboláková, Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: iveta.cimbolakova@upjs.sk

prof. MVDr. František Ništiar, CSc., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: frantisek.nistiar@upjs.sk

MICROBIAL STATUS AND QUALITY OF RABBIT MEAT AFTER RABBITS FEED SUPPLEMENTATION WITH PHYTO-ADDITIVES

*Monika Pogány Simonová, Andrea Lauková, Eubica Chrastinová,
Renáta Szabóová, Viola Strompfová*

ABSTRACT

Nowdays, there is an increasing interest in public health issue due to consumption of healthy and nutritive food, e.i. rich in proteins, low in cholesterol and lipid contents. The aim of this study was to examine if oregano, sage and *Eleutherococcus senticosus* extracts, commercial Xtract as well can influence microbial status of rabbit meat after their supplementation of rabbit feed. Reduction of enterococci, coagulase-negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* after feed supplementation by the sage and oregano was more detectable at the end of the experiment (at day 42) than after their application (at day 21). In animals with Xtract addition, antibacterial effect has been noted already at day 21. Our *in vivo* results confirmed *in vitro* antibacterial effect of the tested extracts and showed that maintaining of rabbit meat quality by plant extracts is very promising.

Keywords: sage; oregano; *Eleutherococcus senticosus*; rabbit meat; microflora

INTRODUCTION

Nowdays, there is an increasing interest of consumers in a healthy lifestyle, e.g. energetic and nutritional values of food, which are rich in protein, low in cholesterol and lipid contents. From the nutritional point of view, rabbit meat is flavourful and easily digested, with high nutritional and dietetic properties: containing of 20-21% of proteins and unsaturated fatty acids (oleic and linoleic; 60% of all fatty acids), potassium, phosphorus and magnesium; it is low in fat, cholesterol and sodium (Bielanski et al., 2000; Dalle Zotte, 2002; Hermida et al., 2006; Dalle Zotte and Szendrő, 2011). That is, why the rabbit meat is better digested compare to others (beef, lamb or pork; Enser et al., 1996) and recommended for consumption e.g. in persons with cardiovascular illnesses (Hu and Willett, 2002). Moreover, the energy value (427-849 kJ/100 g of fresh meat) of rabbit meat is comparable to various commonly consumed varieties of red meat (Dalle Zotte, 2002).

The quality of meat is also in relation with its microbiological status, which influences nutritional and sensory traits as well. While studies of meat spoilage in red meat and poultry are reported (Huffman, 2002), data concerning the microbial quality of rabbit meat are lack and limited to a few reports (Badr, 2004; Rodríguez-Calleja et al., 2004; Rodríguez-Calleja et al., 2005). Rabbit meat may be contaminated with organisms of various kinds, including spoilage and potentially pathogenic bacteria, like many raw foods of animal origin. These bacteria could be originated from the environment

of living animals as well as there is a possible cross-contamination during preslaughter (crating, transportation, holding conditions) and processing (skinning, evisceration) operations (Hernández, 2008).

In recent years, natural compounds and/or substances produced by microorganisms (probiotics, bacteriocins), aromatic plants and their extracts have received increased attention as potential alternatives to growth promoters in several animals, due to their antimicrobial activity (Lewis et al., 2003; Lauková et al., 2006; Marcin et al., 2006; Pogány Simonová et al., 2009a). Most of studies and reviews deal with the moderating effect of environmental, feeding, genetic and biological (age and weight) factors as well as of technological (preslaughter, transportation, processing) conditions on rabbit carcass and meat quality (Dalle Zotte, 2002; Hernández, 2008; Dalle Zotte, Szendrő, 2011); influence on rabbit meat microflora by natural substances (bacteria and plant extracts) have been also reported (Pogány Simonová et al., 2009b; Pogány Simonová et al., 2009c). The objectives of this study were to examine if oregano and sage, *Eleutherococcus senticosus* extracts and commercial phytoadditive – Xtract can influence microbial status of rabbit meat after rabbit feed supplementation by them.

MATERIAL AND METHODOLOGY

One hundred and twenty (120) 5-weeks-old Hy-plus breed rabbits of male sex were used. All care and experimental procedures involving animals followed the

guidelines stated in the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*.

Rabbits were divided into 4 experimental (E1, E2, E3, E4) groups and 1 control group (C1) of 24 rabbits in each. The experiment lasted for 42 days. Rabbits were kept in standard cages, 2 animals per cage. The rabbits fed the commercial granulated diet for growing rabbits (ANPRO.FEED, VKZ Bučany, Slovakia) and had access to water *ad libitum*. The chemical composition of the diet was as follows: dry matter, 884 g/kg; crude protein, 173 g. kg; crude fibre, 147 g. kg; fat, 34 g. kg, ash, 71 g. kg; organic compounds, 813 g. kg; starch, 139 g. kg; calcium, 8 g. kg; phosphorus, 5 g. kg; magnesium, 0,9 g. kg; sodium, 1,4 g. kg; potassium, 9,6 g. kg; iron, 289,6 mg. kg; zinc, 0,6 mg. kg. Every day, at the same time in the morning, the sage extract was administered to rabbits (*Salvia officinalis* L., *Labiatae*; 15 ± 1 % of cineol, 24 ± 1 % of thujon, 18 ± 1 % of borneol; 10 µL/animal/day; Calendula, Nová Ľubovňa, Slovakia) in the first experimental (E1) group and oregano extract (*Origanum vulgare* L., *Lamiaceae*; 55 ± 3 % of carvacrol; 10 µL/animal/day; Calendula, Slovakia) in the experimental group E2 for 21 days; the extracts were added into the drinking water. In the third and fourth experimental groups (E3, E4), rabbits consumed 21 days the diet supplemented with *Eleutherococcus senticosus* powder extract (E3; Dr. Poráčová, Prešov University, Slovakia; Calendula, Slovakia) and commercial phytoadditive XtTRACT of carvacrol, cinnamaldehyd and capsaicin content (E4; Cymedica SK s.r.o. Zvolen, Slovakia), each homogenized in the diet at concentration 15 mg. 100 kg. Rabbits in control group (C) did not have administered phyto-additives.

Three animals from each group were slaughtered at days 21 (8-weeks-old rabbits) and 42 (11-weeks old rabbits) of experiment; they were stunned by electronarcosis (90 V for 5 s), immediately hung by the hind legs at the processing line and quickly bled by cutting the jugular veins and the carotid arteries. After the bleeding, the *M. biceps femoris* muscles were taken from the left side of the carcasses and chilled until microbiological analysis.

Bacteria from meat samples (MBF) were selected by a standard microbiological method using the appropriate dilutions in Buffered Peptone Water (Biomark, India). Colony forming units (cfu) for bacteria were determined by plating on following media according to ISO norms 6888 and NF V 04-504: Kanamycin Esculin Azide agar (Biomark) for enterococci, Violet Red Bile Glucose agar (Biomark) for *Escherichia coli*, Mannitol Salt agar (Becton & Dickinson, Cockeysville, USA) for coagulase-negative staphylococci (CoNS), Baird-Parker agar enriched with Egg Yolk Tellurite supplement (Becton & Dickinson) for coagulase-positive staphylococci (CoPS) and *Staphylococcus aureus* and CLED agar (Imuna, Šarišské Michaľany, Slovakia) for *Proteus vulgaris* and other Gram-negative bacteria and incubated at 37°C for 24 - 48 h. The bacterial counts were expressed in log₁₀ cfu.g.

Statistical evaluation of the results was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) with the *post hoc* Tukey post-test. The results are quoted as means ± SEM.

RESULTS AND DISCUSSION

At the end of the phyto-additives application (at day 21), the reduction of enterococci, CoNS and *Staphylococcus aureus* was recorded in EG4-Xtract group comparing with CG (Table 1). CoPS were reduced in group of rabbits with the sage (EG); moreover, meat samples from this group were *S. aureus* absent. *S. aureus* occurred only individually in other groups (except EG4, Table 1). At the end of the experiment (at day 42), the reductive effect of oregano against all checked bacteria was detected in comparison with CG; colonies of *Proteus vulgaris* occurred only individually. After the sage supplementation, the counts of enterococci, CoNS and *E. coli* were decreased. *S. aureus* and *P. vulgaris* were not determined in groups with sage and Xtract application. The counts of CoNS and *E. coli* were reduced in all experimental groups, comparing with CG (Table 3). The quality and nutritional value of meat is also depended on its microbial profile. According to our previous results (Pogány Simonová et al. 2009b,c), the dominant bacteria were CoPS (3.62 ± 0.09 – 4.85 ± 0.53 cfu.g⁻¹). On the other hand, Rodríguez-Calleja et al. (2004) and Hernández (2008) presented *Pseudomonas* sp., lactic acid bacteria and yeasts as dominant contaminants on carcasses. Badr (2004) detected higher counts of *S. aureus* (3.98 cfu.g) and *E. faecalis* (4.26 cfu.g) in rabbit meat than it was observed by us. However, Rodríguez-Calleja et al. (2006) presented lower counts of *S. aureus* (1.37 ± 0.79 cfu.g⁻¹), similarly to our results (average count 1.75 cfu.g⁻¹; ranged from 1.15 ± 0.15 cfu.g⁻¹ to 3.11 ± 0.00 cfu. g⁻¹). The prevalence of enterobacteriae in rabbit meat was detected with different counts: to 2.00 cfu.cm⁻² (Berruga et al., 2005), 0.49 – to 4.00 cfu.g⁻¹ (Rodríguez-Calleja et al., 2005) and/or 4.79 cfu. g⁻¹ (Badr, 2004). Although, to low temperature tolerant *Enterobacteriaceae* are capable to multiply, they are usually a small proportion of the total flora (García-López et al., 1998). There are many studies dealing with the effect of natural antimicrobial substances of plant origin, e.g. plant extracts and other phyto-additives on microorganisms isolated from several sources, mainly under *in vitro* conditions (Dorman and Deans, 2000; McGaw et al., 2007). Up to now, only limited informations are available concerning the inhibitory activity of plant extracts on the counts of microorganisms occurred in rabbit meat (Simonová, 2006; Szabóová, 2011). The use of natural substances in rabbit breeding is important and necessary, because of the residues of synthetic antimicrobial agents and additives for example coccidiostat in meat, related to consumers safety. Inhibitory effect of sage and oregano against enterococci isolated from rabbit meat was also observed under *in vitro* conditions (Szabóová et al., 2008), similarly to our results achieved in *in vivo* experiment. Reduction of bacteria after feed supplementation by sage and oregano was more detectable at the end of the experiment (day 42) than at the end of the application (day 21); similarly to results presented by (Pogány Simonová et al., 2009b) after bacteriocinogenic and probiotic *Enterococcus faecium* CCM4231 administration to rabbits. In animals with Xtract addition, antibacterial effect has been noted already at day 21. The stronger and earlier detectable effect of Xtract could be explained by heterogeneity of its components, due to carvacrol, cinnamaldehyd and capsaicin. The

antibacterial influence of sage and oregano was detected after their application, and by them higher reduction was noted mainly in the counts of enterococci, CoNS and *E. coli* comparing with Xtract and control groups.

The results presented in this study showed that changes in microbial profile of rabbit meat - reduction of spoilage bacteria were mainly obtained by oregano, sage and Xtract addition. We can conclude that maintaining of rabbit meat quality by plant extracts is very promising, further studies are needed to confirm and spread the recent knowledge.

REFERENCES

- BADR, H. M., 2004. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. In *Meat Science*, vol. 67, 2004, p. 541-548.
- BERRUGA, M. I., VERGARA, H., LINARES, M. B., 2005. Control of microbial growth and rancidity in rabbit carcasses by modified atmosphere packaging. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 85, 2005, p. 1987-1991.
- BIELANSKI, P., ZAJAC, J., FIJAL, J., 2000. Effect of genetic variation of growth rate and meat quality in rabbits. In *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain, 4-7 July, 2000, p. 561-566.
- DALLE ZOTTE, A., 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. In *Livestock Production Science*, vol. 75, 2002, p. 11-32.
- DALLE ZOTTE, A., SZENDRŐ, Z. S., 2011. The role of rabbit meat as functional food. In *Meat Science*, vol. 88, 2011, p. 319-331.
- DORMAN, H. J. D., DEANS, S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88, 2000, p. 308-316.
- ENSER, M., HALLET, K., HEWITT, B., FURSEY, G. A. J., WOOD, J. D., 1996. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. In *Meat Science*, vol. 4, 1996, p. 443-456.
- HERMIDA, M., GOZALEZ, M., MIRANDA, M., RODRÍGUEZ-OTERO, J. L., 2006. Mineral analysis in rabbit meat from Galicia (NW Spain). In *Meat Science*, vol. 73, 2006, p. 635-639.
- HERNÁNDEZ, P., 2008. Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. In *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, 10-13 June, 2008*, p. 367-383.
- HU, F. B., WILLETT, W. C., 2002. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. In *Journal of American Medical Association*, vol. 288, 2002, p. 2569-2578.
- HUFFMAN, R. D., 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. In *Meat Science*, vol. 62, 2002, p. 285-294.
- LAUKOVÁ, A., STROMPFOVÁ, V., SKŘIVANOVÁ, V., VOLEK, Z., JINDŘICHOVÁ, E., MAROUNEK, M., 2006. Bacteriocin-producing strain of *Enterococcus faecium* EK13 with probiotic character and its application in the digestive tract of rabbits. In *Biologia, Bratislava*, vol. 61, 2006, no. 6, p. 779-782.
- LEWIS, M. R., ROSE, S. P., MACKENZIE, A. M., TUCKER, L. A., 2003. Effects of dietary inclusion of plant extracts on the growth performance of male broiler chickens. In *British Poultry Science*, vol. 44, 2003, suppl. 1, p. 43-44.
- MARCIN, A., LAUKOVÁ, A., MATI, R., 2006. Comparison of the effect of *Enterococcus faecium* and aromatic oils from sage and oregano on growth performance and diarrhoeal diseases of weaned pigs. In *Biologia Bratislava*, vol. 61, 2006, no. 6, p. 789-795.
- McGAW, L. J., VAN DER MERWE, D., ELOFF, J. N., 2007. *In vitro* anthelmintic, antibacterial and cytotoxic effects of extracts from plants used in South African ethnoveterinary medicine. In *The Veterinary Journal*, vol. 173, 2007, no. 2, p. 366-372.
- POGÁNY SIMONOVÁ, M., LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, E., STROMPFOVÁ, V., FAIX, Š., VASILKOVÁ, Z., ONDRUŠKA, E., JURČÍK, R., RAFAY, J., 2009a. *Enterococcus faecium* CCM7420, bacteriocin PPB CCM7420 and their effect in the digestive tract of rabbits. In *Czech Journal of Animal Science*, vol. 54, 2009, no. 8, p. 376-386.
- POGÁNY SIMONOVÁ, M., LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, E., SZABÓOVÁ, R., MOJTO, J., STROMPFOVÁ, V., RAFAY, J., 2009b. Quality of rabbit meat after application of bacteriocinogenic and probiotic strain *Enterococcus faecium* CCM4231 in rabbits. In *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, vol. 4, 2009, no. 1, p. 1-6.
- POGÁNY SIMONOVÁ, M., LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, E., MOJTO, J., SZABÓOVÁ, R., STROMPFOVÁ, V., 2009c. Quality of rabbits meat in relation to natural additives. In *Zborník prednášok a posterov, Hygiene alimentorum XXX, 13-15 May 2009, Vysoké Tatry*. ISBN 978-80-7148-060-0, 2009, p. 68-70.
- RODRÍGUEZ-CALLEJA, J. M., SANTOS, J. A., OTERO, A., GARCÍA-LÓPEZ, M. L., 2004. Microbiological quality of rabbit meat. In *Journal of Food Protection*, vol. 67, 2004, no. 5, p. 966-971.
- RODRÍGUEZ-CALLEJA, J. M., GARCÍA-LÓPEZ, M. L., SANTOS, J. A., OTERO, A., 2005. Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. In *Meat Science*, vol. 70, 2005, p. 389-394.
- RODRÍGUEZ-CALLEJA, J. M., GARCÍA-LÓPEZ, M. L., SANTOS, J. A., OTERO, A., 2006. Rabbit meat as a source of bacterial foodborne pathogens. In *Journal of Food Protection*, vol. 69, 2006, no. 5, p. 1106-1112.
- SIMONOVÁ, M., 2006. Probiotic and bacteriocin-producing bacteria and their effect on rabbits digestive physiology. In *PhD Thesis, Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice*, 2006, p. 156.
- SZABÓOVÁ, R., LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, E., SIMONOVÁ, M., STROMPFOVÁ, V., HAVIAROVÁ, M., PLACHÁ, I., FAIX, Š., VASILKOVÁ, Z., CHRENKOVÁ, M., RAFAY, J., 2008. Experimental application of sage in rabbits husbandry. In *Acta Veterinaria Brno*, vol. 77, 2008, no. 4, p. 581-588.
- SZABÓOVÁ, R., 2011. Natural substances and their use in rabbit husbandry. In *PhD Thesis, University of Veterinary Medicine and Pharmacology Košice, Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences, Košice*, 2011, p. 127.

Acknowledgments:

This work was partially supported by the projects VEGA 2/0002/11 and SK-HU-0006-08 and SK-5/2008. We are grateful to Mrs. Margita Bodnárová for her skilful technical assistance. We are also grateful to colleagues from Animal Production Research Centre in Nitra, especially to Dr. Rastislav Jurčík, PhD and Ing. Ľubomír Ondruška, PhD for animal care, slaughtering and meat sampling.

Contact address:

MVDr. Monika Pogány Simonová, PhD., Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01, Košice, Slovakia, E-mail: simonova@saske.sk, Tel.: +421-55-7922964

MVDr. Andrea Lauková, CSc., Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01, Košice, Slovakia, E-mail: laukova@saske.sk, Tel.: +421-55-7922964

Ing. Ľubica Chrastinová, PhD., Animal Production Research Centre Nitra, Institute of Nutrition, Hlohovecká 2, 951 41, Lužianky, Slovakia, E-mail: chrastinova@cvzv.sk

MVDr. Renáta Szabóová, PhD., Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01, Košice, Slovakia, E-mail: szaboova@saske.sk, Tel.: +421-55-7922964

MVDr. Viola Strompfová, PhD., Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Šoltésovej 4-6, 040 01, Košice, Slovakia, E-mail: strompfova@saske.sk, Tel.: +421-55-7922964

COMPARISON OF THE QUALITY OF VEGETABLE OILS DESIGNED FOR THE FRYING FOOD

Lucia Zeleňáková, Silvia Pastyriková, Radoslav Židek, Ladislav Mura

ABSTRACT

The object of the research was to investigate the quality of vegetable oils for cooking food. The analysis used two types of oils - oil Fritol and Promienna. Both oils were purchased commercially. Oil changes were observed at frying French fries. At the same changes were observed oil stored at room temperature and the temperature in the refrigerator. The determined parameters included the measurement of polar materials in oil with electronic device Testo 265 for measuring the quality of cooking oil. Determination of change in the texture of oil during the oil deterioration by device Texturometer TA.XT Plus and determination the peroxide value by STN EN ISO 3960:2007. The work is also evaluating the results of the studied parameters. In all compared cases based on the content of the TPM showed higher heat resistance oil Fritol and sample of oil stored in the refrigerator.

Keywords: vegetable oil, frying, french fries, total polar materials, texture

ÚVOD

Jedným z hlavných cieľov fritovania je upraviť potraviny tak, aby sa stali chutnejšími. V priebehu fritovania sa časť vlhkosti, ktorú potravina obsahuje, nahradí fritovacím olejom. A keďže je olej pochutinou, tuk absorbovaný potravinou ju robí chutnejšou. Účinkom vysokej teploty počas fritovania dochádza k dehydratácii povrchovej vrstvy fritovanej potraviny, čím sa stáva chrumkavou a obsahuje iba 3 % vody (Kováč, 2007).

Počas fritovania je jedlo obklopené tukom alebo olejom a v priebehu niekoľkých minút nastáva rad rôznych dejov: absorpcia tuku, dehydratácia povrchu jedla, tvorba chuťových látok, zmena farby povrchu jedla atď. Pri teplotách fritovania sa v oleji tvoria degradačné produkty tukov. Tie sú následne absorbované vyprázaným pokrmom, čím sa značne ovplyvňuje jeho kvalita a prijateľnosť. Z tohto dôvodu je dôležité pri fritovaní používať kvalitné oleje, pri ktorých počas tepelného zahrievania dochádza k čo najnižšej tvorbe nežiaducich látok (Dobarganes et al., 2000).

Pri týchto podmienkach dochádza k reakciám, ako sú hydrolyza, oxidácia, polymerizácia, izomerizácia a cyklizácia, ktoré vedú k vzniku rôznych produktov. Tieto vzniknuté produkty ovplyvňujú ako senzorické, tak aj funkčné a nutričné hodnoty fritovacieho oleja, ale aj výsledného produktu. Kumuláciou týchto reakcií je dosiahnutý bod, kedy je fritovací olej nutné vymeniť. Výsledok fritovania je závislý na adekvátnej kontrole podmienok fritovania, teda postupu a na kvalite oleja (Kováč, 2007).

Na fritovanie sa používajú fritézy, pri ktorých sa teplota automaticky reguluje, avšak počas smaženia na panvici môže byť kritická teplota tuku prekročená (Sedláčková a Otoupal, 2007).

Teplota oleja je regulovaná podľa potreby spravidla do 180 °C. Väčšina fritovacích zariadení je vybavená

poistným termostatom, ktorý zabezpečuje, že vo fritézach nedochádza k prepaľovaniu oleja. V koši, ktorý sa vkladá do tuku, sa zachytávajú zvyšky zo smažených potravín, a tým nedochádza k ich prepaľovaniu (Sedláčková, 2000).

S cieľom znížiť tepelnú oxidáciu tukov a olejov boli vyvinuté vákuové fritézy. V tomto systéme sa na vyprážanie používa teplota 100 °C pri tlaku 10 – 100 Torr. Tepelná oxidácia oleja na smaženie sa výrazne spomalí nízkou teplotou a nízkou koncentráciou kyslíka. Takisto bola navrhnutá fritéza, ktorá by mala menšiu plochu oleja (\sqrt{V}), vzhľadom k hĺbke a výške (H) tak, že $H / \sqrt{V} = 0,93$. Táto zmena spomaľuje tepelnú degradáciu oleja na vyprážanie a tvorbu odpadových olejov (Hironori et al., 2003).

Na fritovanie má vhodné zloženie olej, ktorý obsahuje hlavne viazanú kyselinu olejovú a len malé množstvo kyseliny linolovej. Vhodné sú tiež nové vyšľachtené odrody sójového, repkového, slnečnicového a podzemnicového oleja (Pokorný a Parkányiová, 2001).

Pre oleje určené na vyprážanie boli stanovené niektoré základné východiskové kritériá, ktoré by mali zaistiť ich správnu funkciu pri fritovaní: oleje, určené na vyprážanie majú obsahovať maximálne 0,05 % voľných MK, množstvo peroxidov nemá presiahnuť 1,0 meq v 1 kg oleja a vlhkosť má predstavovať 0,10 %. Tučky a oleje by mali vykazovať neutrálnu vôňu a chuť bez prítomnosti cudzích zápachov a chutí. Bod rozkladu pri tukoch a olejoch musí byť vyšší než 170 °C. Teplota počas smaženia by sa mala pohybovať do 180 °C. Oleje sa môžu používať, kým množstvo polárnych zlúčenín neprekročí 25 % a obsah polymérov 10 %. Ak sa už množstvo týchto zlúčenín blíži uvedeným limitujúcim hodnotám, je potrebné použiť olej vymeniť. Zvyčajne sa v stravovacích zariadeniach výmena použitého oleja uskutočňuje do 8 hodín vyprážania. Medzi vyprázaním sa odporúča vykonávať filtráciu oleja (Choe a Min, 2007).

Počas fritovania sa v oleji vytvárajú: peroxidy, hydroperoxidy, epoxidy, aldehydy, ketóny, cyklické monoméry, diméry, polyméry a podobne. Uvedené komponenty patria medzi agresívne toxické látky s najväčším vplyvom na MK v oblasti dvojitych väzieb. Polynenasýtené MK sa menia pod ich vplyvom z prirodzenej cis-formy na neprirodzenú trans-formu s vysokým potenciálom lability vyjadreným tvorbou voľných radikálov. Jedna porcia fritovaných zemiakových hranolčekov obsahuje 6,8 gramu, jedna fritovaná šiška obsahuje 3,2 gramu transforiem mastných kyselín (Ginter, 2001).

V priebehu vyprážania nastáva v oleji súbor reakcií, ktoré neprebiehajú izolovane, ale vzájomne sa prelínajú a dopĺňajú.

Medzi tieto reakcie zaraďujeme:

- hydrolytické procesy
- oxidačné procesy
- polymerizačné procesy
- pyrolytické procesy (Hajšlová et al., 2003).

V predkladanom príspevku uvádzame výsledky porovnania vybraných ukazovateľov kvality dvoch druhov rastlinných olejov určených na fritovanie potravín.

MATERIÁL A METODIKA

Oleje zakúpené v obchodnej sieti pochádzali od rôznych výrobcov a vyznačovali sa rôznym zložením. Olej s obchodným názvom FRITOL je zmesou rastlinných olejov s vyšším obsahom kyseliny olejovej, ideálny pre teplú kuchyňu, hlavne na vyprážanie a fritovanie. Olej s obchodným názvom PROMIENNA je rastlinný jedlý olej jednodruhový repkový nízkoerukový. Má široké uplatnenie pri tepelnej príprave pokrmov, pri dusení, pečení a vyprázaní. Za studena je vhodný na prípravu šalátov a majonézy.

Sledovali sme stupeň opotrebenia až prepálenia olejov počas vyprážania zemiakových hranolčekov. V rámci analýz sme merali obsah TPM (total polar materials - polárnych zložiek) meraných v % počas tepelného záhrevu až do ich najvyššej prípustnej hodnoty jednak podľa stanovení výrobcu použitého meracieho prístroja, ako aj podľa legislatívnych predpisov. Zároveň sme sledovali zmeny peroxidových čísel, ako aj textúry olejov. Všetky analýzy sme vykonávali v laboratórnych podmienkach na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín, FBP v Nitre.

Charakteristika vykonaných meraní

Zemiakové hranolčky sme vyprážali v dvoch fritézach podľa druhu oleja, pričom oleje boli počas noci uchovávané buď pri izbovej teplote alebo v chladničke.

Vzorky hodnotených olejov boli analyzované v čerstvom stave a po následnom tepelnom zahrievaní počas 4 dní.

Na meranie množstva polárnych zložiek (TPM) vo fritovacích olejoch sme použili elektronický prístroj Testo 265 (obr. 1). Obsahuje kapacitný olejový senzor, pomocou ktorého je možné priamo v horúcom oleji merať stupeň jeho opotrebenia. Je potrebné zdôrazniť, že pomocou prístroja Testo 265 však nie je možné monitorovať nastavajúce horknutie.

Olej je opotrebovaný, ak je v oleji prítomných 24 % polárnych zložiek. Merania TPM sme vykonávali po vyprázení stále rovnakého množstva zemiakových hranolčekov (100 g). Merania sme opakovali 3-krát po sebe v obidvoch fritézach, pričom sme senzor stále očistili.

Počas vyprážania a merania sme dodržiavali rovnaký čas vyprážania (4 až 5 minút) a rovnakú teplotu olejov (170 °C). Kvalitu olejov sme posudzovali v priebehu 4 dní počas 6 hodinového kontinuálneho vyprážania hranoliek, pričom sme hodnoty TPM merali každých 30 minút. Analýzy boli ukončené, keď obsah TPM dosiahol hodnotu ≥ 24 %, čo znamená opotrebovanie oleja.



Obrázok 1 Testo 265

Indikácia displeja	Klasifikácia
>1% a <14% polárnych zložiek	Čerstvý olej
>14% a <18% polárnych zložiek	Mierne použitý
>18% a <22% polárnych zložiek	Použitý, ale stále OK
>22% a <24% polárnych zložiek	Silne použitý, odporúča sa výmena
≥ 24 % polárnych zložiek	Opotrebovaný olej

Obrázok 2 Vysvetlenie hodnôt na displeji Testo 265

Na meranie textúry olejov bol použitý prístroj Texturometer TA.XT Plus. Tento prístroj slúži na meranie textúry a kvantifikovanie fyzikálnych vlastností výrobkov alebo skúšaných materiálov prostredníctvom tlakovej skúšky (v tlaku alebo v ťahu). Hodnotí textúrne vlastnosti tým, že zachytí silu, vzdialenosť a čas, ktoré sú potom zobrazené na plne integrovanom 32-bitovom softvare s názvom Texture Exponent. Meranie sa vykonáva jednoduchým testom kedy sa rameno texturometra obsahujúce príslušnú sondu presunie dole a prenikne alebo komprimuje produkt, a potom sa vráti do svojej východiskovej polohy. Meranie textúry oleja sme vykonávali každý deň po ukončení 6 hodinového vyprážania. Olej sme po vyprázení hranolčekov nechali

vychladit' pri izbovej teplote. Z vychladeného oleja sme odobrali vzorku v množstve 100 ml a to z oboch fritéz. Vzorku sme preniesli do špeciálnej plastovej nádoby s priemerom 4 cm určenej na meranie texturometrom.

Stanovenie **peroxidového čísla olejov** sme uskutočnili podľa STN EN ISO 3960:2007. Táto medzinárodná norma špecifikuje metódu pre jodometrické stanovenie peroxidového čísla v živočíšnych a rastlinných tukoch a olejoch s vizuálnou detekciou koncového bodu. Uvedená metóda je použiteľná pre všetky živočíšne a rastlinné tuky a oleje, masťné kyseliny a ich zmesi s peroxidovým číslom od 0 meq do 30 meq aktívneho kyslíka na kilogram. Je tiež uplatniteľná pre margaríny a tukové nátierky s rôznym obsahom vody, avšak nie je vhodná pre mliečne tuky a nie je použiteľná pre lecitíny. Vzorky olejov sme odobrali každý deň po ukončení 6 hodinového vyprážania.

Pri spracovaní výsledkov kvalitatívnych zmien oleja Promienna a oleja Fritol, sme na vyhodnotenie použili počítačový program Microsoft Office Excel.

Namerané hodnoty TPM pomocou Testo 265 sme vyjadrili v % a vypočítali aritmetický priemer pre každé vykonané meranie. Na Texturometri TA.XT Plus sme jednotlivé merania opakovali 5-krát, pričom sme z jednotlivých výsledkov vyjadrených v jednotkách $N \cdot \text{sek}^{-1}$ vypočítali priemer. Na vyjadrenie peroxidového čísla sme použili výpočet, pri ktorom sme vychádzali zo spotreby tiosíranu.

Pri výpočte sme použili nasledujúci vzorec:

$$PV = \frac{(V-V_0) \cdot c \cdot 1000}{m}$$

kde:

PV – peroxidové číslo

V – spotreba roztoku tiosíranu sodného pri vlastnom stanovení [ml]

V₀ – spotreba roztoku tiosíranu sodného pri slepom pokuse [ml]

c – koncentrácia roztoku tiosíranu sodného [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

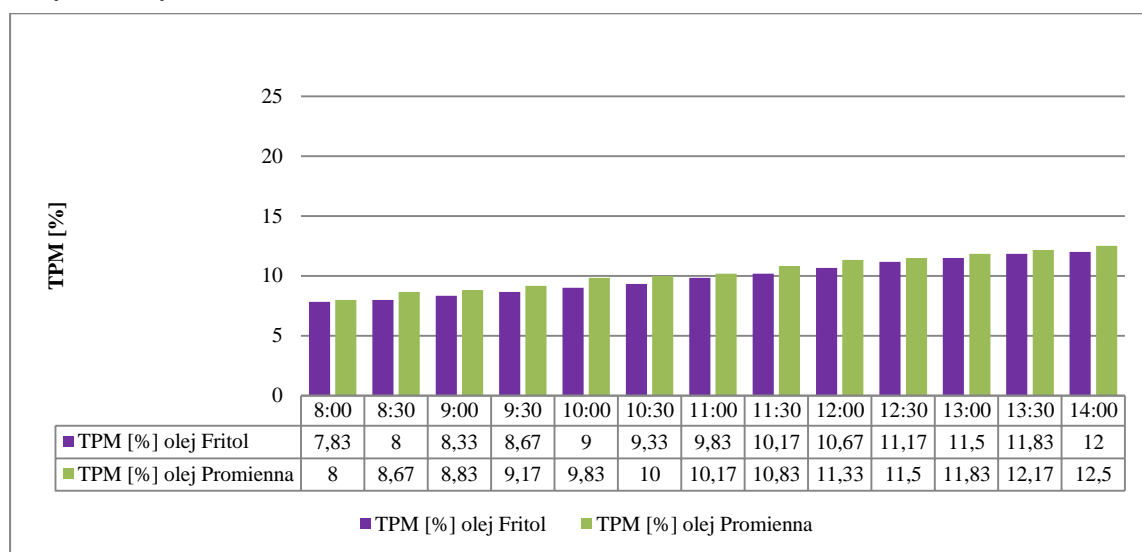
m – hmotnosť navážky oleja [g]

Peroxidové číslo sme vyjadrili v jednotkách $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vyhodnotenie obsahu polárnych zložiek v olejoch

Pri analyzovaní vybraných druhov olejov z hľadiska obsahu polárnych zložiek boli vykonané merania v pravidelných časových intervaloch.



Graf 1 Porovnanie TPM v % oleja Promienna a oleja Fritol v prvý deň počas šiestich hodín vyprážania

Z grafu 1 vyplýva, že hodnoty TPM po prvom dni vyprážania zemiakových hranolčekov v oleji Promienna vystúpili z pôvodnej hodnoty 8,00 % na 12,50 % a v oleji Fritol zo 7,83 % na 12,00 %.

Po druhom dni vyprážania, kedy boli oleje počas noci uchovávané pri izbovej teplote, v oleji Promienna vystúpila hodnota TPM z 12,67 % na 18,00 % a v oleji Fritol z 12,17 % na 17,00 %.

V tretí deň vyprážania opäť obsah TPM stúpal, pričom v oleji Promienna dosiahol hodnotu 23,17 % a v oleji Fritol 21,50 %.

Štvrtý deň vyprážania priniesol výrazné zmeny v kvalite skúmaných olejov. Kým olej Promienna prekročil

prípustnú hranicu 24 % TPM po jednej hodine vyprážania (24,17 %), olej Fritol bol stabilnejší a uvedenú hodnotu dosiahol až po 4,5 hodinách kontinuálneho vyprážania (graf 2).

V olejoch, ktoré boli počas noci uchovávané v chladničke, boli výsledky nasledovné. Hodnoty TPM po prvom dni vyprážania zemiakových hranolčekov v oleji Promienna vystúpili z pôvodných 8,00 % na 12,00 % a v oleji Fritol zo 7,83 % na 11,67 %.

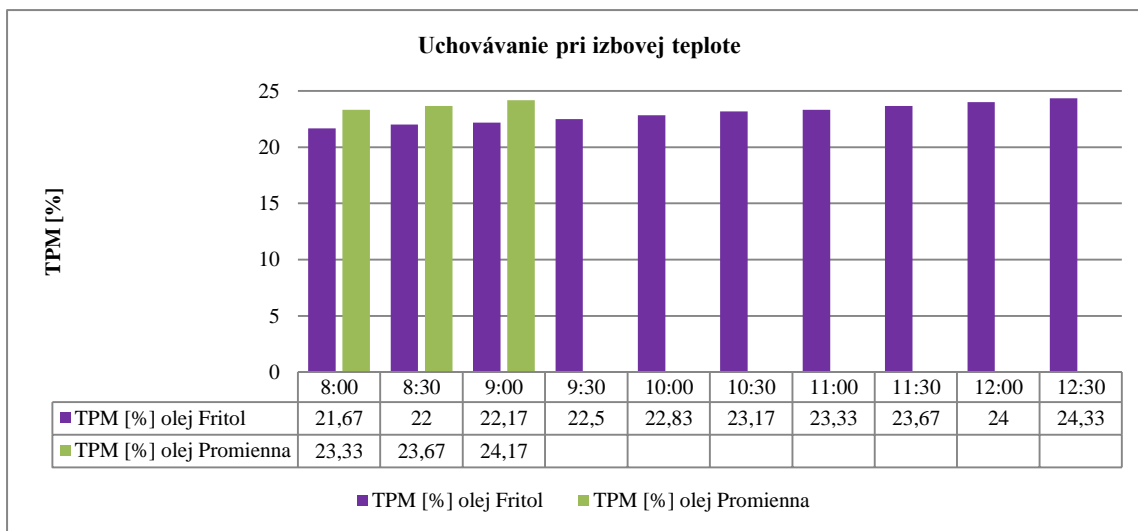
Po druhom dni kontinuálneho 6 hodinového vyprážania hodnota TPM stúpila a to na 16,33 % (olej Promienna) a 15,33 % (olej Fritol).

Aj tretí deň nepretržitého vyprážania zemiakových hranolčekov v sledovaných olejoch priniesol nárast obsahu

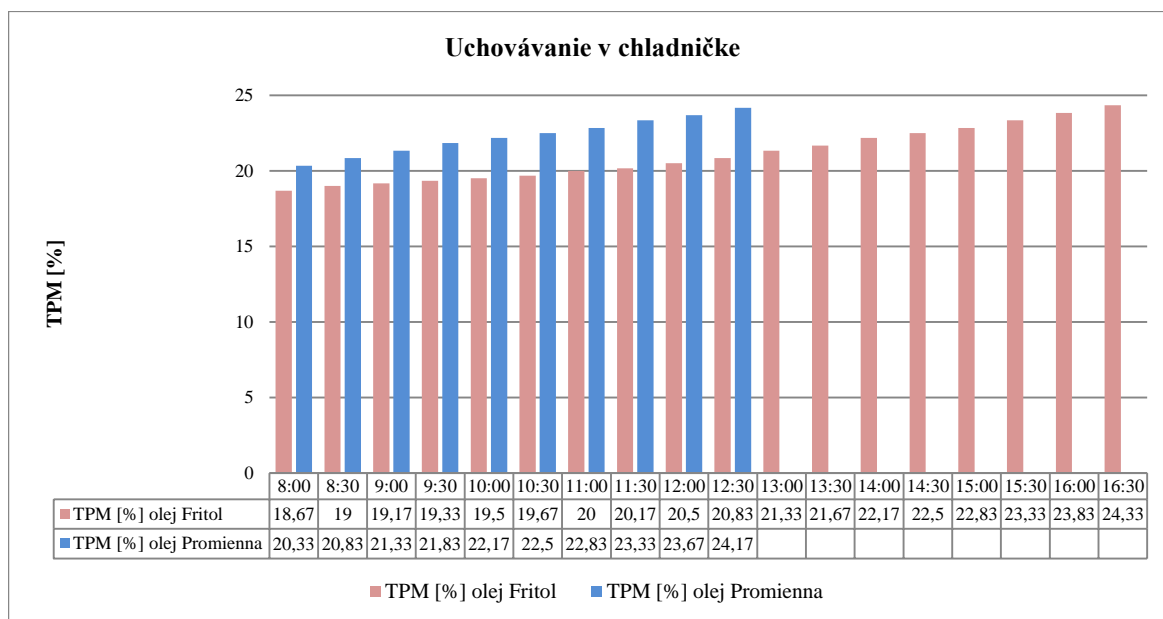
polárnych zložiek, pričom v oleji Promienna dosiahol hodnotu 20,83 % a v oleji Fritol 19,00 %.

Štvrtý deň kontinuálneho vyprážania zemiakových hranolčekov opäť priniesol rozdiely v stabilite skúmaných olejov (graf 3). Kým obsah TPM oleja Promienna vystúpil z hodnoty 20,33 % na kritickú hodnotu 24,17 % pri

desiatom meraní (po štyroch hodinách), hodnoty oleja Fritol vzrástli z 18,67 % na 24,33 % až po 18 meraniach (po 8,5 hodinách nepretržitého vyprážania).



Graf 1 Porovnanie TPM v % oleja Promienna a oleja Fritol štvrtý deň počas šiestich hodín vyprážania po uchovaní obidvoch olejov pri izbovej teplote



Graf 3 Porovnanie TPM v % oleja Promienna a oleja Fritol štvrtý deň počas šiestich hodín vyprážania po uchovaní obidvoch olejov v chladničke

Z uvedených grafických znázornení vyplýva, že olej Fritol bol stabilnejší v porovnaní s olejom Promienna. K prepáleniu oleja Fritol došlo štvrtý deň po osemnástom vyprážaní zemiakových hranolčekov a k prepáleniu oleja Promienna už pri desiatom vyprážaní vo štvrtý deň.

Ako grafické, tak aj štatistické výsledky potvrdili, oleje sa majú uchovávať v chlade, pretože v studenom oleji prebieha omnoho menej reakcií, ktoré navyše pomalšie vedú k jeho znehodnoteniu. Olej počas skladovania má byť chránený pred kyslíkom, pretože ten ničí nenasýtené mastné kyseliny.

Dôležité je aj skladovanie oleja v tme, pretože svetlo urýchľuje reakciu mastných kyselín so vzdušným kyslíkom.

Dôvodom, prečo je olej Fritol stabilnejší, je vyšší obsah kyseliny olejovej. Je to mononenasytená mastná kyselina, ktorá je najstabilnejšou z nenasýtených mastných kyselín. Výrobca oleja uvádza obsah mononenasytených mastných kyselín v množstve 75,8 g v 100 ml výrobku.

Vyšší obsah kyseliny olejovej zaručuje olejom aj ich dlhšiu trvanlivosť, či typické chuťové vlastnosti, ktoré sú nevyhnutné pri príprave kvalitných pokrmov.

Tepelná stabilita repkových olejov je ovplyvnená aj tým, že počas rokov došlo k vyšľachteniu nových odrôd repky olejnej, ktoré okrem toho, že neobsahujú kyselinu erukovú, sú voči autooxidácii odolnejšie (Šimek, 2008).

Snečnicový olej s vysokým a stredne vysokým obsahom kyseliny olejovej (mononenasýtenej), saflorový a sójový olej s vysokým obsahom kyseliny olejovej majú vyššiu oxidačnú stabilitu a sú vhodnejšie na vyprážanie ako prírodné oleje s vysokým obsahom polynenasýtenej kyseliny linolovej (Hunter, 2002).

Nutričnými a zdravotnými benefítmi sa vyznačuje aj hnedý a žltý ľan, ktorý má zároveň výrazné potravinárske využitie. Identifikáciou FAD3 génu zodpovedného za kontrolu obsahu kyseliny linolénovej v ľane sa zaoberali Ražná a Žiarovská (2011).

Podľa Vyhlášky MZ SR č. 533/2007 sa na kontinuálne smaženie majú používať len tuky určené na tento účel a pri smažení pokrmov by prevádzková teplota tuku nemala presiahnuť 180 °C, ak nie je výrobcom určená inak.

Vyhodnotenie stanovenia peroxidového čísla v olejoch

Pri vyhodnocovaní kvality skúmaných druhov olejov z hľadiska peroxidového čísla boli počas štyroch dní vykonané merania po ukončení šesť hodinového kontinuálneho vyprážania zemiakových hranolčekov. Obidva druhy olejov boli počas noci uchovávané jednak pri izbovej teplote, ako aj v chladničke. Namerané hodnoty sú uvedené v tab. 1. Z tabuľky vyplýva, že hodnoty peroxidového čísla počas štyroch dní vyprážania

zemiakových hranolčekov v oleji Fritol a oleji Promienna kolísali bez ohľadu na stupeň tepelného ošetrovania, resp. opotrebenia olejov. Je to dané tým, že peroxidy sú veľmi nestále až prchavé.

Pri zahrievaní fritovacieho oleja (125 °C) dochádza k rýchlej oxidácii (hromadeniu hydroperoxidov), čím sa peroxidové číslo zvyšuje, ale pri ďalšom zahriatí pri vysokých teplotách fritovania peroxidové číslo opäť klesá, pretože nárast hydroperoxidov sa kompenzuje ich rýchlejšim rozkladom za vzniku sekundárnych degradačných produktov. K vzostupu peroxidového čísla preto skôr dochádza v dobe, keď olej chladne a nepoužíva sa. Možno teda konštatovať, že meranie peroxidového čísla je vhodné skôr pre meranie kvality čerstvého oleja, než pre meranie kvality oleja v priebehu fritovania (Alander et al., 2007).

Kvalitu rastlinných olejov bežne dostupných v obchodnej sieti z pohľadu základných chemických ukazovateľov: čísla kyslosti, peroxidového čísla a obsahu mastných kyselín hodnotili Mareček et al. (2010).

Podľa Výnosu MP a MZ SR č. 1207/2007–100 je peroxidové číslo množstvo peroxidovo viazaného kyslíka (látkový obsah aktívneho kyslíka (1/2 O₂) vyjadrené v milimoloch kyslíka v 1 kg tuku alebo 1 kg oleja [mmol O₂.kg⁻¹ tuku].

Uvedený výnos definuje nasledujúce požiadavky na peroxidové číslo:

- rafinované tuky a oleje – najviac 10,0 mmol O₂.kg⁻¹
- panenské tuky a oleje – najviac 15,0 mmol O₂.kg⁻¹
- panenský palmový tuk – najviac 15,0 mmol O₂.kg⁻¹

Tabuľka 1 Výsledky stanovenia peroxidového čísla [mmol O₂.kg⁻¹ tuku]

Čerstvý olej a olej používaný 6 hodín denne pri kontinuálnom vyprážaní hranolčekov				
	Olej Fritol		Olej Promienna	
	olej uchovávaný pri izbovej teplote	olej uchovávaný v chladničke	olej uchovávaný pri izbovej teplote	olej uchovávaný v chladničke
1. deň	5,8	4,5	4,35	4,5
2. deň	2,6	1,8	5,8	4,0
3. deň	2,5	1,6	3,8	3,2
4. deň	2,3	2,0	3,6	3,8

Vyhodnotenie merania textúry olejov

Zmeny v textúre olejov Fritol a Promienna sme sledovali počas štyroch dní po 6 hodinovom nepretržitom vyprážaní zemiakových hranolčekov. Oleje boli zároveň počas noci uchovávané v chladničke a pri izbovej teplote. Namerané hodnoty sú uvedené v tabuľkách 2 a 3. Z výsledkov vyplýva, že počas štyroch dní vyprážania v oleji Fritol hodnoty sily ponorenia a tiež spätnej sily od druhého dňa klesali bez ohľadu na dĺžku vyprážania a spôsob uchovávaní oleja počas noci.

Z tab. 3 vyplýva, že počas štyroch dní vyprážania v oleji Promienna uchovávanom v noci pri izbovej teplote, hodnoty sily ponorenia počas prvých troch dní stúpali, ale štvrtý deň prudko klesli, pričom hodnoty spätnej sily počas štyroch dní kolísali. U oleja, ktorý bol počas noci uchovávaný v chladničke, mali hodnoty sily ponorenia a spätnej sily kolísavý charakter.

Na základe uvedených výsledkov merania textúry oleja nemožno jednoznačne určiť nárast, resp. pokles sily potrebnej na ponorenie sondy texturometra do oleja a naopak spätnej sily na jej vytlačenie. Z uvedeného vyplýva, že zmeny v textúre olejov nie sú ovplyvnené ich tepelno-oxidačnými vlastnosťami.

Ako uvádza výrobca TA.XT Plus, analyzátor textúry je určený na analýzu potravín ako sú obilniny, cestoviny, ryža, ovocie a zelenina, mäso, ryby, hydina a mliečne výrobky (syry), teda potraviny tuhšej konzistencie.

Pri vzájomnom senzoričkom posúdení oleja Fritol a Promienna počas celej doby vyprážania zemiakových hranolčekov bolo možné sledovať výraznejšie zmeny vo farbe a voni v oleji Promienna.



Obrázok 3 Meranie textúry oleja na Texturometri TA.XT

Tabuľka 2 Výsledky merania textúry oleja Fritol uchovávaného počas noci pri izbovej teplote a v chladničke

Olej Fritol				
Čerstvý olej a olej používaný 6 hodín denne pri kontinuálnom vyprážíaní zemiakových hranolčekov				
	olej uchovávaný pri izbovej teplote		olej uchovávaný v chladničke	
	Priemerná sila ponorenia [N . s ⁻¹]	Priemerná sila spätná [N . s ⁻¹]	Priemerná sila ponorenia [N . s ⁻¹]	Priemerná sila ponorenia [N . s ⁻¹]
1. deň	0,027	-0,026	0,027	-0,026
2. deň	0,046	-0,025	0,043	-0,024
3. deň	0,022	-0,027	0,013	-0,037
4. deň	0,012	-0,031	-0,014	-0,04

Tabuľka 3 Výsledky merania textúry oleja Promienna uchovávaného počas noci pri izbovej teplote a v chladničke

Olej Promienna				
Čerstvý olej a olej používaný 6 hodín denne pri kontinuálnom vyprážíaní hranolčekov				
	olej uchovávaný pri izbovej teplote		olej uchovávaný v chladničke	
	Priemerná sila ponorenia [N . sek ⁻¹]	Priemerná sila spätná [N . sek ⁻¹]	Priemerná sila ponorenia [N . sek ⁻¹]	Priemerná sila ponorenia [N . sek ⁻¹]
1. deň	0,049	-0,027	0,049	-0,027
2. deň	0,054	-0,025	0,021	-0,031
3. deň	0,056	-0,022	0,037	-0,027
4. deň	0,03	-0,034	-0,006	-0,031

ZÁVER

V práci sme sledovali tepelno-oxidačné zmeny olejov, ako aj zmeny ich textúry počas prípravy pokrmov. Indikátorom zmien oleja je prítomnosť polárnych zložiek (TPM), k hromadeniu ktorých dochádza pri hydrolyze a oxidačných reakciách. Obsah polárnych zložiek má vplyv ako na kvalitu oleja, tak aj na zdravotnú bezpečnosť hotového pokrmu.

Pri porovnaní obsahu polárnych zložiek v oleji Fritol uchovávanom počas noci pri izbovej teplote a v chladničke sme zistili, že olej uchovávaný v chladničke vykazuje väčšiu stabilitu. K prepáleniu oleja uchovávaného pri izbovej teplote došlo na štvrtý deň, teda po 22,5 hodinách vyprážania, počas ktorých bolo vyprážaných 49 dávok zemiakových hranolčekov. Prepálenie oleja uchovávaného v chladničke nastalo na štvrtý deň (po 26,5 hodinách a 57 vyprážaných dávkach). Tak ako pri oleji Fritol, aj pri porovnávaní oleja Promienna uchovávaného počas noci pri izbovej teplote

a v chladničke, bol olej uchovávaný v chladničke stabilnejší. Olej Promienna skladovaný pri izbovej teplote sa prepálil na štvrtý deň po 19-tich hodinách a 42 dávkach vypražených zemiakových hranolčekov, pričom olej uchovávaný v chladničke po 22,5 hodinách a 49-tich dávkach.

Porovnaním oleja Fritol a oleja Promienna uchovávaných pri izbovej teplote sme zistili, že stabilnejší je olej Fritol, ktorý sa prepálil po 22,5 hodinách a 49 -tich dávkach.

Možno teda konštatovať, že oleje uchovávané v chladničke boli stabilnejšie oproti olejom uchovávaným pri izbovej teplote.

Pri analyzovaní textúry olejov sa nedal jednoznačne určiť nárast, respektíve pokles sily vynaloženej na ponorenie sondy do vzorky oleja a sily spätnej v závislosti od stupňa opotrebenia oleja.

Rovnaké výsledky sme dosiahli aj pri skúmaní zmien v peroxidovom čísle, kde hodnoty peroxidového čísla kolísali bez ohľadu na dobu vyprážania v obidvoch testovaných olejoch.

Na základe zistených výsledkov navrhujeme: dodržiavať pri vyprážaní a fritovaní len oleje na to určené dodržiavať stanovené teploty a čas vzhľadom na druh pokrmu dodržiavať stanovený pomer medzi potravínou a olejom použitý olej na konci dňa prefiltrovať, čím sa odstráni zvyšky jedla olej uchovávať na tmavom a chladnom mieste pravidelne kontrolovať kvalitu oleja olej vykazujúci známky prepálenia ihneď vymeniť

LITERATÚRA

ALANDER, J. et al. 2007. *Vegetable oils and fats*. 2nd edition. Sweden : Jan – Olof Lidfeldt, 2007. 252 p. ISBN 978–91–633–1420–9.

DOBARGANES, C. MÁRQUEZ–RUIZ, G. VELASCO, J. 2000. Interactions between fat and food during deep–frying. In *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 102, 2000, no. 8, p. 521–528.

GINTER, E. 2001. Štruktúra tukov, cholesterolemia a prevencia kardiovaskulárnych ochorení. In *Cardiology*, vol. 9, 2001, no. 5, p. 24–245.

HAIŠLOVÁ, J., OSTRÝ, V., RUPRICH, J. 2003. *Použití odpadních rostlinných tuků po fritování bramborových lupínků (chipsů) do krmných směsí* : stanovisko vědeckého výboru pro potraviny. Brno : VVP, 2003. 10 p.

HIRONORI, N., NISHIDA, M., ENDO, Y., FUJIMOTO, K. 2003. Effect of a modified deep – fat fryer on chemical and physical characteristics of frying oil. In *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 80, 2003, no. 2, p. 163–166.

HUNTER, J. E. 2002. Trans fatty acids: effects and alternatives. In *Journal of Food and Nutrition Research*, vol.12, 2002, p. 140.

CHOE, E., MIN, D. B. 2007. Chemistry of Deep – Fat Frying Oils. In *Journal of Food Science*, vol. 72, 2007, no. 5, p. 77–86.

KOVÁČ, J. 2007. Fritovanie. In *Svět Obchodu*, 2007, no. 3, p. 36–39.

MAREČEK, J., MAUEROVÁ, J., MENDELOVÁ, A., FRANČÁKOVÁ, H., LÍŠKOVÁ, M., POBEREŽNY, J. 2010. Hodnotenie kvalitatívnych parametrov vybraných druhov rastlinných olejov In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, mimoriadne číslo, p. 57–64.

POKORNÝ, J., PARKÁNYIOVÁ, L. 2001. Smažení potravín z pohľadu chemika. In *Chemické listy*, 2001, no. 95, p. 616–620.

RAŽNÁ, K., ŽIAROVSKÁ, J. 2011. Aplikácia DNA markérov pre identifikáciu nutrične významných genotypov ľanu siateho. In *Výživa a zdravie 2011*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2011. p. 345–350.

SEDLÁČKOVÁ, H. 2000. *Technologie přípravy pokrmů 3*. 1. vyd. Praha : Nakladatelství Fortuna, 2000. 96 p. ISBN 80–7168–737–5.

SEDLÁČKOVÁ, H., OTOUPAL, P. 2007. *Technologie přípravy pokrmů 1*. Praha : Nakladatelství Fortuna, 2007. 88 p. ISBN 80–7168912–2.

ŠIMEK, J. 2008. Přístup k výběru a konzumaci rostlinných olejů. In *Výživa a potraviny* [online]. 2008, no. 6 [cit. 2012–13–03]. Retrieved from the web: <<http://www.vyzivaspol.cz/clanky-casopis/pristup-k-vyberu-a-konzumaci-rostlinnych-oleju.html>>.

Vyhľadška č. 533/2007 Z. z. Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 16. augusta 2007 o podrobnostiach o požiadavkách na zariadenia spoločného stravovania.

VÝNOS Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 28. februára 2007 č. 1207/2007–100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej Republiky upravujúca jedlé rastlinné tuky a jedlé rastlinné oleje a výrobky z nich.

Contact address:

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

Ing. Silvia Pastyriková, Slovak University of Agricultural in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. Slovak Republic, E-mail: kissha8@gmail.com

Ing. Radoslav Židek, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: Radoslav.Zidek@uniag.sk

Ing. Ladislav Mura, PhD. University of J. Selye in Komárno, Faculty of Economics, Department of Economics, Bratislavská 3322, 945 01 Komárno. Slovak Republic, E-mail: ladislav.mura@gmail.com

EFFECT OF SELECTED FEED ADDITIVES ON INTERNAL QUALITY PARAMETERS OF TABLE EGGS

Henrieta Arpášová, Miroslava Kačániová, Peter Haščík, Veronika Šidlová

ABSTRACT

The aim of our experiment was to evaluate under experimental conditions the influence of probiotic preparation based on lactobacillus, oregano essential oil, sumac (*Rhus coriaria*), propolis and pollen on egg quality parameters of laying hens hybrid Lohman Brown. For housing hens (n = 60) three storey enriched battery cage was used in which hens were divided in groups (n = 10). Total floor space given to one animal was 943,2 cm². In the control group of hens complete feed mixtures without any additions were fed. In the first experimental group complete feed mixture was enriched with probiotic lactobacilli based preparation in a dose of 0,5 g.kg⁻¹. In the second experimental group oregano essential oil was added to the feed mixture at a dose of 0,5 ml.kg⁻¹. The third experimental group was enriched with 1 % concentration of sumac (*Rhus coriaria*). The fourth experimental group was enriched with 0,2 g of propolis extract per 1 kg of feed mixture and the fifth experimental group was supplemented by pollen extract of the same dose. All groups were fed *ad libitum*. Complete analysis of the table egg quality was used to evaluate quality parameters: egg weight (g), yolk percentage (%), yolk index, white percentage (%), whites index and Haugh units of whites (HJ). The results show that addition of probiotics positively, although not significantly, influenced the average egg weight. The addition of oregano oil and sumac insignificantly decreased egg weight (P>0,05), the values of the other eggs quality indicators were comparable with the control group. Supplementation of feed mixture with propolis as well as phytobiotics insignificantly decreased egg weight, but its addition improved the internal quality parameters as the yolks and whites index, whose average values were in this group, although not statistically significantly higher (P>0,05). Doses of supplements used in this study did not significant negatively influenced monitored egg quality parameters. Some supplements showed tendency of improving internal quality of the eggs. Based on these findings and the beneficial effects of substances on the poultry health confirmed by other authors we recommend use of these substances as supplements to the feed mixtures for laying hens.

Keywords: probiotics, phytobiotics, propolis, pollen, egg

ÚVOD

Následkom odstránenia kŕmnych antibiotík z kŕmnych zmesí pre hydinu sa zvýšil záujem o zlepšovanie gastrointestinálneho zdravia zvierat a využitia živín iným spôsobom (Applegate et al. 2010). Do popredia záujmu kŕmvinárskeho priemyslu sa dostávajú alternatívy, ktoré by podobne ako antibiotiká stimulovali rast, ale nespôsobovali bakteriálnu rezistenciu a mohli byť teda pozitívne prijaté aj spotrebiteľmi. Pre hydinu sú všeobecne používané doplnky s antimikrobiálnymi účinkami, antioxidantnými účinkami, látky kontrolujúce pH, enzýmy, kŕmne okysľovadlá, probiotiká, prebiotiká, fytobiotiká, synbiotiká a iné špecificky účinné látky (Arpášová, 2011). Kŕmne doplnky svojím mechanizmom účinku môžu upravovať nežiaduce vlastnosti kŕmív a zlepšovať tak rastové a produkčné ukazovatele, podporovať metabolizmus, zdravie a pohodu zvierat. Nemôžu nahradiť nepriaznivý vplyv výživy, režimu kŕmenia alebo nevybilancovaného obsahu živín v kŕmnej dávke. Nie sú v úlohe zdroja živín pre hydinu, pri ich absencii v kŕmnej dávke zvieratá nevykazujú príznaky nutričného deficitu (Hashemi et al., 2010). Môžu mať priaznivý vplyv na mikroflóru gastrointestinálneho traktu hydiny (Kačániová et al., 2011), produkčné ukazovatele, kvalitu mäsa (Haščík et al., 2009; Angelovičová, et al., 2010) i vajec

hydiny (Gálik, Horniaková, 2010; Arpášová, 2011; Halaj, Golian, 2011).

Mechanizmus účinku probiotík spočíva v produkcii antibakteriálnych látok, čím inhibujú rast patogénov, v kompetícii o adhezívne receptory na črevnom epiteli a v stimulácii imunity (Kačániová et al., 2005). Priaznivo ovplyvňujú hladinu cholesterolu v krvnom sére a tiež celkové lipidy počas znáškového cyklu sliepok (Capcarová et al., 2010). Pozornosť sa venuje najmä baktériám mliečneho kvasenia, bifidobaktériám a bacilom. Laktacidoprodukčné baktérie majú špecifickú schopnosť prednostne kolonizovať určité oblasti gastrointestinálneho traktu hydiny. Bola preukázaná výrazná adhérenca týchto baktérií na výstelke hrvoľa, distálnej časti tenkého čreva a na cekálnej mukóze. Rod *Lactobacillus* sú tyčinky rôznej veľkosti od dlhých až po koky. Zvyčajne sú nepohyblivé, grampozitívne, s rastúcim vekom a kyslosťou prostredia prechádzajú na gramnegatívne (Kačániová et al., 2011).

Rastlinné silice, nazývané tiež éterické alebo esenciálne oleje sú aromatické, mastné kvapaliny, získané z rastlinného materiálu (kvety, púčiky, semená, listy, vetvičky, kôra, bylinky, drevo, plody a korene). Jedná sa o zložitú zmes rôznych organických molekúl - terpenov, alkoholov, esterov, aldehydov, ketónov a fenolov.

U zvierat podporujú najmä sekréciu žalúdočných štiav, zároveň pôsobia na motilitu čriev a zlepšujú integritu črevnej výstelky. Niektoré fyto génné extrakty stimulujú čuchové receptory a chuťové poháriky, čo má za následok zvýšenie príjmu krmiva, zvýšenú produkciu endogénnych enzýmov a tráviacich štiav, čím sa zlepšuje stráviteľnosť živín krmiva (Panda et al., 2009). Podľa Mangiagalli et al. (2010) môžu ovplyvňovať reprodukčné parametre. Okrem antibakteriálnych vlastností silíc (Kačániová et al., 2005) boli preukázané ich antivírusové účinky, antimykotické účinky, účinky proti produkcii jedov, antiparazitárne a insekticídne vlastnosti. Rastlinné silice môžu podobne ako antibiotiká pozitívne ovplyvňovať prírastky hmotnosti, utilizáciu živín, produkciu vajec, živú hmotnosť, či príjem krmiva. Na senzorickú kvalitu vajec v optimálnej dávke neovplyvňujú (Garcia-Rebollar et al., 2008). Silica z pamajoránu (*Origanum vulgare*) obsahuje hlavne carvacrol (86,9 %), v menšej miere γ -terpinen, p-Cymen a myrcen. Možný transfér zložiek antioxidantov silice z pamajoránu do organizmu sliepok prostredníctvom kŕmenia by mohol inhibovať reťazovú reakciu spojenú s oxidáciou skonsumovaných lipidov a takto znížiť prenos produktov oxidácie do žltka (Florou-Paneri et al., 2005). Účinné látky v pamajoráne je možné v širšom meradle využiť v protizápalových procesoch (Gutierrez et al., 2009).

Propolis je včelí produkt s charakteristickou vôňou a dezinfekčnými účinkami, zozbieraný včelami z pukov kvetov, častí stromov, výlučkov rastlín. Základom propolisu je lepkavá živica, ktorú včely zberajú a metabolicky pomocou včelích enzýmov spracovávajú a miešajú s voskom na propolis (Valle, 2000). Je to prírodná a harmonicky vyvážená látka s výraznými antibiotickými, imunostimulačnými a antioxidačnými účinkami (Sun et al., 2000). Zloženie propolisu závisí od druhu dreviny, z ktorej je silica zberaná. Dias et al. (2012) zistili antimikrobiálnu aktivitu propolisu v súvislosti s infekciami vyvolanými *Staphylococcus aureus* rezistentnými na meticilín (MRSA). Antimikrobiálna aktivita propolisu však striktné súvisí s jeho fyzikálnym zložením. Podávaním propolisu narastá produkcia Imunoglobulínu G špecifického pre prirodzené protilátky a môže byť použitý aj k zvýšeniu špecifickej imunitnej odpovede po vakcinácii (Freitas et al., 2011). Priaznivý vplyv na zdravotný stav hydiny v súvislosti s infekciou *Salmonella enteritidis*, zistili Babinska et al. (2012).

Propolis aplikovaný do kŕmnej zmesi kurčiat počas celej doby výkrmu významne zvýšil porážkovú hmotnosť kurčiat na konci výkrmu ako aj hmotnosť jatočne opracovaného tela, ale mierne znížil hmotnosť drobov a jatočnú výťažnosť v pokuse Haščík et al. (2008).

Peľ je samčia pohlavná bunka rastlín vytvárajúca sa v peľnici kvetov. Včely peľ zberajú a spracovávajú sekretom čelustných žliaz. Včelí peľ je produkt včiel zložený z nutrične hodnotných zložiek, obsahujúci značné množstvo polyfenolových zložiek, ktoré pôsobia ako účinné antioxidanty (Aliyazicioglu et al., 2005). Fenolické zložky obsiahnuté v peľi majú schopnosť blokovať voľné radikály, ktoré sú zodpovedné okrem iného aj za karcinogénu (Tang et al., 2005). Kvalita nutričného zloženia včelieho peľu ako aj antioxidačná aktivita peľu vo veľkej miere závisí od druhového zloženia peľových zŕn (Modro et al., 2009). Percie du Sert (2006) uvádza, že

čerstvý peľ obsahuje laktobaktérie. Zistilo sa, že tieto baktérie sú schopné inhibovať rast určitých patogénnych mikroorganizmov. Čerstvý peľ sa javí ako ideálna regeneračná potravina pre intestinálnu mikroflóru. Extrakty peľu môžu byť používané ako funkčná potravina. V súvislosti s produkčnými parametrami brojlerových kurčiat sa zaoberali doplnkom peľu Haščík et al. (2012). Cieľom nášho experimentu bolo posúdiť účinok doplnku probiotického preparátu, pamajoránovej silice, sumachu, propolisového a peľového extraktu na kvalitatívne parametre žltka a bielka vajec sliepok znáškového typu.

MATERIÁL A METÓDY

MiniCyDo pokusu boli zaradené sliepky hnedovaječného znáškového hybridu Lohman Brown (n=60) vo veku 20 týždňov. V priebehu znáškového obdobia boli nosnice ustajnené v obohatenej trojetážovej kliečkovej technológii, model AGK 200/616. Technológia spĺňala požiadavky na obohatené kliečky stanovené Smernicou 1999/74 ES. Plocha poskytnutá jednej nosnici predstavovala 943,2 cm². Sliepky boli počas znáškového obdobia chované za štandardných mikroklimatických podmienok.

Zvieratá boli rozdelené do 6 skupín po 10 sliepok. Sliepky vo všetkých skupinách prijímali kompletnú kŕmnu zmes pre vysokoúžitkové nosnice HYD – 10 *ad libitum*. Zloženie a obsah živín v použitej kŕmnej zmesi sú uvedené v tabuľkách 1 a 2. Rozbor kŕmnej zmesi bol uskutočnený na Katedre výživy zvierat, SPU v Nitre.

V kontrolnej skupine prijímali sliepky kŕmnu zmes bez akýchkoľvek prídavkov. V jednotlivých pokusných skupinách bol sliepkam do štandardnej kŕmnej zmesi aplikovaný probiotický prípravok na báze laktobacilov, vybraný druh rastlinnej silice alebo včelie produkty.

Do prvej pokusnej skupiny bol aplikovaný probiotický prípravok v dávke 0,5 g.kg⁻¹, obsahujúci lyofilizované druhy baktérií, *Lactis* LAT 182, *Lactobacillus acidophilus* LAT 180, *Lactobacillus bulgaricus* LAT 187, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactobacillus helveticus* LAT 179, *Enterococcus faecium* E-253; *Streptococcus thermophilus* LAT 205, CFU LAB: min. 5x10⁹.g⁻¹ (výrobca Prochema, Wien, Austria). Do druhej pokusnej skupiny bol zapracovaný doplnok pamajoránovej silice (*Origanum vulgare*), v dávke 0,5 ml.kg⁻¹. V tretej pokusnej skupine bola kŕmna zmes doplnená o mletý sumach (*Rhus coriaria*) v 1 % koncentrácii.

Vo štvrtej pokusnej skupine bola kŕmna zmes suplementovaná propolisovým extraktom v dávke 0,2 g.kg⁻¹ a v piatej pokusnej skupine bola kŕmna zmes nosnic obohatená o peľový extrakt v rovnakom množstve.

Vzorky propolisu použité v pokuse boli odobraté na Slovensku, ručne zbierané a uchovávané v suchu a tme až do spracovania. S cieľom získať extrakt boli vzorky propolisu pri izbovej teplote extrahované po dobu jedného týždňa so 100 ml 70 % etanolu (Blonska et al., 2004).

Včelí peľ použitý v pokuse bol podobne ako propolis zbieraný na Slovensku, v Nitrianskom regióne. Čerstvo odobratý peľ bol sušený pri 40 ° C s ochranou pred svetlom a rozomletý na prášok. Materiál (1 kg) bol trikrát extrahovaný 70 % etanolom pod spätným chladičom počas 2 hodín. Po filtrácii a odstredení (1700 x g, 30 min), bol trikrát extrahovaný roztok zhustený za zníženého tlaku v

Tabuľka 1 Zloženie kŕmnej zmesi HYD 10

Komponent	Podiel v kŕmnej zmesi (%)
Pšenica	26,30
Raž	15,00
Jačmeň	20,00
Sójová múčka (47 % hrubý proteín)	22,00
Sójový olej	2,50
Tuk	2,00
Dihydrogenfosforečnan vápenatý	1,70
Uhličitan vápenatý	9,14
Chlorid sodnatý (38 % Na)	0,30
Hydrogénuhličitan sodný (28 % Na)	0,10
Metionín (99 % metionín)	0,16
Vitamínový premix	0,40
Minerálny premix	0,10
Chlorid cholínu	0,20
Karoténový premix	0,10

Tabuľka 2 Obsah živín v použitej kŕmnej zmesi HYD 10

Živina	Obsah v kŕmnej zmesi
ME _N (MJ.kg ⁻¹ sušiny)	11,5
hrubý proteín (g.kg ⁻¹ sušiny)	177
lyzín (g.kg ⁻¹ sušiny)	8,81
metionín (g.kg ⁻¹ sušiny)	4,17
metionín + cystín (g.kg ⁻¹ sušiny)	7,41
treonín (g.kg ⁻¹ sušiny)	6,27
kyselina linolová (g.kg ⁻¹ sušiny)	19,0
Ca (g.kg ⁻¹ sušiny)	39,1
dostupný P (g.kg ⁻¹ sušiny)	3,8
Na (g.kg ⁻¹ sušiny)	1,5

rotavátore pri teplote 45 °C odparením rozpúšťadla a finálnym vysušením vo vysokom vákuu.

Všetky druhy doplnkov použitých v pokuse boli do kŕmnej zmesi zapracované vo výrobní kŕmnych zmesí.

Počas znáškového obdobia boli sledované fyzikálne parametre kvality konzumných vajec: hmotnosť vajec (g), percentuálny podiel žltka (%), index žltka, percentuálny podiel bielka (%), index bielka, Haughove jednotky bielka (HJ). Ručný zber vajec bol vykonávaný denne. Každé vajce sa hneď pri zbere označilo dátumom, číslom skupiny a bolo odvážené. Kvalita vajec sa hodnotila štandardnou metódou využívanou pre kompletne analýzy konzumných vajec. Analýzy boli uskutočňované jedenkrát mesačne, analyzovaných bolo vždy po 30 ks vajec z každej skupiny. Pokus trval 23 týždňov. Základné údaje boli spracované do štatistických charakteristík. Rozdiely medzi jednotlivými ukazovateľmi v rámci pozorovaných skupín boli testované pomocou Jednofaktorovej analýzy rozptylu doplnenej Duncanovým testom v programe SAS.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

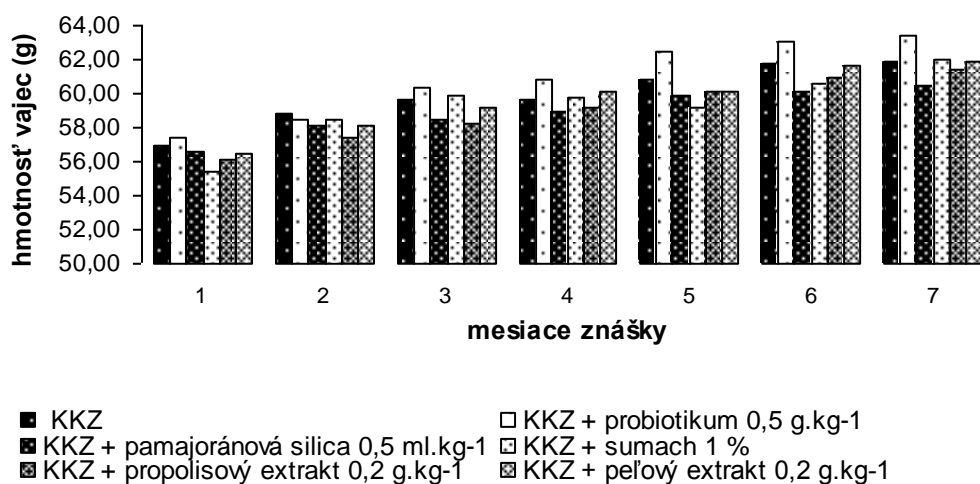
Porovnanie dynamiky zmien hmotností a ukazovateľov kvality vajec znáškových sliepok v kontrolnej skupine a v pokusných skupinách s jednotlivými druhmi doplnkov v priebehu sledovaného obdobia uvádzajú obrázky 1 - 6. Údaje za celé obdobie sledovania v priemere poskytuje tab. 3.

Priemerná hmotnosť analyzovaných vajec v jednotlivých skupinách za celé sledované obdobie bola v poradí skupín

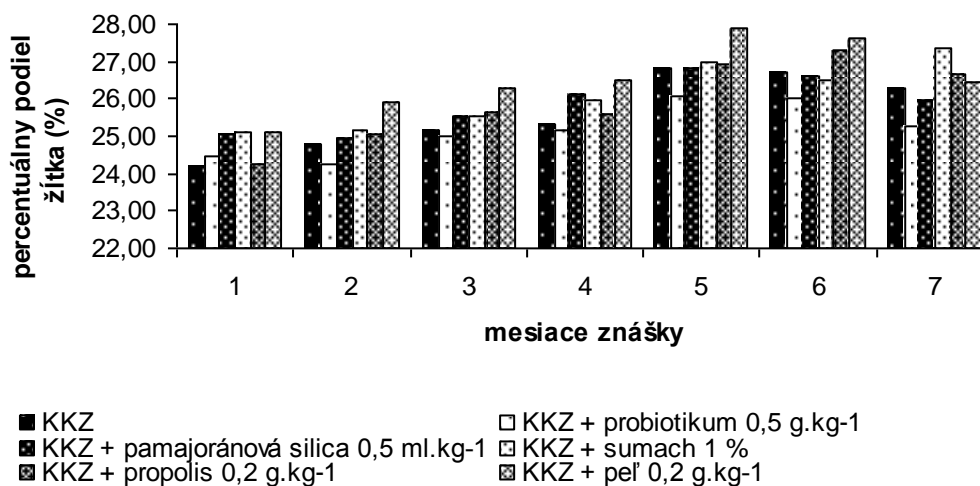
59,93±4,94; 61,00±2,85.; 58,95±5,14; 59,01±4,84; 58,91±3,21 a 59,64±3,88 g ($\bar{x} \pm S. D.$) (tab. 3).

Ako vplyva z obrázku 1, v jednotlivých mesiacoch sledovaného obdobia bola najvyššia hmotnosť vajec v pokusnej skupine s doplnkom probiotika, čo sa prejavilo aj vo vyššej priemernej hodnote za celé obdobie pokusu, avšak so štatisticky nevýznamným rozdielom v porovnaní ku kontrolnej skupine ($P>0,05$). Hmotnosť analyzovaných vajec bola vyššia najmä v druhej a tretej tretine sledovaného znáškového obdobia. Zvýšenie hmotnosti vajec vplyvom prídavku probiotík zistili vo svojich experimentoch v súlade s našimi zisteniami tiež **Davis, Anderson (2002)**, podobne v pokuse **Siam et al. (2004)** bol zrejmy pozitívny vplyv laktobacilov, bifidobaktérií a aj ich zmesi na hmotnosť vajec nosníc. Naše výsledky sa tiež zhodujú s výsledkami **Galazzi et al. (2008)**, ktorí zistili zlepšenie hmotnosti vajec avšak nie so štatisticky významným rozdielom. Autorský kolektív **Ramasamy et al. (2009)** zaznamenali štatisticky významné zvýšenie hmotnosti vajec u sliepok v priemere za celé znáškové obdobie v skupine s prídavkom kultúry laktobacilov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Naše zistenia sa nezhodujú s výsledkami pokusu **Dizaji, Pirmohamadi (2009)**, ktorí zistili významne nižšiu hmotnosť vajec v skupine s doplnkom probiotík.

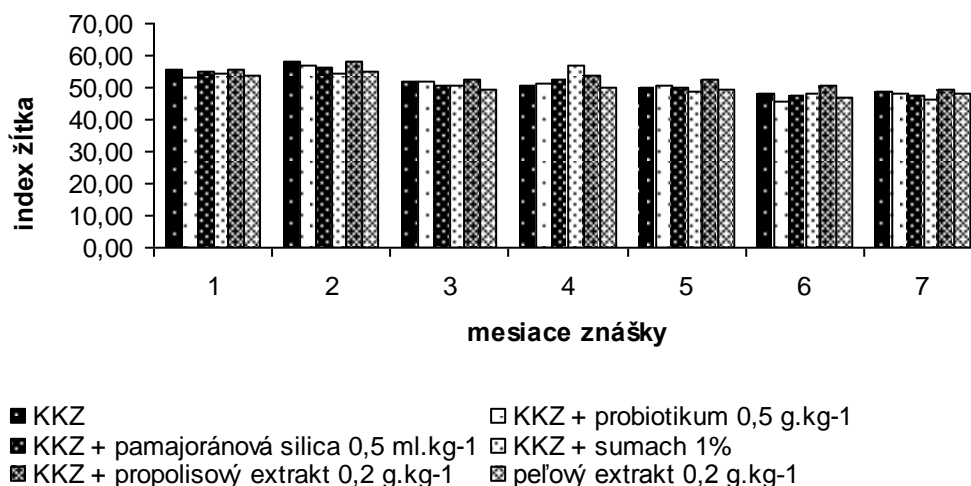
V skupine s doplnkom 0,5 ml.kg⁻¹ pamajoránovej silice bola v našom pokuse zistená mierne nižšia hodnota ako v kontrolnej skupine, avšak so štatisticky nevýznamným rozdielom v porovnaní ku kontrolnej skupine ($P>0,05$).



Obrázok 1 Dynamika zmien hmotnosti vajec (g) po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok



Obrázok 2 Dynamika zmien percentuálneho podielu žltka (%) po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok



Obrázok 3 Dynamika zmien indexu žltka po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok

Podobne doplnok sumachu mierne znížil hmotnosť vajec. **Senköylü et al. (2004)** podobne uvádzajú mierne zníženie hmotnosti vajec použitím fytobiotík, so štatisticky nevýznamným rozdielom. **Florou-Paneri et al. (2005)** po prídavku pamajoránu v dávkach 50 mg.kg⁻¹ a 100 mg.kg⁻¹ nezaznamenali v súvislosti s hmotnosťou vajec významný vplyv. K podobným záverom prišli **Bolükbaşı et al. (2009)**, resp. **Suchý et al. (2010)**. V našom pokuse sme zaznamenali pri porovnaní pokusných skupín s doplnkom včelích produktov ku kontrolnej skupine štatisticky nevýznamné rozdiely ($P>0,05$). V skupine s doplnkom propolisu bola priemerná hmotnosť vajec nevýznamne nižšia ako v skupine kontrolnej. V piatej pokusnej skupine s doplnkom peľu bola hmotnosť vajec na úrovni kontrolnej skupiny. Autor **Seven (2008)** skúmal vplyv doplnku etanolového extraktu propolisu v dávke 2 a 5 g na kg kŕmnej zmesi na parametre úžitkovosti a kvality vajec nosníc vystavených teplotnému stresu. Pozoroval významne priaznivý vplyv propolisu na zníženie dopadu vysokých teplôt v súvislosti s hmotnosťou vyprodukovaných vajec.

V percentuálnom podiele žltka z hmotnosti vajca (obr. 2) nebol v našom experimente zaznamenaný štatisticky významný rozdiel ani v jednej kombinácii skupín. K podobným záverom dospeli v pokuse s probiotikami **Aslı et al. (2007)**. Naše zistenia sa zhodujú so závermi pokusov autorov **Yalcin et al. (2002)**, ktorí v tomto ukazovateli nezaznamenali medzi skupinami významné rozdiely.

Pri porovnaní pokusnej skupiny s prídavkom pamajoránovej silice v dávke 0,5 ml.kg⁻¹ a kontrolnej skupiny boli zistené v našom pokuse veľmi vyrovnané hodnoty medzi týmito skupinami. **Radwan et al. (2008)** uvádzajú po prídavku tymianu, pamajoránu a kurkumy síce zvýšenie percentuálneho podielu žltka, avšak nie štatisticky významne. **Bölükbaşı, Erhan (2007)** zaznamenali pri 1 % koncentrácii tymianu významne nižší

podiel žltka v porovnaní s vajcami sliepok z kontrolnej skupiny a pokusnej skupiny obsahujúcej doplnok 0,1 a 0,5 % tymianu. V skupine so sumachom bola v našom pokuse podobne ako pri doplnku pamajoránovej silice priemerná hodnota blížiacia sa priemernej hodnote v kontrolnej skupine. Počas znáškového obdobia bol pozorovaný najmä v prvej fáze znášky nevýznamne priaznivý vplyv doplnku oboch druhov fytobiotík.

Mierne vyššia hodnota v priemere v porovnaní s kontrolnou skupinou bola zaznamenaná v skupine s doplnkom peľu. Ako vyplýva z obrázku 2, tendencia priaznivého vplyvu doplnku peľu na tento ukazovateľ v porovnaní s kontrolnou skupinou alebo s inými pokusnými skupinami bola zrejماً od začiatku znášky až do konca sledovaného znáškového obdobia.

Index žltka postupne klesal vo všetkých skupinách, čo všeobecne súvisí s poklesom kvality jednotlivých častí vajca prebiehajúcou znáškou (obr. 3). Hodnoty indexu žltka v poradí skupín: 51,71±4,65; 51,10±6,47; 50,92±6,25; 50,83±6,30; 52,42±4,76 a 50,88±4,53 ($\bar{x} \pm S.D.$).

V pokusnej skupine s doplnkom probiotika bola priemerná hodnota indexu žltka približne na úrovni kontrolnej skupiny, štatisticky významný rozdiel v porovnaní s kontrolnou skupinou teda nebol zistený ($P>0,05$). **Hong et al. (2002)** uvádzajú zvyšovanie sa

indexu žltka so zvyšujúcim sa podielom probiotík v jednotlivých skupinách. Autori **Panda et al (2000)** vo svojom experimente zaznamenali zvýšenú dennú produkciu vajec, ale v kvalite žltka sa pozitívne účinky prídavku probiotika významne neprejavili. Naopak autori **Yalcin et al. (2002)** zaznamenali po prídavku probiotík štatisticky významné rozdiely nielen v živej hmotnosti sliepok a spotrebe krmiva, ale aj v indexe žltka.

Priemerné hodnoty indexu žltka v pokusných skupinách s prídavkom oboch druhov fytobiotík aj peľu boli v našom experimente v porovnaní s priemernou hodnotou kontrolnej skupiny nevýznamne nižšie ($P>0,05$). Nevýznamné rozdiely v indexe bielka a indexe žltka vajec od sliepok kŕmených zmesou obsahujúcou múčku zo zeleného čaju vo svojom pokuse zaznamenali

Uganbayar et al. (2006), podobne v pokuse **Canogullari et al. (2009)** s prídavkom cesnakovej múčky nebol index žltka významne ovplyvnený.

Mierne vyššia hodnota v porovnaní s kontrolnou skupinou bola zaznamenaná v našom pokuse v experimentálnej skupine s doplnkom propolisu ($P>0,05$). Aj keď doplnok propolisu mierne znižoval hmotnosť vajec v priemere, zvyšovala sa kvalita vnútorného obsahu, čo sa prejavilo vyššími hodnotami indexu žltka aj bielka aj keď nie so štatisticky významným rozdielom ku kontrolnej skupine. **Seven (2008)** podobne zaznamenal v súlade s našimi výsledkami nevýznamne priaznivý vplyv doplnku propolisu na tento ukazovateľ.

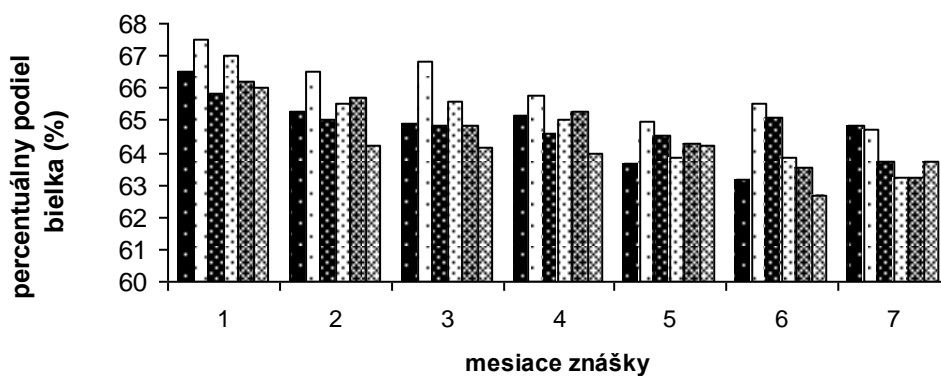
V súvislosti s percentuálnym podielom bielka bola nevýznamne najvyššia priemerná hodnota v našom experimente zistená v pokusnej skupine s doplnkom probiotického prípravku. Priaznivý vplyv aj keď nie so štatisticky významným rozdielom v porovnaní ku kontrolnej skupine bol zrejماً vo všetkých sledovaných mesiacoch znášky (obr. 4). K podobným záverom dospeli **Chumpawadee et al. (2009)**, v pokuse ktorých neboli kvalitatívne parametre bielka prídavkom probiotík významne ovplyvnené.

V súlade s výsledkami práce **Basmacioglu et al. (2003)**, v experimentálnych skupinách s doplnkom fytobiotík – pamajoránovej silice a sumachu boli priemerné hodnoty na úrovni kontrolnej skupiny.

Podobne v skupinách s prídavkom propolisového a peľového extraktu neboli v našom experimente zistené výraznejšie rozdiely v prospech prípadne v neprospech týchto skupín ($P>0,05$). Hodnoty v poradí skupín: 64,79±5,68; 65,97±3,57; 64,80±4,64; 64,87±5,27; 64,12±4,34; 64,00±4,24 ($\bar{x} \pm S. D.$).

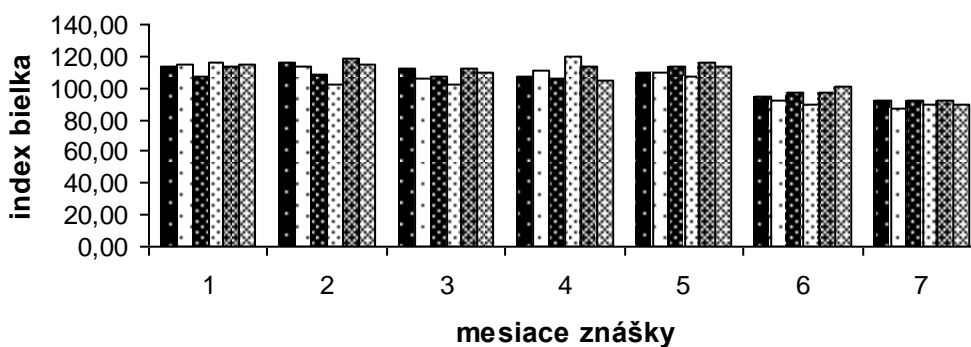
Naše zistenia súhlasia so **Seven et al. (2011)**, ktorí po aplikácii propolisu tak isto nezistili výraznejšie rozdiely, čo sa týka kvality bielka.

Index bielka v našom pokuse sa vo všetkých skupinách postupne znižoval, čo súvisí so zhoršujúcou sa kvalitou bielka postupujúcou znáškou. V pokusných skupinách s doplnkom probiotika a rastlinnej silice bol index bielka mierne nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou, avšak štatisticky významný rozdiel ($P>0,05$) nebol zaznamenaný ani v jednej z kombinácií skupín. Podobne **Kalavathy et al. (2005)** nezistili výraznejší vplyv laktobacilov na kvalitu bielka, index ani Haughove jednotky. Naopak vyšší index bielka pri použití probiotík zaznamenali **Yalcin et al. (2002)**, resp. **Hayirli et al. (2005)**.



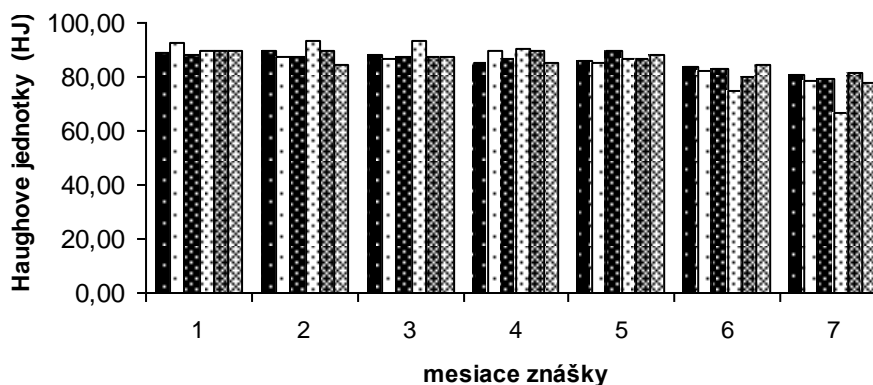
■ KKZ
 ■ KKZ + pamajoránová silica 0,5 ml.kg-1
 ■ KKZ + propolisový extrakt 0,2 g.kg-1
 □ KKZ + probiotikum 0,5 g.kg-1
 ▨ KKZ + sumach 1 %
 ▩ KKZ + peľový extrakt 0,2 g.kg-1

Obrázok 4 Dynamika zmien percentuálneho podielu bielka po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok



■ KKZ
 ■ KKZ + pamajoránová silica 0,5 ml.kg-1
 ■ KKZ + propolisový extrakt 0,2 g.kg-1
 □ KKZ + probiotikum 0,5 g.kg-1
 ▨ KKZ + sumach 1 %
 ▩ KKZ + peľový extrakt 0,2 g.kg-1

Obrázok 5 Dynamika zmien indexu bielka po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok



■ KKZ
 ■ KKZ + pamajoránová silica 0,5 ml.kg-1
 ■ KKZ + propolisový extrakt 0,2 g.kg-1
 □ KKZ + probiotikum 0,5 g.kg-1
 ▨ KKZ + sumach 1 %
 ▩ KKZ + peľový extrakt 0,2 g.kg-1

Obrázok 6 Dynamika zmien Haughových jednotiek bielka (HJ) po aplikácii probiotika, pamajoránovej silice, sumachu, extraktu propolisu a extraktu peľu do kŕmnej zmesi znáškových sliepok

Tabuľka 3 Vplyv prídavku probiotického preparátu, rastlinnej silice, sumachu, propolisového a peľového extraktu do krmiva sliepok znáskového hybridu na hmotnosť a vnútornú kvalitu vajec

Skupina	KKZ - kontrolná skupina	KKZ + probiotický preparát 0,5 g.kg ⁻¹	KKZ + pamajoránová silica 0,5 ml.kg ⁻¹	KKZ + sumach (<i>Rhus coriaria</i>) 1 %	KKZ + propolisový extrakt 0,2 g.kg ⁻¹	KKZ + peľový extrakt 0,2 g.kg ⁻¹
Hmotnosť vajca (g)						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	59,93	61,00	58,95	59,01	58,91	59,64
S.D.	4,94	2,85	5,14	4,84	3,21	3,88
P hodnota		0,8723	0,8854	0,8762	0,7419	0,1425
Percentuálny podiel žltka (%)						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	25,61	24,89	25,86	25,87	25,91	26,53
S.D.	1,90	1,92	1,66	2,35	1,99	2,22
P hodnota		0,8726	0,7021	0,4544	0,4529	0,7913
Index žltka						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	51,71	51,10	50,92	50,83	52,42	50,88
S.D.	4,65	6,47	6,25	6,30	4,76	4,53
P hodnota		0,1948	0,1165	0,0521	0,8594	0,0671
Percentuálny podiel bielka (%)						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	64,79	65,97	64,80	64,87	64,12	64,00
S.D.	5,61	3,57	4,54	5,27	4,34	4,24
P hodnota		0,0528	0,2125	0,3284	0,0777	0,2341
Index bielka						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	106,62	104,64	104,63	104,02	108,91	106,71
S.D.	22,25	20,08	16,7	17,20	18,53	17,66
P hodnota		0,6127	0,0691	0,0512	0,3326	0,07825
Haughove jednotky (HJ)						
n	210	210	210	210	210	210
\bar{x}	86,03	85,92	85,97	85,25	86,29	85,23
S.D.	8,74	8,06	7,50	7,67	6,84	6,66
P hodnota		0,7232	0,1691	0,0752	0,1375	0,5239

n – počet testovaných vajec, \bar{x} – aritmetický priemer, S.D. – smerodajná odchýlka, P hodnota – (P<0,05) štatisticky významný rozdiel

Podobne ako pri prídavku probiotika aj v pokusných skupinách s pamajoránovou silicou aj sumachom bol v našom pokuse index bielka mierne nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou (P>0,05). **Yalcin et al. (2007)** zistili nevýznamný efekt na vaječnú produkciu, kvalitu škrupiny a index bielka. Významný rozdiel v indexe bielka v pokusných skupinách avšak s prídavkom vyšších dávok múčky z cesnaku uvádza vo svojej práci **Canogullari et al. (2009)**.

Najvyšší index bielka v priemere bol v našom pokuse zaznamenaný v pokusnej skupine s doplnkom propolisového extraktu. Rozdiel v porovnaní s kontrolnou skupinou však nebol štatisticky významný. Naše výsledky sú v súlade so **Seven (2008)**, ktorý podobne zaznamenal nevýznamný vplyv doplnku propolisu na hmotnosť vajec ako aj index bielka.

Hodnoty Haughových jednotiek bielka v našom pokuse boli v poradí skupín 86,03±8,74; 85,92±8,06; 85,97±7,50;

85,25±7,67; 86,29±6,84 a 85,23±6,66 HJ ($\bar{x} \pm S. D.$). Ako vyplýva z uvedených, pomerne vyrovnaných hodnôt, ani jeden kŕmny doplnok nemal výraznejší dopad na tento ukazovateľ (P>0,05).

Vyššie Haughove jednotky po doplnku probiotického prípravku na rozdiel od našich zistení zaznamenali vo svojom experimente **Xu et al. (2006)**. V súlade s našimi výsledkami ani autori **Yalcin et al. (2002)** vo svojom experimente zaevidovali síce vplyv na index bielka, Haughove jednotky sa však významne nemenili. Podobne nevýznamný rozdiel v tomto ukazovateli zaznamenali **Kalavathy et al. (2005)**, **Asli et al. (2007)**, resp. **Galazzi et al. (2008)**. Podobne v experimente **Panda et al. (2008)** neboli Haughove jednotky príjmom krmiva s prídavkom probiotika na báze *Lactobacillus sporogenes* ovplyvnené.

V pokusnej skupine s doplnkom pamajoránovej rastlinnej silice bola hodnota Haughových jednotiek v priemere na úrovni hodnoty v kontrolnej skupine.

V súlade s našimi výsledkami v experimente **Uganbayar et al. (2006)** prídavok fytobiotika neovplyvnil významne Haughove jednotky bielka. Podobne v pokuse **Hosseini et al. (2008)**, resp. v pokuse **Liu et al. (2009)** nebola vnútorná kvalita prezentovaná farbou žltka a Haughovými jednotkami bielka významne ovplyvnená. **Florou-Paneri et al. (2005)**, zistili po prídavku pamajoránu vo vyššej dávke v porovnaní s našimi zisteniami výraznejší vplyv na tento ukazovateľ aj keď nie so štatisticky významným rozdielom.

V skupine s doplnkom propolisu bola v našom pokuse priemerná hodnota za celé sledované pokusné obdobie na úrovni kontrolnej skupiny. V súlade s našimi výsledkami **Seven (2008)** podobne zistil nevýznamný vplyv doplnku propolisu na tento ukazovateľ.

ZÁVER

V experimente sme sledovali vplyv kŕmnych doplnkov na prírodnej báze – probiotického preparátu v dávke 0,5 g.kg⁻¹, pamajoránovej silice v dávke 0,5 ml.kg⁻¹, sumachu (*Rhus coriaria*) v 1 % koncentrácii, propolisového a peľového extraktu, oboch doplnkov v dávke 0,2 g.kg⁻¹ na ukazovatele kvality konzumných vajec sliepok znáškového hybridu Lohman Brown. Sledovali sme hmotnosť vajec (g), percentuálny podiel žltka (%), index žltka, percentuálny podiel bielka (%), index bielka a Haughove jednotky bielka (HJ). Pokus trval 28 týždňov. Na základe výsledkov môžeme konštatovať, že hmotnosť vajec nebola ani jedným druhom kŕmneho doplnku výraznejšie ovplyvnená ($P > 0,05$). Nevýznamne vyššia hodnota ako v kontrolnej skupine bola zaznamenaná vo všetkých sledovaných mesiacoch ako aj v priemere za znáškové obdobie v pokusnej skupine s doplnkom probiotika, nevýznamne nižšie hodnoty boli v pokusných skupinách s prídavkom fytobiotik a propolisového extraktu, ktorých doplnok hmotnosť vajec mierne znížil. Na druhej strane pri ukazovateľoch kvality vnútorného obsahu vajca – žltka a bielka neboli síce zistené významné rozdiely, avšak bola pozorovaná tendencia vyšších hodnôt a teda priaznivého účinku doplnku propolisu na index žltka a index bielka.

LITERATÚRA

ALIYZICIOGLU, Y., DEGER, O., OVALI, E., BARLAK, Y., HOSVER, I., TEKELLOGLU, Y., KARAMAN, S. C. 2005. Effect of Turkish pollen and propolis extracts on respiratory burst for K-562 cell lines. In *International Immunopharmacology*, vol. 5, 2005, no. 11, p. 1652-1657.

ANGELOVIČOVÁ, M., KAČÁNIOVÁ, M., ANGELOVIČ, M., LOPAŠOVSKÝ, E. 2010. *Per os* use of *Thymi aetheroleum* for growth performance of the broiler chickens. In *Potravinarstvo*, vol. 4, 2010, mimoriadne číslo, p. 127-132.

APPLEGATE, T. J., KLOSE, V., STEINER, T., GANNER, A., SCHATZMAYR, G. 2010. Probiotics and phytogenics for poultry: Myth or reality? In *Journal of Applied Poultry Research*, vol. 19, 2010, no. 2, p. 194-210.

ARPÁŠOVÁ, H. 2011. Fytobiotiká ako náhrada antibiotických stimulátorov rastu a ich vplyv na úžitkovosť a kvalitu vajec sliepok znáškového typu. Nitra : SPU, 2011. 101 s. ISBN 978-80-552-0555-7.

ASLI, M. M., HOSSEINI, S. A., LOTFOLLAHIAN, H., SHARIATMADARI, F. 2007. Effect of probiotics, yeast, vitamin E and vitamin C supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental

temperature. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 6, 2007, no. 12, p. 895-900.

BABINSKA, I., KLECZEK, K., SZAREK, J., MAKOWSKI, W. 2012. Modulating effect of propolis and bee pollen on chicken breeding parameters and pathomorphology of liver and kidneys in the course of natural infection with *Salmonella enteritidis*. In *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, vol. 56, 2012, no. 1, p. 3-8.

BLONSKA, M., BRONIKOWSKA, J., PRETSZ, G., CZUBA, Z. P., SCHELLER, S., KROL, W. 2004. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and flavones on inducible gene expression in J774a, 1 macrophages. In *J. Ethnopharmacol.*, vol. 91, 2004, no. 1, p. 25-30.

BÖLÜKBAŞI, S. C., ERHAN, M. K. 2007. Effect of Dietary Thyme (*Thymus vulgaris*) on Laying Hens Performance and *Escherichia coli* Concentration in Feces. In *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, vol. 1, 2007, no. 2, p. 55-58

BÖLÜKBAŞI, S. C., KAYNAR, O., ERHAN, M. K., URUPAN, H. 2009. Effect of feeding *Nigella sativa* oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and *Escherichia coli* count in feces. In *Archiv für Geflügelkunde*, vol. 73, 2009, no. 3, p. 167-172.

CANOGULLARI, S., KARAMAN, M., ERDOGAN, Z., BAYLAN, M., KUCUKGUL, A., DUZGUNER, V., KEMALI OZUGUR, A. 2009. Effect of garlic powder on egg yolk and serum cholesterol and performance of laying hens. In *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, vol. 53, 2009, no. 3, p. 515-519.

CAPCAROVA, M., CHMELNICNA, L., KOLESAROVA, A., MASSANYI, P., KOVACIK, J. 2010. Effect of *Enterococcus faecium* M 74 strain on selected blood and production parameters of laying hens. In *British Poultry Science*, vol. 51, 2010, no. 5, p. 614-620.

DAVIS, G. S., ANDERSON, K. E. 2002. The effects of feeding the direct-fed microbial, primalac, on growt parameters and egg production in Single Comb White Leghorn hens. In *Poultry Science*, vol. 81, 2002, no. 6, p. 755-759.

DIAS, L.G., PEREIRA, A.P., ESTEVINHO, L.M. 2012. Comparative study of different Portuguese samples of propolis: Pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 50, no.12, 2012, p. 4246-4253.

DIZAJI, S. B., PIRMOHAMMADI, R. 2009. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and Bioplus 2B on performance of laying hens. In *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 11, 2009, no. 4, p. 495-497.

FLOROU-PANERİ, P., NIKOLAKAKIS, I., GIANNENAS, I., KOIDIS, A., BOTSOGLOU, E., DOTAS, V., MITSOPOULOS, I. 2005. Hen performance and egg quality as affected by dietary oregano essential oil and tocopheryl acetate supplementation. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 4, 2005, no. 7, p. 449-454.

FREITAS, J. A., VANAT, N., PINHEIRO, J. W., BALARIN, M. R., SFORCIN, J. M., VENANCIO, E. J. 2011. The effects of propolis on antibody production by laying hens. In *Poultry science*, vol. 90, 2011, no. 6, p. 1227-1233.

GALLAZZI, D., GIARDINI, A., MANGIAGALLI, M. G., MARELLI, S., FERRAZZI, V., ORSI, C., CAVALCHINI, L. G. 2008. Effects of *Lactobacillus addophilus* D2/CSL on laying hen performance. In *Italian Journal of Animal Science*, vol. 7, 2008, no. 1, p. 27-37.

- GÁLIK, B., HORNIÁKOVÁ, E. 2010. The effect of enzymatic additives on the productivity of laying hens Isa Brown. In *Journal of Central European Agriculture*, vol. 11, 2010, no. 4, p. 381-386.
- GARCIA-REBOLLAR, P., CACHALDOR, P., ALVAREZ, C., DE BLAS, C., MENDEZ, J. 2008. Effect of the combined supplementation of diets with increasing levels of fish and linseed oils on yolk fat composition and sensorial quality of eggs in laying hens. In *Animal Feed Science and Technology*, vol. 140, 2008, no. 3-4, p. 337-348.
- GUTIERREZ, J., BOURKE, P., LONCHAMP, J., BARRY-RYAN, C. 2009. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 10, 2009, p. 195-202.
- GÜÇLÜ K. B., ÜNİVERSİTESİ E., FAKÜLTESİ V., DALI A. 2003. The Effects of *Yucca schidigera* extract added to quail rations on egg production, egg quality and some blood parameters. In *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2003, no. 27, p. 567-574.
- HALAJ, M., GOLIAN, J. 2011. Vajce – biologické, technické a potravinárske využitie. Nitra : Garmond, 222 p. ISBN 978-80-89148-70-7
- 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, p. 22-29.
- HAŠČÍK, P., ELIMAM, I. O. E., GARLÍK, J., KAČÁNIOVÁ, M., BOBKO, M., KŇAZOVICKÁ, V., VAVRIŠINOVÁ, K., ARPÁŠOVÁ, H., BUČKO, 2012. Chemical composition of muscle after pollen application in nutrition of broiler chickens. In *Potravinárstvo*, vol. 6, 2012, no. 2, p. 26-32.
- HASHEMI, S. R., DAVOODI, H. 2010. Phytochemicals as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. In *Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol. 9, 2010, no. 17, p. 2295-2304.
- HONG, J. W., KIM, I. V., KWON, O. S., HAN, Y. K., LEE, S. H. 2002. Influence of probiotics supplementation on egg quality and excretal noxious gas in laying hens. In *Journal of Animal Science and Technology*, vol. 44, 2002, no. 2, p. 213-220.
- HOSSEINI VASHAN, S. J., AFZALI, N., MALLEKANEH, M., NASSERI, M. A., ALLAHRESAN, A. 2008. The Effect of Different Concentrations of Safflower Seed on Laying Hen's Performance, Yolk and Blood Cholesterol and Immune System. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 7, 2008, no. 5, p. 470-473.
- CHUMPAWADEE, S., CHANTIRATIKUL, A., SATAWEESUK, S. 2009. Effect of Dietary Inclusion of Cassava Yeast as Probiotic Source on Egg Production and Egg Quality of Laying Hens. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 8, 2009, no.2, p. 195-199.
- KAČÁNIOVÁ, M., BOBČEK, R., KMEŤ, V., ANGELOVIČOVÁ, M. 2005. Kýmne doplnky ako náhrada antibiotík a ďalšie aplikácie. Nitra : SPU, 2005, 78 p., ISBN 80-8069-589-X.
- KAČÁNIOVÁ, M., NOVÁKOVÁ, I., HAŠČÍK, P. 2011. Význam probiotík a ich význam na mikrofóru gastrointestinálneho traktu hydiny. Nitra : SPU, 181 p. ISBN 978-80-552-0655-4
- LIU, X. D., JANG, A., LEE, B. D., LEE, S. K., LEE, M., JO, C. 2009. Effect of Dietary Inclusion of Medicinal Herb Extract Mix in a Poultry Ration on the Physico-chemical Quality and Oxidative Stability of Eggs. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 22, 2009, no. 3, p. 421-427.
- MANGIAGALLI, M. G., MARTINO, P. A., SMAJLOVIC, T., GUIDOBONO CAVALCHINI, L., MARELLI, S. P. 2010. Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. In *British Poultry Science*, vol. 51, 2010, no. 1, p. 152-157.
- MODRO, A. F. H., SILVA, I. C., LUZ, C. F. P., MESSAGE, D. 2009. Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. In *Acad Cienc.*, vol. 81, 2009, no. 2, p. 281-285.
- PANDA, A. K., RAMARAO, S. V., REDDY, M. R., PRAHARAJ, N. K. 2000. Response of White Leghorn layers to diet fed with various levels of probiotic. In *Indian Journal of Animal Sciences*, vol. 70, 2000, no. 3, p. 311-312.
- PANDA, A. K., RAMARAO, S. S., RAJU, M. V., SHARMA, S. S. 2008. Effect of probiotic (*Lactobacillus sporogenes*) feeding on egg production and quality, yolk cholesterol and humoral immune response of White Leghorn layer breeders. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 88, 2008, no. 1, p. 43-47.
- PANDA, A., RAMA, R. S., RAJU, M. 2009. Phytobiotics, a natural growth promoter. In *Poultry international*, 2009, no. 7, p. 10-11.
- PERCIE DU SERT, P. 2006. *The Healing Powers of Pollen*. Paris : Guy Trédaniel Éditeur, 2006. 214 p.
- RADWAN NADIA, L., HASSAN, R. A., QOTA, E. M., FAYEK, H. M. 2008. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 7, 2008, no. 2, p. 134-150.
- RAMASAMY, K., ABDULLAH, N., JALALUDIN, S., WONG, M., HO, Y. W. 2009. Effects of *Lactobacillus cultures* on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 89, 2009, no. 3, p. 482-486.
- SENKÖYLÜ, N., AKYÜREK, H., SAMLI, H. E., YURDAKURBAN, N. 2004. Performance and egg weight of laying hens fed on the diets with various by-product oils from the oilseed extraction refinery. In *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 3, 2004, no. 1, p. 38-42.
- SEVEN, T. P., SEVEN, I., YILMAZ, M., SIMSEK, G. E. 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, p. 137-148.
- SEVEN, I. A., TATLI SEVEN, P. B., SILICI, S. C. 2011. Effects of dietary Turkish propolis as alternative to antibiotic on growth and laying performances, nutrient digestibility and egg quality in laying hens under heat stress. In *Revue de Medecine Veterinaire*, vol. 162, 2011, no. 4, p. 186-191.
- SIAM, S. S., RIAD, S. A., MOHAMED, F. R., ELDEIN, A. K. A. 2004. Influence of using two different levels of probiotics on egg performance, blood and yolk cholesterol of laying hens. In *Egyptian Poultry Science Journal*, vol.12, 2004, no. 1, p. 12.
- SUCHÝ, P., STRAKOVA, E., MAS, N., SERMAN, V., VECEREK, V., BEDRICA, L., LUKAC, Z., HORVAT, Z. 2010. The effect of a herbal additive on performance parameters in layers. In *Tierärztliche Umschau*, vol. 65, 2010, no. 2, p. 74-78.
- 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, p. 1462-1465.

UUGANBAYAR, D., SHIN, I. S., YANG, C. J. 2006. Comparative performance of hens fed diets containing Korean, Japanese and Chinese green tea. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 19, 2006, no. 8, p. 1190-1196.

VALLE, M. L. 2000. Quantitative determination of antibacterial capacities of propolis. In *Apiacta*, vol. 35, 2000, p. 152-161.

XU, C. L., JI, C., MA, Q., HAO, K., JIN, Z.Y., LI, K. 2006. Effects of a dried *Bacillus subtilis* culture on egg quality. In *Poultry Science*, vol. 85, 2006, no. 2, p. 364-368.

YALCIN, S., GUCLU, B. K., OGUZ, F. K. 2002. The usage of enzyme, probiotic and antibiotic in laying hen rations. In *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. vol. 49, 2002, no. 2., p. 135-141.

YALCIN, S., ONBASILAR, I., ONBASILAR, I., SEHU, A., YALCIN, S. 2007. The effects of dietary garlic powder on the performance, egg traits and blood serum cholesterol of laying quails. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 20, 2007, no. 6, p. 949-947.

Acknowledgments:

This work was supported by grants VEGA No. 1/0493/12 and KEGA 035 SPU – 4/2012

Contact address:

doc. Ing. Henrieta Arpášová, PhD., Department of Poultry and Small Animal Husbandry, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: henrieta.arapasova@uniag.sk

doc. Ing. Miroslava Kačániová, PhD., Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: miroslava.kacaniova@uniag.sk

doc. Ing. Peter Haščík, PhD., Department of Evaluation and Processing of Animal Products, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: peter.hascik@uniag.sk

Ing. Veronika Šidlová, Department of Genetics and Breeding Biology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: veron.sidlova@gmail.com

XENOBIOTICS AND BIOGENIC ELEMENTS IN RAW COW'S MILK

Lukáčová Anetta, Gajdošová Dominika, Massányi Peter, Golian Jozef, Greň Agnieszka

ABSTRACT

This paper presents the concentration some toxic and biogenic elements in milk from Nitra region. The aim of this investigation was to evaluate 30 samples of raw milk with fat contents 3.8% obtained from milk machine in the Nitra region. Samples were analyzed for metal contents using atomic absorption spectrophotometry (AAS). In comparison with maximum acceptable concentration for milk in the food codex of the Slovak republic, the level of contamination with cadmium was exceeded and reached the value $0.221 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. The copper content ranged from $1.201 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ to $5.810 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and the average concentration reached $3.793 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Iron had an average of $1.824 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Overall in all milk samples high correlations were found. Between positive correlation (0.7019) and negative correlation between of nickel and potassium concentration in raw milk (-0.72) was found.

Keywords: xenobiotic; elements; milk; AAS

ÚVOD

Mlieko je považované za takmer kompletnú potravinu z dôvodu bohatého zdroja bielkovín, tukov a predovšetkým minerálnych látok (Enb et al., 2009). Mlieko je dôležitým zdrojom všetkých základných živín potrebných pre cicavcov vrátane človeka (Hassan, 2005). Vynikajúca kombinácia vitamínov a minerálnych látok nemá podobu v žiadnej inej potravine (Burdová, 2005). V mlieku sa ďalej nachádzajú vitamíny, enzýmy, ochranné látky, dusíkaté látky nebielkovinového pôvodu, plyny, bunkové elementy, prípadne mikroorganizmy (Slanina et al., 1991). Mlieko a mliečne výrobky sú veľmi rozmanité prírodné potraviny, pokiaľ ide o zloženie, obsahujú viac ako dvadsať rôznych stopových prvkov (Stawarz et al., 2007). Väčšina z nich sú nevyhnutné a veľmi dôležité ako je meď, zinok, mangán a železo. Tieto kovy zohrávajú dôležitú úlohu v mnohých fyziologických funkciách človeka a zvierat (Koh a Judson, 1986).

Z hľadiska zabezpečovania zdravia ľudskej populácie sa za dôležité považuje ochrana potravinového reťazca pred kontamináciou ťažkými kovmi, ktorá je z 20 % spôsobená vlastnou poľnohospodárskou činnosťou a z 80 % ide o znečistenie z cudzích zdrojov, predovšetkým priemyselnou činnosťou. Tento fakt si vynútil zvýšený záujem o kontrolu zdravotnej nezávadnosti vyrábaných potravín z hľadiska obsahu toxických, ale aj rizikových kovov (Toman et al., 2000). Všetky tieto látky majú spoločnú charakteristiku – môžu poškodiť zdravie konzumenta (Parmar et al., 1997).

Každá potravina je možným zdrojom nákazy, pričom mlieko a mliečne produkty nie sú žiadnou výnimkou. Implementácia správnej hygienickej kontroly mlieka a mliečných produktov v rámci potravinového reťazca je podstatná pre zabezpečenie neškodnosti

a vhodnosti týchto potravín na určené použitie (Balážová et al., 2006).

V posledných rokoch sa vedci zaujímajú o výživu aj z aspektu možnej kontaminácie xenobiotikami. Xenobiotiká sú telu cudzie chemikálie, ktoré nepatria medzi prirodzené látky v potravinách (Široká a Drastichová, 2004). Stávajú sa súčasťou potravy niekoľkými cestami. Môžu byť zámerne pridané napríklad ako farbivá prísady, ktoré môžu nepriamo migrovať z obalov do potravín alebo prenikajú v podobe environmentálnych polutantov do potravinového reťazca pri raste a zrení surovín pre výrobu potravín (Morris, 1983).

Cieľom práce bolo zhodnotiť koncentráciu vybraných prvkov v surovom kravskom mlieku a na základe výsledkov analýzy určiť závislosti medzi výskytom sledovaných prvkov.

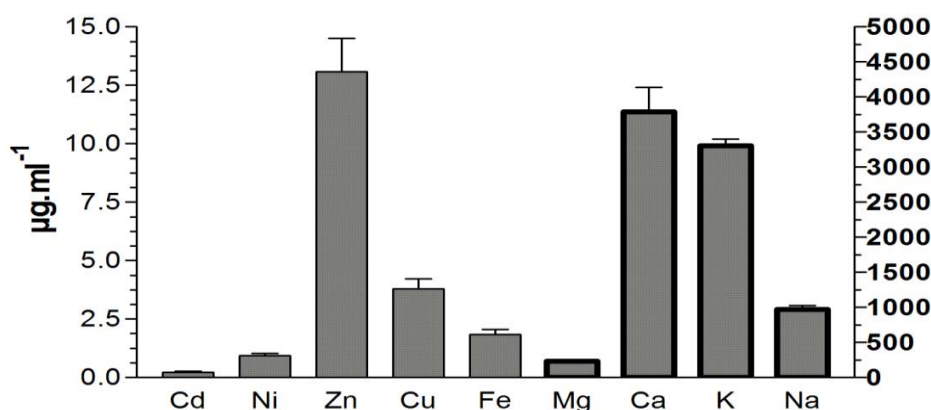
MATERIÁL A METODIKA

Na stanovenie koncentrácie kadmia, zinku, niklu, medi, železa, horčíka, vápnika, draslíka a sodíka v kravskom mlieku sme odobrali celkovo 30 vzoriek surového kravského mlieka z automatov (oblasť Nitrianskeho kraja), s nepravidelnými odbermi. Vzorky boli mineralizované sušením až do získania suchej hmoty. Takto upravené vzorky boli umiestnené do separátnych mineralizačných túb a boli mineralizované pridaním 3 ml HNO_3 : HClO_4 (4:1). Následne mixované a zohriate na 120°C po dobu 65 minút v digesčnom systéme kontrolovanom termostatom. Po schladení bol roztok zriedený na 25 ml demineralizovanou vodou. Koncentrácie kadmia, medi a zinku boli stanovené metódou AAS - atómovou absorpčnou spektrofotometriou. Maximálna absorbanca bola získaná úpravou katód na osobitné štrby a vlnové

Tabuľka 1 Základné variačno–štatistické hodnoty priemerného obsahu prvkov v surovom kravskom mlieku

	sledované prvky								
	Cd	Zn	Ni	Cu	Fe	Mg	Ca	K	Na
\bar{x}	0,221	13,09	0,936	3,793	1,824	230,9	3790	3302	967,2
SD	0,098	4,486	0,313	1,345	0,702	29,96	1096	302,5	187,5
CV	44,64	34,28	33,46	35,47	38,46	12,98	28,91	9,16	19,39
SEM.	0,031	1,419	0,099	0,426	0,222	9,476	346,4	95,66	59,30
MIN.	0,104	6,968	0,533	1,201	1,056	182,5	2540	2873	752,2
Median	0,208	12,12	0,855	3,681	1,562	232,9	3387	3278	924,7
MAX.	0,388	23,88	1,475	5,810	3,079	263,2	5928	3922	1243

Legenda: \bar{x} - priemer, SD – smerodajná odchýlka, CV(%) – variačný koeficient, MIN – minimálna hodnota, MAX – maximálna hodnota, SEM – štandardná chyba priemeru,



Obrázok 1 Grafické znázornenie priemerného obsahu prvkov v surovom kravskom mlieku

dĺžky Fe na 248,3 nm, Cu na 324,8 nm, 319,9 nm Zn na, Cd (228,8 nm), Ni (232,0 nm). Koncentrácie boli vyjadrené v µg.ml⁻¹.

Zo získaných výsledkov analýz sme použitím PC programu GraphPad Prism 3.01, (GraphPAD Software, Inc., USA) stanovili základné variačno–štatistické hodnoty a korelácie.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú prezentované výsledky analýz, v ktorých sme sledovali koncentráciu toxických a biogénnych prvkov v surovom kravskom mlieku. **Hiščáková et al. (2003)** uvádza, že hodnoty kadmia pre mlieko sa pohybujú od 0,0003 do 0,003 mg.kg⁻¹. **Együdová, Šturdík (2004) a Slanina et al. (1991)** uvádzajú, že v mlieku a mliečnych výrobkoch sa nachádza iba malé množstvo kadmia a jeho obsah v potravinách je všeobecne pod hranicou 1,0 mg.kg⁻¹. Tieto výsledky sú v súlade s našimi analýzami, kde priemerná koncentrácia kadmia dosahovala hodnotu 0,221 ± 0,098 µg.ml⁻¹ a bola v intervale od 0,104 µg.ml⁻¹ do 0,388 µg.ml⁻¹.

Zinok je stopový prvok s viacerými biologickými funkciami. **Hiščáková et al. (2003)** udáva koncentráciu zinku v mlieku dojnic 3,16 mg.l⁻¹. **Rodríguez et al. (2001)** stanovili vo vzorkách surového kravského mlieka koncentráciu zinku 4,41 mg.l⁻¹, pričom minimálne množstvo bolo 3,2 mg.l⁻¹ a maximálne 6,6 mg.l⁻¹. Nami hodnotené vzorky surového kravského mlieka mali

priemernú koncentráciu zinku 13,09 ± 4,486 µg.ml⁻¹, pričom namerané hodnoty boli v rozmedzí od 6,968 µg.ml⁻¹ do 23,88 µg.ml⁻¹.

Denná potreba medi pre človeka je 2 – 5 mg. Zistená koncentrácia medi v potravinách sa pohybuje okolo 1 mg.kg⁻¹. Hranica obsahu medi v potravinách je u nás 10 mg.kg⁻¹ a v nápojoch 1 mg.kg⁻¹ **Bencko et al. (1995)**. **Labuda et al. (1982)** hodnotia mlieko, ako požívatinu s malým množstvom medi. Najviac medi obsahuje kolostrum, 0,5 mg v 1 litre. **Hiščáková et al. (2003)** nezaznamenali nadlimitné hodnoty medi v mlieku a ich priemerná koncentrácia bola 0,24 mg.l⁻¹. Hodnoty sa pohybovali v limitoch. V našich meraniach najvyššia hodnota medi dosahovala 3,681 µg.ml⁻¹, pričom priemerná koncentrácia bola 3,793 ± 1,345 µg.ml⁻¹.

Priemerná koncentrácia železa v analyzovaných vzorkách čerstvého mlieka (1,824 µg.ml⁻¹) bola vyššia ako uvádza **Birghila et al. (2008)** v čerstvom kravskom mlieku s priemernou koncentráciou 0,72 µg.ml⁻¹. Koncentrácie Mg zahrnuté v našej štúdií dosahovali hodnotu 230,9 µg.ml⁻¹ a sú v nepatrnnej miere vyššie ako udáva **Birghila et al. (2008)** 214 µg.ml⁻¹. Priemerná koncentrácie niklu mala hodnotu 0,936 µg.ml⁻¹ a bola vyššia v porovnaní so štúdiou **Kondyli et al. (2007)** 0,04 µg.ml⁻¹.

Obsah vápnika sa pohyboval v rozmedzí od 2540 µg.ml⁻¹ do 5928 µg.ml⁻¹ s priemernou koncentráciou 3790 µg.ml⁻¹. Priemerná koncentrácia draslíka bola 3302±302,5 µg.ml⁻¹, obsah bol v rozmedzí od 2873 do 3922 µg.ml⁻¹

Tabuľka 2 Najvýznamnejšie korelácie medzi prvkami v surovom kravskom mlieku

	Cu	K	Ca
Cd	r = 0,7643	-	-
	p < 0,01 **	-	-
Na	r = 0,713	-	-
	p = 0,02 *	-	-
Ni	-	r = - 0,72	-
	-	p = 0,0189*	-
Mg	-	-	r = 0,62
	-	-	p = 0,049 *
Na	-	r = 0,6747	-
	-	p = 0,0323 *	-

V tabuľke 2 sú prezentované vysoké korelácie medzi jednotlivými sledovanými prvkami v surovom kravskom mlieku. Z uvedených výsledkov vyplývajú vysoké pozitívne korelácie medzi toxickým ťažkým kovom kadmium a biogénnym kovom meďou ($r = 0,7643$). Zistila sa významná pozitívna závislosť medzi sodíkom a meďou ($r = 0,713$). Zaujímavé je zistenie negatívnej významnej závislosti medzi obsahom niklu a koncentráciou draslíka v surovom kravskom mlieku ($r = -0,72$). Výsledky korelačnej analýzy potvrdili vysoké pozitívne závislosti medzi analyzovaným obsahom makroprvkov (Na:K, $r = 0,6747$; Mg: Ca, $r = 0,62$).

ZÁVER

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať prekročenie koncentrácie kadmia v surovom kravskom mlieku podľa Nariadenia Komisie ES č. 466/2001 a Potravinového kódexu Slovenskej republiky. V analyzovaných vzorkách surového kravského mlieka pochádzajúce z automatov bolo zistené výrazné zastúpenie biogénnych kovov medi a železa. Koncentrácie makroelementov (Ca, Mg, Na a K) v hodnotených vzorkách surového kravského mlieka vysoko prevyšovali kvalitatívne požiadavky normy na surové kravské mlieko.

LITERATÚRA

BALÁŽOVÁ, M., JURÍŠ, P., GULOVIČ, J., 2006. Kódex hygienickej praxe na mlieko a mliečne výrobky CAC/RCP 57-2004. In: *Slovenský veterinársky časopis*. 2006, no. 5, p. 285.

BENCKO, V., CIKRT, M., LENER, J., 1995. *Toxické kovy v pracovnom a životnom prostredí človeka*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 1995, 288 p., ISBN 80-7169-150-X.

BIRGHILA, S., DOBRINSA, S., STANCIU, G., SOCEANU, A., 2000. Determination of major and minor elements in milk. In *Environmental Engineering and Management Journal*, vol. 7, 2000, no. 6, p. 805-808.

BURDOVÁ, O., 2005. Mlieko a mliečne výrobky z pohľadu správnej výživy. In *Slovenský veterinársky časopis*. 2005, no. 3, p.152.

ENB, A., ABOU DONIA, M.A., ABD-RABOU, N.S., ABOU ARAB, A. A. K., EL SENAITY, M. H., 2009. Chemical composition of raw milk and heavy metals behavior during processing of milk products. In *Global Veterinaria*, vol. 3, 2009, no. 3, p. 268-275.

EGYŮDOVÁ, I., ŠTURDÍK, E. 2004. Ťažké kovy a pesticídy v potravinách. In *Nova Biotechnologica*, vol. 4, 2004, no. 1, p. 155-173.

HASSAN, I. P. 2005. *Quality Assurance of Various Dairy Products*. MSc Thesis, Department of Chemistry, University of Peshawar, Pakistan, no. 6, 2005, p. 358-421.

HIŠČÁKOVÁ, M., JESENSKÁ, M., NOVOTNÝ, J., LINK, KOVÁČ, G. 2003. Kadmium, meď a zinok v mlieku dojnic. In: *Rizikové faktory potravinového reťazca III*. Košice: Univerzita veterinárneho lekárstva, 2003, p. 37-38.

KOH, T. S., JUDSON G. T., 1986. Trace elements in sheep grazing near a lead-zinc smelting complex at Port Pirie South Australia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 37, p. 87-95.

KONDYLI, E., KATSIARI, M. C., VOUTSINA L. P., 2007. Variations of vitamin and mineral contents in raw milk if the indigenous Greek breed during lactation, *Food Chemistry*, vol. 100, p. 226-230.

LABUDA, J., KACEROVSKÝ, O., KOVÁČ, M., ŠTĚRBA, A., 1982. *Výživa a kŕmenie hospodárskych zvierat*. 1. vyd. Bratislava : Príroda, 1982, 487 p.

MORRIS, M. J., 1983. Systematic toxicity testing for xenobiotics in foods. In *ACS Symposium Series*. 1983, vol. 234, p. 1-14, ISBN 9780841210662.

PARMAR, B., MILLER, P. F., BURT, R., 1997. Stepwise approaches for estimating the intakes of chemicals in food. In *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 26, 1997, no. 1, p. 44-51.

RODRÍGUEZ, E. M., SANZ, A. M., DÍAZ, R. C., 2001. Mineral Concentrations in Cow's Milk from the Canary Island. In *Journal of Food Composition and Analysis*. 2001, vol. 14, no. 4, p. 419-430.

SLANINA, E. et al., 1991. *Vademecum veterinárneho lekára*. 1. vyd. Bratislava : Príroda, 1991, p. 1182, ISBN 80-07-00419-X.

STAWARZ, R., FORMICKI, G., MASSÁNYI, P., 2007. Daily fluctuations and distribution of xenobiotics, nutritional and biogenic elements in human milk in Southern Poland. *Journal Environ Science Health A Toxicology Hazard Substances and Environmental Engineering*, vol. 42, no. 8, p. 1169-1175.

ŠIROKÁ, Z., DRASTICHOVÁ, J. 2003. Biochemical markers of aquatic environment contamination - Cytochrome P450 in fish. In *Acta Veterinaria Brno*, 2003, no. 73, p. 123-132.

TOMAN, R., MASSÁNYI, P., DUCSAY, L., GOLIAN, J. 2000. *Ťažké kovy v krmivách a potravinách*. 1. vyd. Nitra: Garmond, 2000, p.23-36. ISBN 80-7137-796-1.

Acknowledgements:

This work was supported by grant MŠ SR VEGA 1/0532/11.

Contact address:

Anetta Lukáčová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku, 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: anettlukacova@gmail.com

Dominika Gajdošová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,

Department of Animal Physiology, Tr. A. Hlinku, 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: gajdosova@gmail.com

Peter Massányi, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Animal Physiology, Tr. A. Hlinku, 2, 949 76, Nitra, Slovakia, E-mail: peter.massanyi@uniag.sk

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

Agnieszka Greń, Pedagogical University, Institute of Biology, Kraków, Poland

DEVELOPMENT OF MILK CONSUMPTION AND MARKETING ANALYSIS OF ITS DEMAND

Eubica Kubicová, Marta Habánová

ABSTRACT

The strategy of most households is to eliminate the negative effects of economic changes related mainly to the economic crisis by mobilizing available resources and reducing costs, but which could lead to a decrease in food consumption and changes in consumption patterns. Pensions and prices are factors that shape the demand for food and other estates. Both of these factors guarantee the economic viability of nutrition. Paper analyzes the development of the of milk consumption and level of its substitution by milk products. There was quantified the elasticity of demand and estimated own price elasticity and income elasticity. For the past 17 years, consumption of milk, except cheese, cottage cheese, sour milk products and butter, decreased. Expressed by linear regression model in recent years (since 1995) in Slovakia occurred overall reduction in the consumption of milk and dairy products by an average of 0,988 kg per capita per year. This development was mainly conditioned by the annual descent of demand for milk, as its consumption with little variation in average decreased annually by up to 1,88 kg per capita. This development is largely due to the increase of milk prices and especially the increasing supply of a wide range of quality and flavored sour milk and cheese products. Acidified milk product consumption in recent observed years increased and is expressed by the average growth factor of 0,6748 kg per capita per year. Prognosis with a five percent risk of error of estimate could increase their consumption up to 13,936 kg per capita in 2014. Consumption of cheese and curd should the increase the current trend by an average of 0.0476 kg per person and would be able to achieve the level of consumption of 11,03 kg per capita in 2014.

Key words: income, prices, milk, employees, demand

ÚVOD

Mlieko je dôležitým zdrojom základných živín vrátane niekoľkých deficitných predovšetkým v detskej strave, ako je napr. vitamín D, vápnik a horčík (Nicklas et al., 2009), pričom konzumácia mlieka je spájaná so zníženým rizikom úmrtnosti, nezávisle od hlavných príčin ako je vek, nesprávna výživa, zlý zdravotný stav, vzdelanie a sociálno-ekonomický status (Bongard et al., 2012). Mlieko a mliečne výrobky môžeme nesporne považovať za produkty, ktoré slúžia na udržanie dobrého zdravia, ako prevenciu niektorých ochorení a tiež ako podpora pri ich liečbe (Habánová et al., 2010).

V ostatnom období, najmä v procese prebiehajúcej ekonomickej krízy, rastie záujem odbornej verejnosti a praxe o analýzu spotrebiteľského správania v súvislosti so zmenami reálnych cien, príjmovej úrovne a s ohľadom na rozdiely v spotrebe potravín medzi jednotlivými sociálnymi a príjmovými skupinami obyvateľstva. Kvalita, kvantita a cenová úroveň tovarov a služieb, ktoré jednotlivci a jednotlivé domácnosti obstarávajú, závisí od výšky príjmov. Ceny nakupovaných tovarov a služieb spolu s ďalšími výdavkami predstavujú základ finančnej pohody domácnosti. V súčasnej dobe je potrebné poukázať na dôležitosť príjmov v rodinnom rozpočte. Ich výška výrazne vplýva na výdavky, ktoré sa musia vynakladať na spotrebné a iné služby potrebné k životu. Kúpna sila mnohých domácností v súčasnosti nedovoľuje plné

uspokojovanie dopytu po potravinách a iných nevyhnutných súčasti života. V dôsledku rastu cien energie, nájomného, liekov a služieb domácnosti na zabezpečovanie výživy vyčleňujú zvyškovú časť domáceho rozpočtu (Kubicová a Dobák, 2012). Doterajšie početné práce a štúdie (Habánová, 2003; Jurkovičová, 2005; Kajaba et al., 2008a; Kubicová, 2008; Kleinová a Kretter, 2011) poukazujú, že výživa a celková spotreba potravín v slovenských domácnostiach je disbalančná a nezodpovedá zdravému životnému štýlu. Konečná spotreba domácnosti je ovplyvňovaná viacerými faktormi, kde popri demografických činiteľoch a stravovacích návykoch majú osobitné miesto finančné príjmy rodiny a ceny potravín (Habánová, 2005). Pri raste dôchodkov marginálny sklon výdavkov na potraviny klesá, až dosiahne bod, kedy energetická spotreba nezávisí od dôchodkov. Viac sa spotreba potravín nezvyšuje a môže aj klesať vplyvom zmien objektívnych podmienok spotreby. Potravínové výdavky sa približujú k relatívnej nasýtenosti a vzhľadom na efekt kvality pokles výdavkov je relatívny a nedosahuje absolútnu saturáciu (Grznár et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Pri spracovaní boli využité informácie ŠÚ SR, Eurostatu a COICOP (Classification of Individual Consumption According to Purpose) a bola použitá regresná a korelačná

analýza, základné a reťazové indexy. Vývoj sledovaných ukazovateľov za celé sledované obdobie časového radu sme charakterizovali priemerným koeficientom rastu k' , lineárnou a kvadratickou funkciou.

Príjmovú elasticitu dopytu a hranicu nasýtenosti spotrebiteľského dopytu po potravinách sme analyzovali prostredníctvom viacnásobnej lineárnej regresnej funkcie. Lineárny regresný model dopytu po mliečnych výrobkoch (q_i) vychádza zo vzťahov:

$$q_i = f(P_1, I, \dots) + e_i$$

respektíve:

$$q_i = f(P_1, P_2, \dots, P_n, I) + e_i$$

kde: q_i = dopyt po i – tom mliečnom výrobku v kg na osobu.rok-1

P_1, P_2, \dots, P_n = ceny jednotlivých i -tých mliečnych výrobkov v € kg-1

I = čisté peňažné príjmy (ČPP) v € na osobu a rok

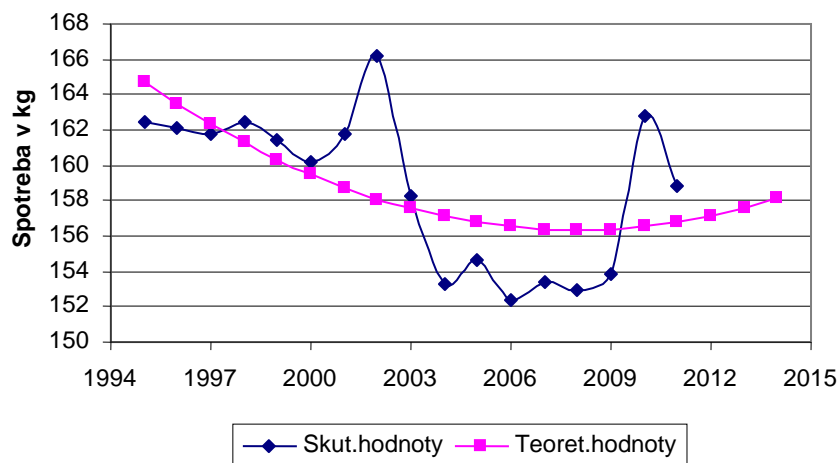
e_i = náhodná, reziduálna zložka

Štatistickú preukaznosť regresných parametrov a vhodnosť zvoleného regresného modelu sme overovali pomocou indexu determinácie R^2 a F-testom na hladine

významnosti α . Ak $F(m,n) > F_{\alpha}(m,n)$ zamietame H_0 a považujeme model na hladine α významnosti za štatisticky preukazný. Text práce je doplnený tabuľkami a grafmi, ktoré poskytujú prehľady a názorné predstavy o dosiahnutých výsledkoch. Spracovanie údajov, výpočty a zhotovenie grafov bolo uskutočnené elektronicky za použitia software Microsoft Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Konzumácia mlieka a mliečnych výrobkov má na Slovensku dlhú tradíciu. Taktiež priemyselná výroba mliečnych potravín sa u nás datuje dlhšie než 100 rokov. V roku 1989 sa v Československu spotrebovalo 260 kg mlieka na priemerného obyvateľa a rok. V tom čase bolo v Československu 166 mliekarní, ktoré boli centrálné riadené. Po rozdelení republiky a privatizácií je v súčasnosti na Slovensku asi 16 mliekarní a sortiment a kvalita je porovnateľná s európskym trhom. Po vstupe Slovenska do EÚ je Slovensku pridelovaná mliečna kvóta výroby mlieka, ktorá bola na kvóťový rok 2009/10 stanovená vo výške 1 061,6 mil. kg. a na kvóťový rok 2014/2015 1 115,8 mil. kg.



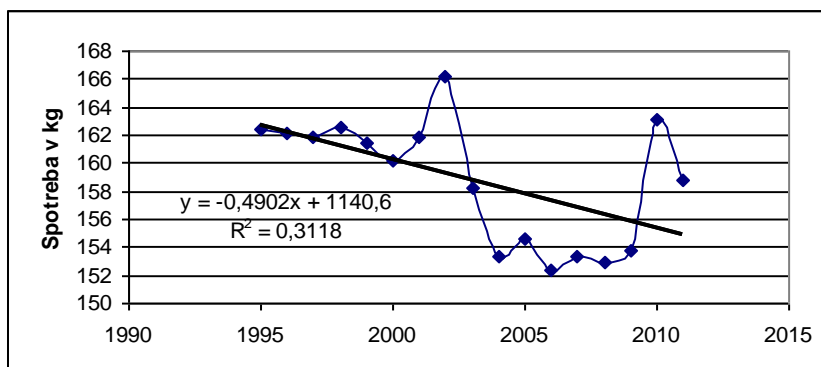
Zdroj: ŠÚ SR, COICOP, vlastné prepočty

Obrázok 1 Prognóza spotreby mlieka a mliečnych výrobkov

Figure 1 Prognosis of milk and milk products consumption

Vývoj spotreby mlieka je poznačený dvomi rozdielnymi vývojovými etapami. Do roku 2000 spotreba mlieka mierne klesala a pohybovala sa na úrovni od 162,4 kg do 160,2 kg na obyvateľa a rok (rok 2002). Po rokoch 2003 a 2004 došlo k výraznejšiemu poklesu spotreby mlieka a mliečnych výrobkov až na úroveň 153,3 kg v roku 2004 a s menším kolísaním sa zachovávala spotreba na tejto úrovni aj v ďalších rokoch. Mierny nárast spotreby mlieka a mliečnych výrobkov je evidentný v roku 2010, no z predbežných údajov vyplýva, že v roku 2011 bol zaznamenaný opäť pokles spotreby. Na základe priemerného koeficienta rastu ($k' = 0,998$) možno

konštatovať, že celkovo došlo k poklesu spotreby mlieka a mliečnych výrobkov v priemere o 0,998 kg na obyvateľa a rok. Spotreba mlieka a mliečnych výrobkov v posledných 17 rokoch vyjadrené lineárnou regresnou funkciou (obrázok 2), klesala priemerne ročne o 0,490 kg na osobu a rok a v roku 2011 (158,8 kg/obyv./rok) dosiahla 97,78 % úrovne spotreby v roku 1995 (162,4 kg/obyv./rok).



Zdroj: ŠÚ SR, COICOP, vlastné prepočty

Obrázok 2 Vývoj spotreby mlieka a mliečnych produktov
Figure 2 Development of milk and milk products consumption

Keďže odporúčaná dávka spotreby mlieka a mliečnych výrobkov je 220 kg (pásmo racionálnej spotreby je 206 – 240 kg na obyvateľa a rok), možno hodnotiť doterajší vývoj spotreby mlieka ako nepriaznivý. V posledných desiatich rokoch pozorujeme konkávny priebeh zvyšovania vývoja spotreby mlieka a predovšetkým mliečnych výrobkov s vyššou pridanou hodnotou predovšetkým jogurtov a syrov. Doterajší vývoj spotreby mlieka a mliečnych výrobkov na Slovensku a jeho prognózu do roku 2014 možno vyjadriť kvadratickou funkciou, ktorá nadobúda parametre:

$$g_i = 166,079 - 1,40115 t + 0,05032 t^2$$

$$R^2 = 0,6196 \quad F(2,14) = 4,362 \quad \alpha = 0,0336$$

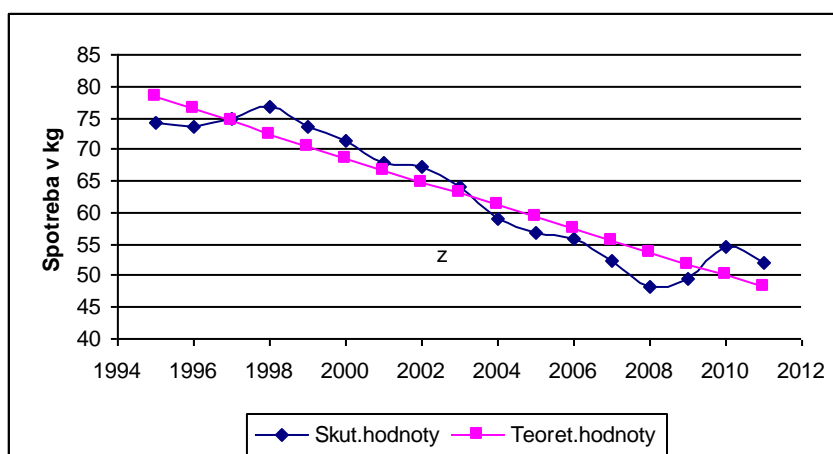
$$(1,05 E-17) \quad (0,0937) \quad (0,251)$$

Uvedený kvadratický model charakterizujúci vývoj spotreby mlieka a mliečnych výrobkov za roky 1995-2011 je štatisticky preukazný na hladine významnosti $\alpha = 0,0336$ ($P < 0,05$).

Na základe konkávneho priebehu parametrov kvadratickej funkcie s rizikom chyby menšou než 5 % (0,0336) môžeme odhadovať vývoj spotreby mlieka a mliečnych výrobkov v roku 2014 do úrovne 158,2 kg na obyvateľa a rok.

V štruktúre výdavkov slovenských domácností na potraviny, výdavky na mlieko predstavujú druhú najvýznamnejšiu položku, po mäse a mäsových výrobkoch a podieľajú sa na potravinových výdavkoch v jednotlivých rokoch v rozsahu 18,1 - 19,3 %. Ako uvádzajú **Bielik a Hupková (2010)** podiel celkových výdavkov domácností na potraviny v EÚ poklesol s rastom príjmov a v súčasnosti je tento podiel 10 - 35 % na celkových spotrebných výdavkoch s najnižším podielom v EÚ-15.

Na celkovom klesajúcom vývoji spotreby mlieka a mliečnych výrobkov má najväčší podiel pokles spotreby konzumného mlieka. Jeho spotreba každoročne klesala s malými výkyvmi okolo lineárneho trendu v priemere ročne o 2,1446 kg.obyv.rok-1 (obrázok 3).



Zdroj: ŠÚ, COICOP, vlastné prepočty

Obrázok 3 Vývoj spotreby konzumného mlieka
Figure 3 Development of milk consumption

V roku 2011 spotreba konzumného mlieka v porovnaní s rokom 1995 poklesla z 74,2 kg na 52,6 kg (predbežné údaje) a predstavovala len 70,35 % úrovne spotreby

mlieka v roku 1995. Vývoj spotreby konzumného mlieka v hodnotenom období 1995 až 2011 na Slovensku

potravinarstvo

charakterizuje klesajúci lineárny trend vývoja a je vyjadrený funkciou o parametroch:

$$g_i = 79,996 - 1,88 t \quad R^2 = 0,948 \quad \alpha = 6,89E-09$$

$$F(1,15) = 134,48$$

$$(7,37E-08) \quad (6,89E-09)$$

Model vývoja spotreby konzumného mlieka na Slovensku charakterizovaný lineárnou funkciou je štatisticky preukazný $P < 0,01$ ($\alpha = 6,89E-09$) a z 94,8 % je vysvetlený parametrami tejto funkcie. Môžeme teda konštatovať, že pokles spotreby konzumného mlieka v hodnotenom období rokov 1995 až 2011 sa pohyboval priemerne ročne o 1,88 kg na obyvateľa. Klesajúci vývoj spotreby konzumného mlieka pozorujeme už od roku 2000, kedy spotreba klesla na úroveň 70 kg na obyvateľa a rok a následne od roku 2004 s poklesom priemernej ročnej spotreby pod 60 kg. Toto spotrebné správanie je zo zdravotného hľadiska deficitné. **Kajaba et al. (2008b)** poukazujú na reálne ohrozenie zdravotného stavu obyvateľstva kriticky nedostatočnou spotrebou mlieka a mliečnych výrobkov. Závažnosť nepriaznivého dopadu sa prednostne týka mladej generácie, u ktorej je optimálny príjem vápnika nevyhnutný pre správny vývoj kostného systému a budovanie kvalitnej kostnej denzity a zubov, najmä v detstve a počas dospievania.

Na klesajúcom trende spotreby konzumného mlieka v posledných desiatich rokoch sa podieľala predovšetkým zvyšujúca sa jednotková cena konzumného mlieka a mliečnych výrobkov, vývoj zamestnanosti a peňažné príjmy. Z výživového hľadiska pozitívne hodnotíme zvyšujúci nárast ponuky a dopytu jogurtov, syrov a kyslomliečnych výrobkov.

Spotreba konzumného mlieka (g_i) na Slovensku závisí vo veľkej miere od jeho jednotkovej spotrebiteľskej ceny (p_i). Z výsledkov vývoja spotreby mlieka a vývoja cien mlieka za roky 1995 až 2011 možno konštatovať

štatisticky preukaznú a silnú korelačnú závislosť ($r = 0,818$), ktorú vyjadruje regresná funkcia s parametrami:

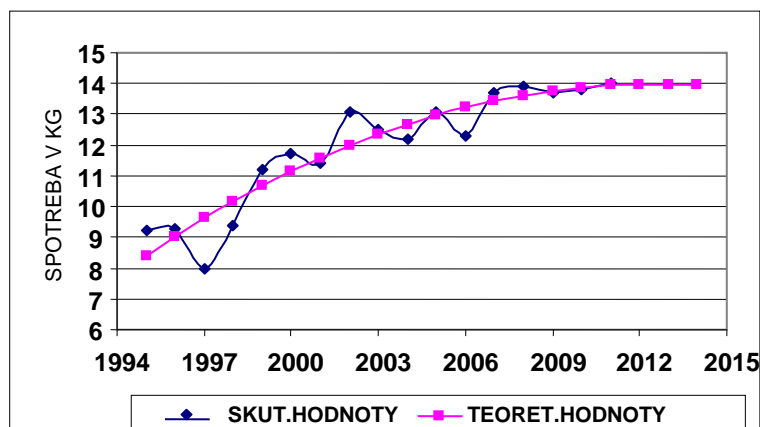
$$g_i = 112,0173 - 84,613 P_i \quad R^2 = 0,914 \quad F(1,14) =$$

$$71,56 \quad \alpha = 7,11E-07$$

$$(4,14E-11) \quad (1,48E-06)$$

Koeficient determinácie (R^2) poukazuje na skutočnosť, že až 90,46 % z celkového rozptylu spotreby konzumného mlieka je vysvetlené regresným modelom, teda vplyvom spotrebiteľskej ceny konzumného mlieka, kým len 9,54 % možno pripísať vplyvu iných, náhodných faktorov. Z parametrov regresnej rovnice možno usudzovať na základe vypočítanej cenovej elasticity dopytu ($EPD_i = 0,756$), že zvýšenie spotrebiteľskej ceny konzumného mlieka v obchodných reťazcoch o jedno percento podmieni ročný pokles jeho dopytu v priemere o 0,756 %. Ceny konzumného mlieka v hodnotenom období rokov 1995 až 2011 mali vzostupnú tendenciu a zvyšovali sa priemerným koeficientom rastu ($k' = 1,0341$) ročne o 3,41 %. K poklesu spotreby mlieka dochádza aj vo viacerých štátoch EÚ (**Sitárová, 2011**). V roku 2009 spotreba mlieka na obyvateľa medziročne poklesla v Poľsku o 27,7 %, v Lotyšsku o 2,6 %, v Estónsku o 2,2 %, ale aj v Dánsku a v Nemecku. Medziročne sa spotreba mlieka zvýšila v Maďarsku o 2,6 % a v Bulharsku o 1,4 %.

K výraznejšiemu poklesu spotreby konzumného mlieka určitou mierou prispievalo zvyšovanie cien mlieka, ako aj postupné rozširovanie ponuky kvalitných a ochutených kyslomliečnych výrobkov, predovšetkým jogurtov. Zvýšená a pestrá ponuka kyslomliečnych výrobkov domácej a zahraničnej produkcie spojená s pôsobením marketingovej komunikácie a širším rozpätím cenovej úrovne sa prejavili na zvyšovaní ich spotreby v priemere ročne o 2,66 % ($k' = 1,0266$) na obyvateľa (obr. 4).



Zdroj: ŠÚ SR, COICOP, vlastné prepočty
Obrázok 4 Vývoj spotreby kyslomliečnych výrobkov
Figure 4 Development of sour milk products

V roku 2011 bola spotreba kyslomliečnych výrobkov na úrovni 14,02 kg na obyvateľa a rok (predbežné údaje) a v porovnaní s rokom 1995 sa zvýšila o 4,8 kg. Napriek

priaznivým účinkom na zdravie nie je spotreba týchto produktov v populácii uspokojivá.

Vývoj spotreby kyslomliečnych výrobkov rokoch 1995 až 2011 možno vyjadriť obdobne ako aj vývoj spotreby mlieka

a mliečnych výrobkov kvadratickou (konvexnou) funkciou, ktorá je daná parametrami:

$$g_i = 7,7603 + 0,6748 t - 0,0183 t^2 \quad R^2 = 0,938$$

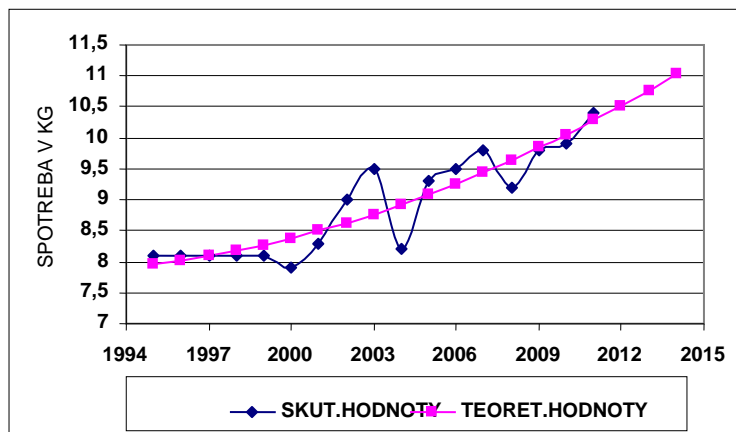
$$F(2,14) = 51,1 \quad \alpha = 3,68E-07$$

$$(2,42 E-09) \quad (0,00047) \quad (0,0391)$$

Kvadratický model spotreby kyslomliečnych výrobkov popisuje priebeh vývoja na 93,78 % ($R^2 = 0,938$) a je štatisticky preukazný na hladine významnosti $\alpha = 3,68 E-07$ a test ($F(2,14) = 51,1$). Na základe parametrov konvexného priebehu kvadratickej funkcie môžeme vyjadriť s rizikom chyby menšou než 5 % prognózu spotreby kyslomliečnych výrobkov, ktorá bude v roku 2014 na úrovni 13,936 kg na obyvateľa a rok.

S väčšími medziročnými výkyvmi než aké boli zaznamenané v dopyte po kyslomliečnych výrobkoch, sa medziročne zvyšovala aj spotreba syrov a tvarohov. Do roku 2000 bola spotreba syrov a tvarohu vyrovnaná a pohybovala sa na úrovni 8,0 kg. na obyv. a rok.

Po roku 2000 dochádza k výraznejšiemu zvyšovaniu dopytu po syroch, no pri väčších medziročných výkyvoch, než aké boli zaznamenané vo vývoji spotreby kyslomliečnych výrobkov. V roku 2011 bola dosiahnutá úroveň spotreby syrov a tvarohu 10,4 kg na obyvateľa (obr.5).



Zdroj: ŠÚ SR, COICOP ,vlastné prepočty
Obrázok 5 Vývoj spotreby syrov a tvarohu
Figure 5 Development of cheese and cottage

Vývoj spotreby syrov a tvarohu v hodnotenom období možno charakterizovať nasledovnou kvadratickou funkciou, ktorá nadobúda parametre:

$$g_i = 7,898 + 0,0476 t + 0,00545 t^2 \quad R^2 = 0,904 \quad \alpha = 6,81 E-06$$

$$(3,9 E-17) \quad (0,558) \quad (0,223)$$

Kvadratická funkcia, ktorá popisuje priebeh vývoja spotreby syrov a tvarohu z 90,4 % ($R^2 = 0,904$), je štatisticky preukazná na hladine významnosti $\alpha = 6,81 E-06$. S rizikom chyby odhadu menšou než 5 % je možno prognózovať vývoj spotreby syra a tvarohu v roku 2014 na úrovni 11,03 kg na obyvateľa a rok. Zvyšovanie spotreby syrov a tvarohu na Slovensku v hodnotenom období rokov 1995 až 2011 bolo v priemere o 1,57 % ($k' = 1,0157$) ročne na obyvateľa. Zmeny vo vývoji spotreby syrov a tvarohu neboli až natoľko ovplyvňované zmenami jednotkovej spotrebiteľskej ceny syrov (p_i) ako u konzumného mlieka, čo vyplýva z regresného modelu

$$g_i = 5,734 + 0,6038 P_i \quad R^2 = 0,522 \quad F(1,14) = 5,246$$

$$\alpha = 0,038$$

Prejavila sa slabá korelačná závislosť spotreby syrov a tvarohu na jeho jednotkovej spotrebiteľskej cene ($r = 0,272$). Tento vzťah je vysvetlený regresným modelom na základe koeficienta determinácie (R^2) len na 52,2 % závislosti od ceny syrov, kým 47,8 % možno pripísať vplyvu iných a v modeli nesledovaných faktoroch. Vývoj dopytu po syroch neprebíhal v súlade so zákonom ponuky a dopytu a zvyšovanie spotrebiteľskej ceny syrov a tvarohu nemalo v hodnotenom období rokov 1995 až 2011 za následok pokles dopytu a spotreby syrov a tvarohu (obr. 4).

V spotrebe syra a tvarohu Slovensko je na úrovni Bulharska a Maďarska. Výrazne zaostávame za spotrebou syra na obyvateľa v porovnaní s krajinami EÚ predovšetkým za Francúzskom, Nemeckom a Rakúskom (Sitárová, 2011). Medziročne sa spotreba syrov v roku 2009 zvýšila najmä v Bulharsku (19,8 %), v Poľsku (8,5 %), v Nemecku a Lotyšsku (o 1,7 %), pokles bol zaznamenaný v Rakúsku a v Maďarsku (tab. 1).

Tabuľka 1 Spotreba syrov vo vybraných štátoch EÚ (v kg.obyv.rok⁻¹.)

Krajina	Rok			Index 2009/2008
	2007	2008	2009	
Bulharsko	-	7,08	8,48	119,8
Nemecko	20,54	20,57	21,06	101,7
Maďarsko	8,95	9,07	9,00	99,2
Dánsko	23,90	23,88	23,92	100,2
Rakúsko	17,72	18,32	17,89	97,7
Estónsko	18,40	16,70	18,35	109,9
Lotyšsko	12,84	13,03	13,25	101,7
Poľsko	18,87	18,03	19,57	108,5

Zdroj: Eurostat

Výdavky na mlieko a mliečne výrobky v sledovaných domácnostiach vykazujú mierne medziročné kolísanie a zaužívanú doterajšiu úroveň vynakladania peňažných výdajov (tab. 2). Celkové peňažné výdaje na mlieko a mliečne výrobky sa za osemročné obdobie zvyšovali,

vyjadrené priemerným koeficientom rastu v priemere ročne len v domácnostiach zamestnancov o 0,93 %, v domácnostiach dôchodcov o 0,71% a v domácnostiach SZČO dokonca ročne poklesli o 0,03 % .

Tabuľka 2 Reálne peňažné výdaje na mlieko a mliečne výrobky v domácnostiach zamestnancov, SZČO dôchodcov v rokoch 2004 - 2011 v € na obyvateľa a rok

Roky	Zamestnanec	SZČO	Dôchodca
2004	116,75	124,37	146,97
2005	129,06	132,10	161,55
2006	120,08	115,79	144,56
2007	123,84	126,62	149,69
2008	127,75	128,90	152,31
2009	129,35	126,00	158,05
2010	125,73	130,02	165,62
2011	124,53	124,15	154,46
k'	1,0093	0,9997	1,0071

Zdroj: ŠÚ SR, COICOP, CPI - predchádzajúci rok = 100, vlastné prepočty

Dopyt po konzumnom mlieku

Dopyt (spotrebu) po konzumnom mlieku (g_i) vzhľadom na jeho spotrebiteľskú cenu (P_i) a priemerný ročný peňažný príjem (PR) v hodnotenom období rokov

2004 - 2011 vyjadrujú odhadnuté dopytové lineárne regresné funkcie, ktoré sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3 Odhady parametrov dopytových funkcií po konzumnom mlieku (g_i)

Domácnosť	$g_{ij} = b_0 + b_1 \text{ cena} + b_2 \text{ príjem}$	Elasticita		R^2
		E_{PDi}	E_{IDi}	
Zamestnanec	$g_{i,z} = 7,797 + 12,633 P_i + 0,00806 PR$	0,162	0,667	0,766*
SZČO	$g_{i,s} = 7,407 + 2,672 P_i + 0,00957 PR$	0,034	0,806	0,764*
Dôchodca	$g_{i,d} = 9,009 + 44,568 P_i + 0,00746 PR$	0,417	0,439	0,599*

Zdroj: ŠÚ SR, COICOP, vlastné výpočty

* model štatisticky preukazný na 10 % hladine významnosti ($\alpha < 0,10$)

ZÁVER

Počas sledovaného obdobia (1995 – 2011) mala spotreba mlieka a mliečnych výrobkov klesajúcu tendenciu. Na základe priemerného koeficienta rastu ($k' = 0,998$) možno konštatovať, že celkovo došlo k poklesu spotreby mlieka a mliečnych výrobkov v priemere o 0,998 kg na obyvateľa a rok. Spotreba mlieka a mliečnych výrobkov v posledných 17 rokoch vyjadrené lineárnou regresnou funkciou, klesala priemerne ročne o 0,490 kg na osobu a rok a v roku 2011 (158,8 kg/obyv./rok) dosiahla 97,78 % úrovne spotreby

v roku 1995 (162,4 kg/obyv./rok). Tento vývoj bol podmienený predovšetkým každoročným klesaním dopytu po konzumnom mlieku, keďže sa jeho spotreba s malými medziročnými výkyvmi znižovala v priemere ročne až o 1,88 kg na obyvateľa. Z konkávneho priebehu parametrov kvadratickej funkcie s rizikom chyby menšou než 5 % (0,0336) vyplýva odhadovaný vývoj spotreby mlieka a mliečnych výrobkov v roku 2014 do úrovne 158,2 kg na obyvateľa a rok. Na druhej strane pozitívne hodnotíme nárast sortimentu kyslomliečnych výrobkov a syrov, pretože ich spotreba sa v posledných sledovaných rokoch zvyšovala

vyjadrené priemerným koeficientom rastu v priemere o 0,6748 kg na obyvateľa a rok. Na Slovensku je možné spotrebu kyslomliečnych výrobkov ďalej zvyšovať väčšou propagáciou zdravotnej prospešnosti tejto skupiny mliečnych výrobkov. Prognosticky by sa mohla spotreba kyslomliečnych výrobkov v roku 2014 s päť percentným rizikom chyby odhadu zvýšiť na 13,936 kg na osobu a rok a spotreba syrov a tvarohu by sa zvyšovala v priemere o 0,0476 kg na osobu a rok a v roku 2014 by mohla dosiahnuť úroveň spotreby 11,03 kg na osobu a rok.

Na základe dopytu (spotreby) po konzumnom mlieku (gi) vzhľadom na jeho spotrebiteľskú cenu (Pi) a priemerný ročný peňažný príjem (PR) v hodnotenom období rokov 2004 – 2011, ktoré vyjadrujú odhadnuté dopytové lineárne regresné funkcie môžeme konštatovať, že koeficienty premeny vlastnej ceny konzumného mlieka nevyjadrujú teoretické zásady dopytu a zvýšenie vlastnej ceny mlieka nemalo za následok pokles jeho dopytu v sledovaných domácnostiach. Dopyt po konzumnom mlieku bol cenovo neelastický a relatívne nereagoval na zmenu ceny konzumného mlieka. Pri priemernej spotrebe 62,891 kg mlieka na obyvateľa a rok a priemernej spotrebiteľskej cene mlieka 0,589 za kg a príjme 3707,21 € na obyvateľa a rok v domácnostiach starobných dôchodcov, zvýšenie ceny mlieka o jedno percento podminilo zvýšenie jeho dopytu o 0,417 %. Zvýšenie peňažného príjmu dôchodcov o jedno percento malo za následok zvýšenie dopytu po konzumnom mlieku v priemere 0,439 %. V rodinách samostatne zárobkovo činných osôb (SZČO) zvýšenie ceny mlieka o jedno percento podminilo nárast jeho spotreby v priemere len o 0,034 %, kým zvyšovanie peňažných príjmov o jedno percento vyvolávalo zvyšovanie spotreby konzumného mlieka v priemere až o 0,806 % a približovalo sa k hranici jedného percenta. Podobná tendencia premeny vlastnej ceny konzumného mlieka a premeny peňažných príjmov sa prejavila aj v rodinách zamestnancov, keď jedno percentné zvýšenie ceny konzumného mlieka podminilo nárast jeho dopytu o 0,162 % a jedno percentné zvýšenie peňažného príjmu sa prejavilo na náraste dopytu o 0,667 %.

LITERARÚRA

- BIELIK, P., HUPKOVÁ, D. 2010. *Trhové vzťahy v potravinovej vertikále živočíšnych produktov*. Nitra : SPU v Nitre, 2008, 128 p. ISBN 978-80-552-04352-2
- BONGARD, V., RUIDAVETS, J. B., SIMON, CH. et al. 2012. Consumption of milk is associated with a reduced risk of mortality in middle-aged men. In *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, vol. 4, 2012, no. 1, p. 100.
- GRZNÁR, M., KURÁŠEK, P., TRŠŤANSKÁ, A., VYBÍRALOVÁ, J. 2004. *Trh potravín a jeho fungovanie*. 1. vyd. Bratislava : Ekonóm, 2004. 214 p. ISBN 80-225-1754-2
- HABÁNOVÁ, M. 2003. *Spotreba mlieka a mliečnych výrobkov*. In : Mlieko a mliečne výrobky vo výžive ľudí, SPU v Nitre, 2003, p. 5 - 8. ISBN 80-8069-197-5.
- HABÁNOVÁ, M. 2005. *Nutričná epidemiológia* 1. vyd. Nitra : VES SPU v Nitre, 2005, 112 p. ISBN 80-8069-542-3.

HABÁNOVÁ, M., LORKOVÁ, M., KOPČEKOVÁ, J. 2010. The consumption of acidophylus drinks and yogurts in selected population of pupils in years 2004 and 2008 In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, no. 3, p. 19-23.

JURKOVIČOVÁ, J. 2005. *Vieme zdravo žiť?* Univerzita Komenského v Bratislave : Bratislava, 2005, 166 p. ISBN 80-223-2132-X.

KAJABA, I., ŠEVČÍK, J., HRUBÝ, S., VALACHOVIČOVÁ, M., URBÁNEK, V. 2008a. *Možnosti aktivní prevence výživou u civilizačných chorob*. In : Výživa a zdraví, ČLS J. E. Purkyně Praha a ZÚ Ústí nad Labem, 2008, s. 20 – 33.

KAJABA, I., ŠIMONČIČ, R., FRECEROVÁ, K., SALKAYOVÁ, I. 2008b. Možnosti využitia mlieka a mliečnych výrobkov v prevencii niektorých karcinómov - súčasne názory. In *Lekársky Obzor*, vol. 57, 2008, no. 11, p. 466-471.

KLEINOVÁ, K., KRETTNER, A. 2011. *Imidž domácich a zahraničných potravín na trhu SR*. Nitra: SPU v Nitre, 2011. 98 p. ISBN 978-80-552-0552-6.

KUBICOVÁ, E. 2008. *Vývoj spotrebiteľského dopytu po potravinách*. Nitra : SPU v Nitre, 2008, 86 p. ISBN 978-80-552-0092-7

KUBICOVÁ, E., DOBÁK, D. 2012. *Vývoj a úroveň spotreby mlieka a mliečnych výrobkov v SR a modelovanie dopytu po potravinách vo vybraných skupinách domácnosti*. Nitra : SPU v Nitre, 2008, 88 p. ISBN 978-80-552-0821-3

NICKLAS, T. A., O'NEIL, C. E., FULGONI, V. L. 2009. The role of dairy in meeting the recommendations for shortfall nutrients in the American diet. In *J. Am. Coll. Nutr.*, vol. 28, 2009, suppl. 1, p.73S-81S.

SITÁROVÁ, T. 2011. Spotreba potravín 2010. [online], 29 p. Retrieved from the web: <http://portal.statistics.sk/files/Sekcie/sek_600/publikacia-spotreba-potravin-2010_2.pdf>.

ŠÚ SR. [online], Príjmy, výdavky a spotreba súkromných domácností SR 2005-2012. Retrieved from the web: <<http://www.statistics.sk/pls/eliw/MetaInfo.explorer?obj=42&cmd=go&s=1002&sso=2&so=40>>.

VINCÚR, P. 2000. *Makroekonomická analýza a prognóza*. 1. vyd. Bratislava : Sprint víra, 2000. 293 p. ISBN 80-88848-65-2

ZENTKOVÁ, I., HOŠKOVÁ, E. 2010. *Vplyv potravinovej a agrárnej politiky na trh s potravinami*. Nitra : SPU v Nitre, 2010, 110 p. ISBN 978-80-552-0439-0

Acknowledgments:

This work was supported by grants VEGA 1/0166/13 a KEGA 025SPU-4/2012.

Contact address:

Ing. Ľubica Kubicová, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Economics and Management, Department of Marketing, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: Lubica.Kubicova@uniag.sk

doc. Ing. Marta Habánová, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Department of Human Nutrition, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: Marta.Habanova@uniag.sk

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



**KATEDRA HYGIENY
A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN**

IX. VEDECKÁ KONFERENCIA S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU

**BEZPEČNOSŤ A KONTROLA
POTRAVÍN**

28. – 29. marca 2012
Nitra, Slovenská republika



**KATEDRA HYGIENY
A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN**

**Predmety zabezpečované katedrou na bakalárskom a inžinierskom
stupni štúdia**

Predmet	Gestor	Vyučujúci
Hygiena potravín*	prof. Ing. Jozef Golian, Dr.	prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD. Ing. Simona Kunová, PhD. Ing. Ondrej Revák
Legislatíva a kontrola potravín*	prof. Ing. Jozef Golian, Dr.	prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ing. Jozef Čapla, PhD. Ing. Pavol Bajzík
Bezpečnosť potravín*	prof. Ing. Jozef Golian, Dr.	prof. Ing. Jozef Golian, Dr. MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD.
Hygiena výživy a stravovania	Ing. Lucia Zeleňáková, PhD.	Ing. Lucia Zeleňáková, PhD. Ing. Ľubomír Belej Ing. Jana Tkáčová
Ochorenia z potravín*	Ing. Lucia Zeleňáková, PhD.	Ing. Lucia Zeleňáková, PhD. Ing. Jana Tkáčová
Sanitácia v potravinárstve*	Ing. Simona Kunová, PhD.	Ing. Simona Kunová, PhD. Ing. Pavol Bajzík
Falšovanie a autentifikácia potravín	Ing. Alica Bobková, PhD.	Ing. Martina Fikselová, PhD. Ing. Alica Bobková, PhD.
Všeobecná hygiena potravín	MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD.	MVDr. Ľubomír Lopašovský Ing. Ľubica Mrázová
Ochrana zvierat a produkcia potravín*	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc. Ing. Martin Kliment
Správna hygienická prax v potravinárstve*	Ing. Jozef Čapla, PhD.	Ing. Jozef Čapla, PhD.
Hygiena distribúcie a predaja potravín	Ing. Peter Zajác, PhD.	Ing. Peter Zajác, PhD. Ing. Ľubomír Belej
Verejné zdravie a produkcia potravín	Ing. Alica Bobková, PhD.	Ing. Alica Bobková, PhD.
Epidemiológia a alergie z potravín	MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD.	MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD. Ing. Martina Fikselová, PhD.
Riziká pri produkcii potravín*	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.
Hodnotenie rizík	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.	prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc. Ing. Simona Kunová, PhD.
Akreditácia a certifikácia v potravinárstve	Ing. Peter Zajác, PhD.	Ing. Peter Zajác, PhD.
Zdravotná bezpečnosť potravín	Ing. Martina Fikselová, PhD.	Ing. Martina Fikselová, PhD.
Imunoanalýzy v biológii a potravinárstve*	Ing. Radoslav Židek, PhD	Ing. Radoslav Židek, PhD. Ing. Lenka Maršáľková
Seminár k praxi	Ing. Dagmar Kozelová, PhD	Ing. Dagmar Kozelová, PhD.
Teória metodológia záverečnej práce	prof. Ing. Jozef Golian, Dr.	prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ing. Dagmar Kozelová, PhD.
Informačné zdroje v biológii a potravinárstve	Ing. Jozef Čurlej, PhD.	Ing. Jozef Čurlej, PhD.

* Predmety označené hviezdíčkou sa vyučujú aj v anglickom jazyku.

Prihláška

na vedeckú konferenciu s medzinárodnou účasťou

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

Priezvisko a meno, tituly:

Pracovisko a adresa:

Tel.: E-mail:

Prihlasujem:

prednášku:

poster:

Objednávka na ubytovanie

Žiadam o ubytovanie na noc* :

z 27.3. na 28. 3. 2012 áno nie

z 28. 3. na 29. 3. 2012 áno nie

.....
podpis účastníka

* Ubytovanie si hradí každý účastník sám na mieste.

Ubytovanie je možné telefonicky zabezpečiť do 10. marca 2012:

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

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

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

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA

SLOVENSKEJ POĽNOHOSPODÁRSKEJ UNIVERZITY
V NITRE

KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN



IX. VEDECKÁ KONFERENCIA S MEDZINÁRODNOU
ÚČASŤOU

**BEZPEČNOSŤ A KONTROLA
POTRAVÍN**

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



Školenia pre potravinárske firmy

Školenia sú akreditované Ministerstvom školstva SR

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

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

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

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

HISTOLOGICAL CHANGES IN POECILIA RETICULATA AFTER INTERACTION OF IONIZING RADIATION AND ZINC SULFID <i>Viera Almasiova, Andrej Renčko, Katarína Holovská, Michaela Špalková</i>	1-4
QUANTIFICATION OF GENETICALLY MODIFIED MAIZE MON 810 IN PROCESSED FOODS <i>Eva Bergerová, Zuzana Godálová, Peter Siekel</i>	5-10
EFFECTIVE ANTIOXIDANT PHENOLIC COMPOUNDS IN SELECTED VARIETIES OF APPLES <i>Dominika Bončíková, Tomáš Tóth, Ján Tomáš, Dalaram Suleiman, Juraj Tóth, Marek Slávik</i>	11-15
'OBWARZANEK KRAKOWSKI' AS A TRADITIONAL FOOD <i>Dorota Galkowska, Joanna Sobolewska-Zielińska</i>	16-19
THE CADMIUM INTAKE OF SELECTED LEGUMES IN MODEL CONDITIONS <i>Ľuboš Harangozo, Radovan Stanovič, Július Árvay, Pavol Trebichalský</i>	20-23
EFFECT OF NITROGEN APPLICATION ON SELECTED NUTRITIONAL COMPONENTS OF POTATO TUBERS <i>Diana Hrabovská, Janette Musilová, Judita Bystrická, Ján Tomáš, Daniel Bajčan</i>	24-27
INFLUENCE OF MEAT MATURATION TO THE PRESENCE OF COLIFORM BACTERIA <i>Simona Kunová, Klára Vavrišínová, Miroslava Kačániová, Juraj Čuboň, Dagmar Kozelová, Ľubomír Lopašovský</i>	28-31
APPLICATION OF NISIN INTO SLOVAK FERMENTED SALAMI PÚCHOV <i>Andrea Laukova, Peter Turek</i>	32-35
INFLUENCE OF LIFETIME EXPOSURE OF SUBLETHAL DOSES OF CADMIUM TO SELECTED PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM <i>Agnesa Lukačínová, Jaroslava Nováková, Eva Lovásová, Iveta Cimboláková, František Ništiar</i>	36-40
MICROBIAL STATUS AND QUALITY OF RABBIT MEAT AFTER RABBITS FEED SUPPLEMENTATION WITH PHYTO-ADDITIVES <i>Monika Pogány Simonová, Andrea Lauková, Ľubica Chrastinová, Renáta Szabóová, Viola Strompfová</i>	41-44
COMPARISON OF THE QUALITY OF VEGETABLE OILS DESIGNED FOR THE FRYING FOOD <i>Lucia Zeleňáková, Silvia Pastyriková, Radoslav Židek, Ladislav Mura</i>	45-51
EFFECT OF SELECTED FEED ADDITIVES ON INTERNAL QUALITY PARAMETERS OF TABLE EGGS <i>Henrieta Arpášová, Miroslava Kačániová, Peter Haščík, Veronika Šidlová</i>	52-61
XENOBIOTICS AND BIOGENIC ELEMENTS IN RAW COW'S MILK <i>Anetta Lukáčová, Dominika Gajdošová, Peter Massányi, Jozef Golian, Agnieszka Greń</i>	62-65
DEVELOPMENT OF MILK CONSUMPTION AND MARKETING ANALYSIS OF ITS DEMAND <i>Ľubica Kubicová, Marta Habánová</i>	66-72

H A C C P

C O N S U L T I N G

PODPORUJEME VEDU A VÝSKUM

www.haccp.sk