

3

2011



Vedecký časopis pre potravinárstvo

Scientific Journal for Food Industry

číslo

[www.potravinarstvo.com](http://www.potravinarstvo.com)

ročník 5  
číslo 3  
júl 2011

potravinárstvo 3 (5)  
ISSN 1338-0230 (tlačaná verzia)  
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)

## Potravinárstvo

### Vedecký časopis pre potravinárstvo

**Šéfredaktor:**

Ing. Peter Zajác, PhD.  
SPU Nitra

**Zástupca šéf redaktora:**

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

**Redaktori:**

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

**Predseda redakčnej rady:**

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

**Redakčná rada:**

doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, PhD.,  
VFU Brno  
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.,  
UTB Zlín  
prof. MVDr. Jozef Nagy, PhD.,  
UVL Košice  
doc. Ing. Jolana Karovičová, CSc.,  
STU Bratislava  
doc. Ing. Róbert Toman, Dr.,  
SPU Nitra  
prof. Dr. Teresa Fortuna, DSc.,  
UA Krakow, Poľsko  
prof. Tadeusz Trziszka, Ph.D., DSc.,  
Wroclav, Poľsko  
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:** 5, č. 3/2011 • Vedecký časopis pre potravinárstvo • Scientific Journal for Food Industry • **Vydavateľ:** Ing. Peter Zajác, HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce. Vydavateľ úzko spolupracuje s Katedrou hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre • **Nakladateľ:** Združenie HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **Periodicita:** vychádza 4x do roka • **Internetová stránka časopisu:** [www.potravinarstvo.com](http://www.potravinarstvo.com) • **Adresa redakcie:** Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **E-mail:** [info@potravinarstvo.com](mailto:info@potravinarstvo.com) • **Tel.:** +421908164361, +421904138562 • **Jazyková úprava:** Publikované články neprešli jazykovou úpravou • **Grafická úprava:** Flame-studio Nitra • **Tlač:** SPU Nitra • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **Náklad:** 150 ks • **Miesto vydania:** Nitra • **Právne informácie a autorské práva:** Za obsah jednotlivých článkov zodpovedajú autori. Za obsah inzerátov zodpovedajú inzerenti • Časopis je indexovaný v databázach: UIUC OAI registry, OAIster, AGRIS FAO, Google Scholar a CrossRef • **Názov a skratka pomocou ktorých je časopis indexovaný v medzinárodných databázach:** *Potravinarstvo, Potr.*

Všetky práva vyhradené, © 2011 Potravinárstvo®  
Evidenčné číslo Ministerstva kultúry SR: 3771/09  
ISSN 1338-0230 (tlačaná verzia)



Katedra hygieny a bezpečnosti  
potravín



**OPTIMALISATION OF SPECIES IDENTIFICATION OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*) USING SYBR® GREEN I REAL-TIME PCR METHOD**

*Pavol Bajzík, Radoslav Židek, Jozef Golian, Eubomír Belej, Jozef Čapla, Lenka Maršáľková, Ondrej Revák*

**ABSTRACT**

European Union Member States, together with a number of countries around the world, places great emphasis on ensuring the protection of consumers as a potential food allergic from food allergies. to inform consumers that their product may contain any of the risk of allergenic ingredients. For species identification of fish and fish products as a potential food allergens are used by many analytical methods as well as their authentication. We are in our work applied the method of SYBR® Green I. Real-Time PCR. We focused on pre-designed molecular - genetic marker of common carp (*Cyprinus carpio*), which comes from the mtDNA control D - loop area. We analyzed its presence in DNA isolates from the 5 kinds of freshwater fish, diluted to 10 % concentration. Results of using the optimized SYBR® Green I Real-Time PCR method for species identification common carp (*Cyprinus carpio*) indicate to its suitability.

**Keywords:** species identification, SYBR® Green I. Real-Time PCR, *Cyprinus carpio*

---

**ÚVOD**

Potreba identifikácie rybiech produktov v potravinách je v súčasnosti aktuálnou témou pre spotrebiteľov, ako aj producentov potravín. Záujem spotrebiteľov je motivovaný na jednej strane zdravou životosprávu, ktorá preferuje rybie produkty, ako nenahraditeľnú zložku potravy a na druhej strane, je to potenciálny alergén spôsobujúci zdravotné problémy u ľudí alergických na rybie proteíny. Alergia je jav, ktorý výrazne ovplyvňuje ľudské zdravie, ako aj celkovú dĺžku života jedinca. Prevažná časť populácie znáša rôzne druhy potravín bez akýchkoľvek zdravotných problémov. U malého percenta ľudí určité druhy potravín môžu vyvolať negatívne reakcie, v rozmedzí od ľahkého začervenania kože až po fatálne, život ohrozujúce alergické reakcie (Rimárová, Lovayová, 2007).

Potravinové alergie predstavujú v súčasnosti rastúci problém pre rýchlo sa rozvíjajúci potravinársky priemysel. Štatistiky uvádzajú, že celosvetovo v priemere 4 - 6 % detí a 2 - 4 % dospelaj populácie trpí rôznymi formami potravinových alergií (Boye, 2010).

V USA sa výskyt nežiaducich imunitných reakcií na potraviny neustále zvyšuje. Potravinovými alergiami pritom trpí približne 5 % malých detí a 3 - 4 % dospelých. Alergické reakcie sú zodpovedné za celý rad symptómov od poškodenia kože, cez poruchy dýchacieho ústrojenstva až po gastrointestinálne ťažkosti (Sicherer, Sampson 2010).

Na území Európy sú ryby a výrobky z rýb hneď po vajciach a kravskom mlieku tretím najčastejším potravinovým alergénom spôsobujúcim ochorenia u detí mladších ako 2 roky. Prevencia spočíva hlavne v eliminácii konzumácie rýb a rybiech zložiek v potravinách, a to najmä v takých krajinách, kde je ich konzumácia vysoká. Jedná sa hlavne o Škandinávске krajiny, Španielsko a Portugalsko (Pascual, 2008).

Detekcia alergénnych zložiek v potravinách si získava v posledných rokoch stále väčšiu pozornosť potravinárskeho priemyslu a taktiež legislatívnych a regulačných orgánov. Výsledkom toho sú zlepšené opatrenia zamerané na ochranu spotrebiteľov pred

alergénymi potravinami. Riadená výroba potravinárskych výrobkov a kontrolná činnosť inšpekčných orgánov dohliada na dostupnosť metód schopných zistiť prítomnosť alergénnych zložiek v potravinách. Rozvoj týchto metód však čelí množstvu analytických problémov. Výskumní pracovníci na celom svete neustále vyvíjajú nové metódy pre detekciu prítomnosti množstva potravinových alergénov v rôznych potravinárskych výrobkoch. Niekoľko metód, ktoré boli doteraz vyvinuté, sú schopné odhaľovať prítomnosť alergénov, čo vedie k zlepšeniu ochrany zdravia spotrebiteľov. Avšak, nie všetky hlavné alergény sa dajú detegovať z rovnakou spoľahlivosťou. Stále je tu potrebný výskum týkajúci sa presnosti, citlivosti, časovej a finančnej náročnosti, selektivity a spoľahlivosti zvolených analytických metód (van Hengel, 2007).

Niektoré z analytických metód nevyužívajú na detekciu prítomnosti alergénnych zložiek špecifické alergénne proteíny, ale skôr indikačný marker prítomnosti potenciálnych alergénnych potravín. V zásade však všetky komponenty, ktoré sú zodpovedné za alergénnosť potravín môžu slúžiť ako marker pre ich odhalenie prítomnosti v potravinárskych výrobkoch. V praxi sa ako cieľové markery pre tento účel využívajú špecifické proteíny, alebo špecificky navrhnuté primery komplementárne k cieľovej sekvencii DNA (Poms et al., 2004).

Identifikácia rybiech druhov v potravinových produktoch je problematická, pretože morfológické znaky rýb sú čiastočne alebo kompletne stratené počas tepelnej úpravy. Je dôležité určiť druh ryby, pretože zvyšujúci sa medzinárodný obchod s morskými produktmi a nariadenie Európskej komisie 104/2000 požadujú, aby boli korektné a správne označené. V posledných rokoch bol z dôvodu zmeny správania spotrebiteľov zaznamenaný veľký nárast v konzumácii rýb a to hlavne zo zdravotných a nutričných dôvodov. Rybie druhy môžu byť identifikované erudovanými rybármi, veľkoobchodníkmi, majiteľmi reštaurácií a spotrebiteľmi, pokiaľ je ryba v celku. Avšak, ak je ryba vo forme filetu, identifikácia je ťažšia. Ďalšie komplikácie prichádzajú

s úpravou rýb (mletie, obaľovanie, pečenie). Tu je riziko, že môže úmyselne alebo neúmyselne prichádzať k zámene hodnotnejších rýb, za ryby s nižšou hodnotou (Mackie, 1996).

Pre rybie druhy bolo vyvinutých mnoho analytických metód, ktoré sú vykonávané prostredníctvom proteínových analýz: elektroforetické ako aj izoelektrické techniky a SDS-PAGE (Ataman et al., 2006; Kvasnička, 2005); chromatografické techniky (Hubalkova et al., 2007; Horstkotte a Rehbein, 2003) a imunologické techniky ako imunodifúzia a ELISA (Asensio et al., 2008; Civera, et al., 2003; Moretti et al., 2003). Hoci mnohé z týchto metód sú považované v určitých prípadoch za vhodné, nie sú použiteľné pre rutinnú analýzu, pretože proteíny strácajú biologickú aktivitu ihneď po smrti zvieratá a ich prítomnosť a charakteristika závisí od typu bunky. Okrem toho je väčšina z nich termolabilná. Preto sú pre identifikáciu tepelne spracovaných produktov z rybiech druhov preferované DNA metódy viac ako proteínové (Asensio, 2007; Dietrich et al., 2010).

V porovnaní s analýzami proteínov predstavujú DNA orientované metódy niekoľko zásadných výhod. Na analyzované vzorky DNA môžeme vplývať rôznymi druhmi spracovania (konzervovanie, tepelná úprava). Molekuly DNA sú odolnejšie a termostabilnejšie ako molekuly proteínov. Už aj veľmi malé DNA fragmenty, obsahujúce dostatočné množstvo informácií, je možné amplifikovať pomocou PCR reakcie a zabezpečiť ich identifikáciu. DNA môže byť potenciálne vyizolovaná z akéhokoľvek substrátu, pretože je prítomná takmer vo všetkých bunkách organizmu. Navyše degenerovanosťou genetického kódu a prítomnosťou mnohých nekódovaných regiónov, poskytuje DNA oveľa viac informácií ako bielkoviny. Znamená to obrovský pokrok v molekulárnej biológii, kde sú poskytnuté možnosti identifikácie všetkých druhov rýb, v podstate z akéhokoľvek druhu organického substrátu (svaly, plutvy, krv) (Lockley a Bardsley, 2000; Teletchea et al., 2005).

**Tabuľka 1** Vybrané druhy sladkovodných rýb

Číslo vzorky	Slovenský názov	Latinský názov
1.	Lipeň tymiánový	<i>Thymallus thymallus</i>
2.	Úhor sťahovavý	<i>Anguilla anguilla</i>
3.	Štuka severná	<i>Esox lucius</i>
4.	Jalec hlavatý	<i>Leuciscus cephalus</i>
5.	Kapor obyčajný (pozitívna kontrola)	<i>Cyprinus carpio</i>
6.	CYBR H <sub>2</sub> O (negatívna kontrola)	

**Tabuľka 2** Zloženie mastermixu pre vzorku

Číslo označenia v sklade	Komponenty PCR reakcie	Koncentrácia	Objem jednej vzory (μl)	Objem 6 vzoriek (μl)
126	CYBR H <sub>2</sub> O		15	90,0
124	SYBR Green I	1x	2	12,0
125	CYBR MgCl <sub>2</sub> 25 mM	1,5 mM	0,8	4,8
107	CARP – F	0,5 pmol/ μl	0,1	0,6
108	CARP – R	0,5 pmol/μl	0,1	0,6
	DNA		2	12,0
Σ			20	120,0

### MATERIÁL A METÓDY

DNA sme izolovali z 5-tich druhov sladkovodných rýb (tabuľka 1) pričom sme pracovali podľa protokolu na izoláciu čistej DNA z jedla. DNA vzoriek sme následne zriedili na 10 % koncentráciu.

Primerový pár použitý na analýzy bol navrhnutý v súlade s metódikou (Židek a Golian, 2008). Sekvencie primerov boli nasledovné:

- Carp1-F (5'-TGGCATCTGGTTCCTATTTCA-3'),
  - Carp1-R(5'-CCAAAGGGGGCACTATGTAA-3'),
- pričom amplifikujú 321 bp dlhý úsek fragmentu DNA špecifického pre všetky druhové línie kapra obyčajného (*Cyprinus carpio*).

Hlavnou zložkou v objeme reakčnej zmesi (mastermix) bol 2 μl SYBR<sup>®</sup> Green I Hot Start Real-Time PCR, ktorý

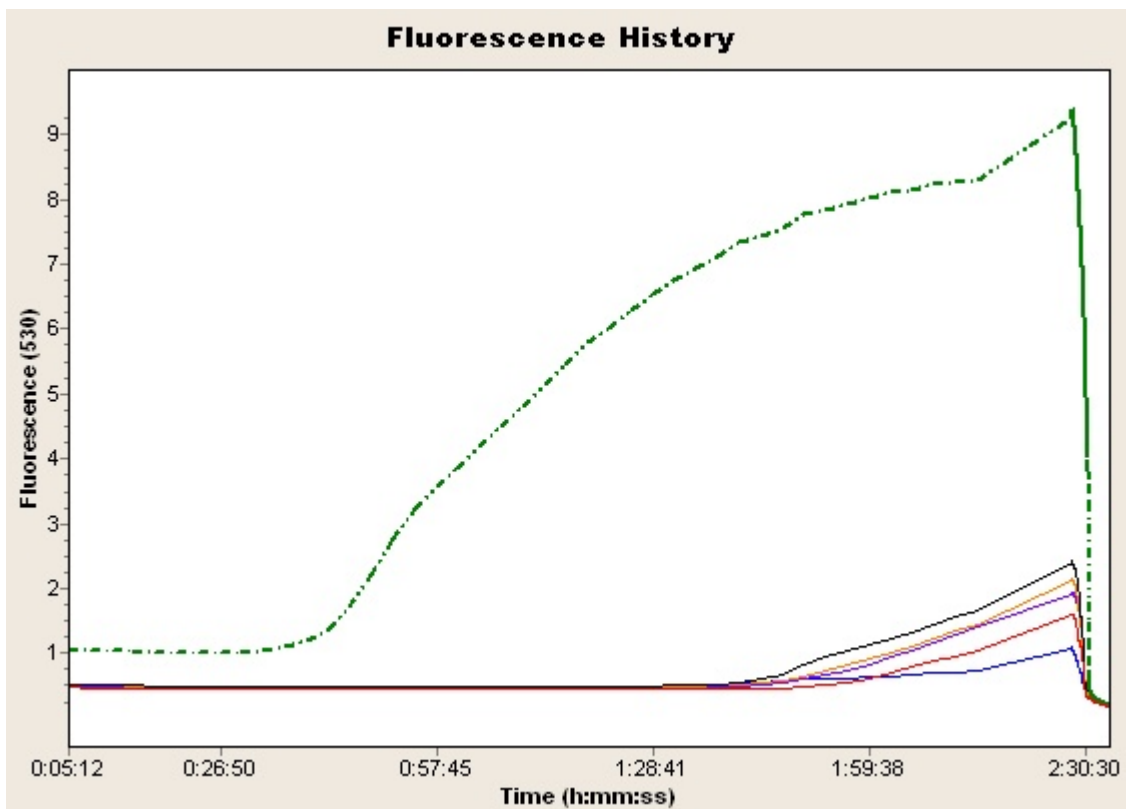
bol doplnený o 0,8 μl CYBR MgCl<sub>2</sub>, ďalej 0,1 μl z každého primeru a 2 μl templátovej DNA na reakciu. Reakčný roztok bol doplnený 15 μl bidestilovanej vody do celkového objemu 20 μl (Tab. 2).

PCR cyklus začal pre-denaturáciou pri teplote 95 °C po dobu 2 minút. Následne bolo zopakovaných 50 cyklov s teplotným profilom: 45 s. pri 95 °C, 45 s. pri 60 °C, 1 min. 20 s. pri 72 °C s následným meraním fluorescence. Finálne predĺžovanie fragmentov prebehlo pri 72 °C po dobu 10 minút. Krivka topenia PCR produktov bola spustená zahriatím vzorky na 95 °C a okamžitým schladením na 65 °C po dobu 15 sekúnd. Vzorka bola zahrievaná rýchlosťou 0,1 °C za sekundu a pri každej zmene teploty o desatinu stupňa bola odmeraná fluorescence. PCR reakcia prebiehala v kapilárovom

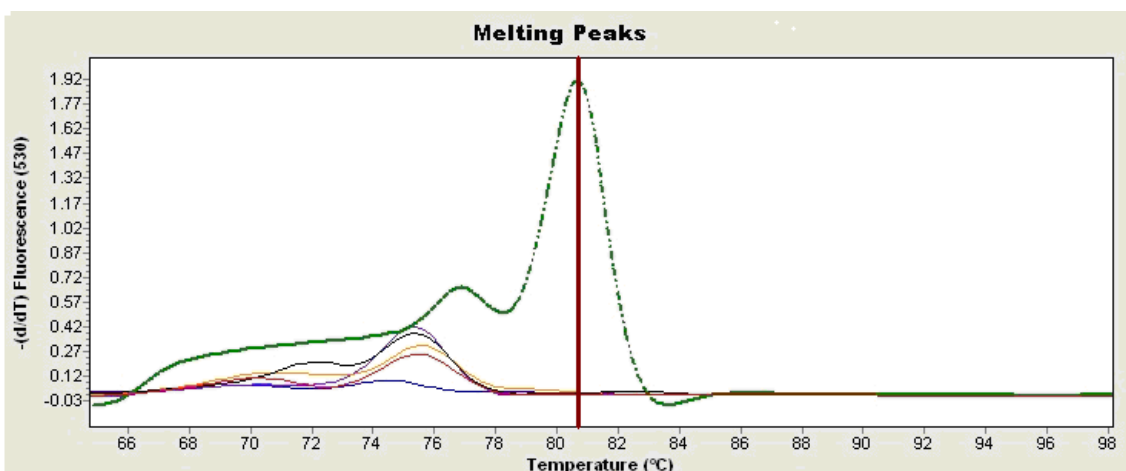
**VÝSLEDKY A DISKUSIA**

Ako vyplýva z obrázku 1 k najvčasnejšiemu nárastu fluorescence a k vytvoreniu špecifickej krivky so svojou exponenciálnou a lineárnou fázou došlo pri pozitívnej kontrole (kapor obyčajný). V ostatných vzorkách (lípeň tymiánový, úhor s'ahovavý, jalec hlavatý, š'uka severská, negatívna kontrola - CYBR H<sub>2</sub>O) došlo k minimálnemu nárastu fluorescence, pričom vytvorené krivky neboli natoľko špecifické, aby sme mohli povedať, že došlo ku prekročeniu špecifického pozadia.

Na základe obrázku 2 môžeme vytvoriť analýzu sledovaných kriviek, pričom krivka predstavujúca PCR produkt pozitívnej kontroly (kapor obyčajný) obsahuje charakteristický pik (vytvorený pri teplote topenia 80,72 °C), ktorý nám poukazuje na špecifické nasadenie použitého primerového páru. Pri ostatných krivkách PCR produktov zo vzoriek (lípeň tymiánový, úhor s'ahovavý, jalec hlavatý, š'uka severská, negatívna kontrola - CYBR H<sub>2</sub>O) môžeme pozorovať vytvorenie nešpecifického pik, čo znamená, že použitý primerový pár je pre tieto vzorky nešpecifický.



**Obrázok 1** Priebek nárastu fluorescence PCR produktov pri vzorkách vybraných druhov rýb



**Obrázok 2** Priebek krivky topenia PCR produktov pri vzorkách vybraných druhov rýb

Trotta et al., (2005) využili real-time PCR pre identifikáciu rybích filetov kanic (druh západoindickej a austrálskej ryby) a jej príbuzných druhov. Hird et al., (2005) túto metódu využili na identifikáciu treskovitých rýb. Prítomnosť tejto ryby s koncentráciou viac ako 7 %

### ZÁVER

V priebehu evolúcie a domestikácie rýb sa vyvinulo veľké množstvo línií a tým vznikla v ich genóme početná medzidruhová variabilita. Vzhľadom na tento fakt, je potrebné vyvinúť univerzálny marker na identifikáciu druhov vo všetkých ich líniách. Ďalšou podmienkou pre zabezpečenie alergénnej bezpečnosti finálnych výrobkov je identifikácia a detekcia rybích proteínov aj v rôzne tepelne upravených potravinových výrobkoch.

Ako prostriedok na zohľadnenie oboch vyššie spomenutých požiadaviek sme využili vlastnosti mitochondriálnej DNA. Mitochondriálna DNA vo svojom genóme obsahuje vysoko konzervované úseky

### LITERATÚRA

ASENSIO, L., MONTERO, A., 2008. Analysis of fresh fish labeling in Spanish fish retail shops. In *Food Control*, vol. 19, 2008, p. 795-799.

ATAMAN, C., CELIK U., REHBEIN H., 2006. Identification of some Aegean fish species by native isoelectric focusing. In *European Food Research and Technology*, vol. 222, 2006, p. 99-104.

BOYE, J. I., 2010. *Allergen management in the food industry*. New Jersey : Wiley, 2010. 624 p. ISBN 978-0-470-22735-0.

CIVERA, T., 2003. Species identification and safety of fish products. In *Veterinary Research Communications*, vol. 27, 2003, p. 481-489.

DIETRICH, M. A., NYNCA, J., BILIŇSKA, B., KUBA, J., KOTULA-BALAK, M., KAROL, M., CIERESZKO, A., 2010. Identification of parvalbumin-like protein as a major protein of common carp (*Cyprinus carpio L*) spermatozoa which appears during final stage of spermatogenesis. In *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, vol. 157. 2010, p. 220-227.

GIL, L. A., 2007. PCR-based methods for fish and fishery products authentication. In *Food Science & Technology*, vol. 18, 2007, p. 558-566.

HIRD, H. J., HOLD, G. L., CHRISHOLM, J., REECE, P., RUSSELL, V. J., BROWN, J., 2005. Development of a method for the quantification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in commercial products using real-time PCR. In *European Food Research and Technology*, vol. 220, 2005, p. 633-637.

HORSTKOTTE, B., REHBEIN, H., 2003. Fish species identification by means of restriction fragment length polymorphism and high performance liquid chromatography. In *Journal of Food Science*, vol. 68, 2003, p. 2658-2666.

HUBALKOVA, Z., KRALIK, P., TREMLOVA, B., 2007. Methods of gadoid fish species identification in food and their economic impact in the Czech Republic:

môže byť detegovaná v surovom, alebo mierne tepelne upravenom produkte.

PCR metódy vrátane komerčných kitov sú vhodné na zistenie autenticity rýb a rybích produktov, čo dokázal vo svojej práci Gil (2007) a podľa neho sa dajú použiť pri ochrane zákazníka pred falšovanými výrobkami.

v kontrolných oblastiach spoločné pre všetky línie jednotlivých druhov. Okrem toho počas tepelnej úpravy DNA nedenukuje, len fragmentuje, čím sa stáva vhodným analytom.

Výsledky použitia SYBR® Green I Real-Time PCR metódy, na druhovú identifikáciu kapra obyčajného (*Cyprinus carpio*) poukazujú na jej vhodnosť. Včasný nárast intenzity fluorescence, vytvorenie charakteristickej krivky a vytvorenie charakteristického piketu, nám pri pozitívnej kontrole poukazujú na špecifické nasadenie použitého primerového páru a vhodnosť navrhnutého molekulárno-genetického markera.

a review. In *Veterinary Medicine*, vol. 52, 2007, p. 273-292.

KVASNIČKA, F., 2005. Capillary electrophoresis in food authenticity. In *Journal of Separation Science*. vol. 28, 2005, p. 813-825.

LOCKLEY, A. K., BARDSLEY, R. G., 2000. DNA-based methods for food authentication. In *Trends in Food Science and Technology*, vol.11, 2000, p. 67-77.

MACKIE, I. M., 1996. Authenticity of fish. P. R. Ashurt, M. J. Dennis (Eds.), In *Food authentication*, London: Blackie Academic and Professional, 1996, p.140-170.

MORETTI, V. M., TURCHINI, G. M., BELLAGAMBA, F., 2003. Traceability issues in fishery and aquaculture products. In *Veterinary Research Communications*, vol. 27, 2003, p. 497-505.

PASCUAL, C. Y., RECHE, M., FIANDOR, A., VALBUENA, T., CUEVAS, T., MARTIN-ESTEBAN, M. M., 2008. Fish allergy in childhood. In *Pediatric Allergy and Immunology*, vol. 19, 2008, p. 573-579.

POMS, R. E., KLEIN, C. L., ANKLAM, E., 2004. Methods for allergen analysis in food: a review. In *Food Additives & Contaminants*, vol. 21, 2004, p. 1-31.

RIMÁROVÁ, K., LOVAYOVÁ, V., 2007. Alergény a lepky v potravinách, prístupy k ich detekcii a označovaniu v EÚ. In: *HYGIENA ALIMENTORUM XXVIII „Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov“*. Slovakia : Štrbské Pleso – Vysoké Tatry, 2007, p. 165-169. ISBN 978-80-8077-055-6.

SICHERER, S. H., SAMPSON, H. A., 2010. Food allergy. In *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 125, 2010, p. S116-S126.

TELETCHEA, T., MAUDET, C., HÄNNI, C. 2005. Food and forensic molecular identification: update and challenges. In *Trends in Biotechnology*, vol. 23, 2005, p. 359-366.

TROTTA, M., SCHÖNHUTH, S., PEPE, T., CORTESI, M. L., PUYET, A., BAUTISTA, J. M., 2005. A multiplex

– PCR Metod for use in real – time PCR for identification of fish fillets from grouper (*Epinephelus spp.* and *Mycteroperca spp.*) and common substitute species. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 2039 – 2045.

VAN HENGEL, A. J., 2007. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 389, 2007, p. 111-118.

### Contact address:

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

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

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

Lubomír Belej, Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak

ŽIDEK, R., GOLIAN, J., 2008. Detection of carp (*Cyprinus carpio*) proteins using genetic markers. In *Proteiny : Sborník příspěvků V. ročníku mezinárodní konference*. Zlín : Univerzita Tomáše Bati ve Zlíne, 2008, ps.235-237.

### Acknowledgments:

This article was part of the project VEGA 1/0619/10.

University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: lubkoobubko@azet.sk

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

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

Onrej Revák, Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: ondrej.revak@gmail.com

## THE YIELD OF DNA IN THERMAL TREATED DEER MEAT

*Eubomír Belej, Miroslava Barnová, Lenka Maršálková, Jozef Golian*

## ABSTRACT

Residuals of DNA are one of the most important factors for detection, traceability and reverse authentication of deer meat. In this project we isolated DNA from deer processed meat and analysed by electrophoresis. Goal of the study was compute ratio between raw meat and several heat processed deer meat. Samples were prepared by five heat treatment techniques (pan roasted with temperature 180-240 °C, fried with 156 °C, braised with temperature 100-150 °C, boiled in 100.2 °C water and autoclaved in different time intervals). The highest amount of residual DNA 1927ng was obtained with two hours boiled sample. The lowest value 89.89ng was obtained with one hour braised sample. In technological adjustments highest amount of DNA and 1927ng, so the total yield of 192.7ng.<sup>-1</sup> was observed in the sample we cooked for two hours at boiling temperature.

**Keywords:** DNA, temperature, deer meat

## ÚVOD

Pretože mäso je súčasťou ľudskej výživy, má byť nutrične hodnotené zo všetkých aspektov výživy. Mäso má byť posudzované ako potravinu, ktorá človeku poskytuje nielen všetky potrebné výživové zložky, ale často tiež nežiaduce látky (Chudý et al., 2000).

Pojem kvalita mäsa nie je vo svete chápaný jednoznačne, pretože v jednotlivých štátoch sú rôzne kritéria na kvalitu mäsa. Väčšina autorov rozdeľuje pojem kvalita mäsa na časť objektívnu, ktorú možno stanoviť merateľnými chemickými a fyzikálnymi metódami a na subjektívnu časť, hodnotiteľnú zmyslovými orgánmi človeka, pričom konečné zhodnotenie subjektívnej zložky kvality mäsa je ovplyvnené tiež cenou, dostupnosťou mäsa a nutričnou hodnotou (Chudý et al., 2000). Pod kvalitou mäsa rozumieme súhrn všetkých senzorických, spracovateľsko-technických, výživno fyziologických a hygienicko-toxikologických vlastností mäsa (Hofmann, 1994).

Divina sa pokladá za biologicky hodnotnejšiu potravinu ako mäso jatočných zvierat. Vlastnosti a zloženie diviny ovplyvňuje druh, pohlavie, vek, životné prostredie (Stevenson, Seman, Littlejohn, 1992; Volpelli et al., 2002).

Agarózová elektroforéza patrí medzi jednoduché, pomerne rýchle metódy na izoláciu, identifikáciu a prečistenie fragmentov DNA (Holme et al., 1998).

## MATERIÁL A METÓDY

Vzorky mäsa sme nakrájali na kocky rovnakej veľkosti 2,5 cm. Vzorky boli skladované v mraziacom boxe pri teplote -18 °C do nasledujúceho dňa, kedy sme vzorky tepelne upravovali rôznymi spôsobmi (Tab. 1).

DNA z tkanív sme izolovali pomocou NucleoSpin® Food Isolation Kit (Macherey-Nagel, Germany).

Kvalitu extrahovanej DNA sme stanovovali elektroforeticky v 1 % agarózovom gély. Gél sme si rozpustili v mikrovlnnej rúre pri teplote 130 °C po dobu 1,5 minúty. Po rozpustení gélu sme do varnej kadičky naliali destilovanú vodu aby sme dosiahli obsah 100ml. Opäť sme takto pripravený gél zohrievali 1,5 minúty pri teplote 130 °C. Celý proces sme opakovali 2x. Takto tepelne upravený gél sme si vychladili pod studenou tečúcou vodou. Po vychladení sme do gélu pridali 10 µl

Produktu reštrikčných alebo amplifikačných reakcií sa delia podľa svojej relatívnej molekulovej hmotnosti a veľkosti náboja agarózovou elektroforézou DNA fragmentov v géle (Sambrook et al. 1989).

Meyer et al., (1994); Hird et al., (2006) zistili že DNA je značne degradovaná pri vyšších teplotách varenia, v tomto prípade nám výsledky umožnili zistiť teplotu, pri ktorej dochádza k rozkladu DNA na menšie fragmenty. Jadrová DNA je veľmi premenlivá, ale poskytuje základ pre individuálny systém vysledovateľnosti zvierat (Loftus, 2005).

Zhang et al. (2007) tiež zistil, znížené pomery u vareného / spracovaného mäsa v porovnaní s čerstvým mäsom. Degradácie DNA, vzhľadom na varenie a iné spracovanie mäsa, môžu mať vplyv na výsledky získané počas následnej analýzy, čo môže viesť ku kvantitatívnej a kvalitatívnej chybe (Teletchea et al., 2005).

Židek, Pokorádi, Bándry (2008) zistili že ďalšou vhodnou metódou vysledovateľnosti jeleňovitých zvierat je použitie mikrosatelitov.

Vybrané mikrosatelitné markery sú polymorfné a sú vhodné pre vysledovateľnosť jeleňovitých. (Židek et al., 2009).

etídium bromidu, jedná sa o interkalačnú látku, ktorá sa používa pri vizualizácii fragmentov DNA. Dokáže sa včleniť medzi nukleotidy DNA a pri použití UV transiluminátora dochádza k vizualizácii DNA a jej špecifických fragmentov. Na mastný papierik sme si po kvapkách veľkosti 3 µl naniesli nanášaciu farbu (Loading Dye Solution, 6X Mass Ruler) a dve kvapky veľkosti 3 µl Fast ruler DNA. Jedna sa o farbu, ktorá nám v končnom dôsledku zobrazí 5 fragmentov bazových párov, na základe ktorých sme určovali intenzitu poškodenia DNA. Jednu kvapku nanášacej farby sme premiešali s kvapkou Fast ruler DNA a naniesli do gélu do prvej kolónky a rovnako druhu kvapku farby sme naniesli do poslednej kolónky. Rovnako sme postupovali pri nanášaní vzorky. Na gél sme naniesli 10 µl DNA vzorky s pridaním 3 µl nanášacej farby. Keďže obsah bol väčší jednu vzorku sme nanášali 2x. Elektroforézu v horizontálnom usporiadaní



## potravinárstvo

sme uskutočnili pri potenciálovom spáde 125 V/cm počas 45 minút. DNA sme vizualizovali UV žiarením o vlnovej dĺžke 312 nm. Elektroforetické gély sme zdokumentovali pomocou digitálneho fotografického prístroja.

Tepelným opracovaním a následnou PCR reakciou sme získali podklad na gélovú elektroforézu ktorej vyjadrením

je histogram intenzity farby, ktorý sme analyzovali programom Gel-Pro Analyzer 3.1 (Media Cybernetics, USA). Na základe histogramu intenzity sme vyjadrili celkovú výťažnosť analýz v  $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$  (Tab. 2-3).

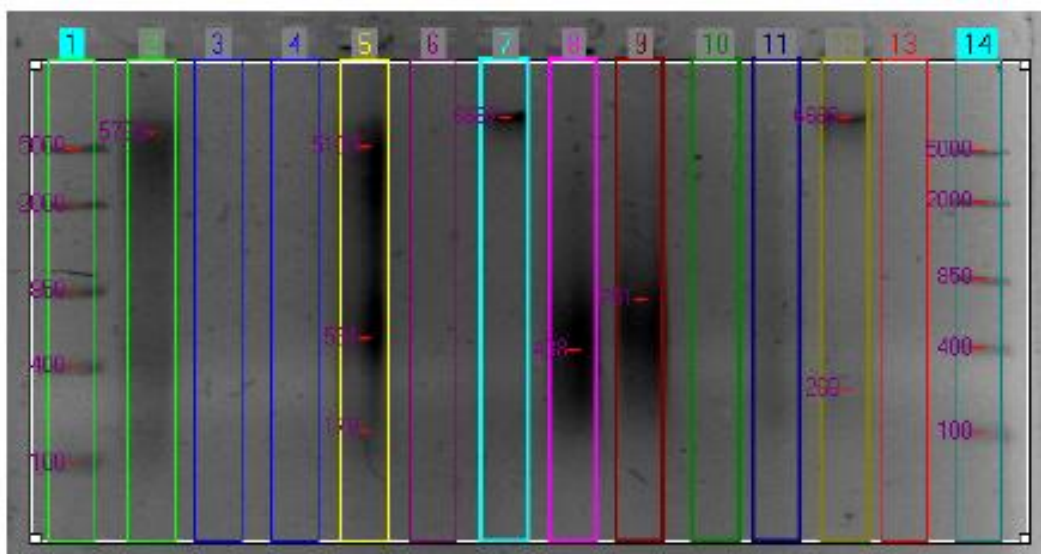
**Tabuľka 1** Spôsob tepelnej úpravy vzoriek

č. vzoký	vzorka	dĺžka úpravy	spôsob úpravy
1	výpek	15 min	Pečenie na panvici s trochou tuku pri teplote 240°C
2	vnútro svaloviny		
3	okraj svaloviny		
4	výpek	15 min	Vyprážanie v hlbokom tuku(fritovanie) pri teplote 156°C
5	vnútro svaloviny		
6	okraj svaloviny		
7	vnútro svaloviny	60 min	Varenie vo vriacej vode pri teplote varu
8	šťava		
9	vnútro svaloviny		
10	okraj svaloviny	120 min	Varenie vo vriacej vode pri teplote varu
11	šťava		
12	vnútro svaloviny		
13	šťava	180 min	Dusenie vo vlastnej šťave s trochou oleja pri teplote 150 °C
14	vnútro svaloviny		
15	okraj svaloviny		
16	šťava	60 min	Dusenie vo vlastnej šťave s trochou oleja pri teplote 150 °C
17	vnútro svaloviny		
18	šťava		
19	vnútro svaloviny	120 min	autoklávovanie pri teplote 120°C
20	šťava		
21	vnútro svaloviny		
22	šťava	180 min	
23	vnútro svaloviny	Vzorka mäsa bez tepelnej úpravy	
24	okraj svaloviny		

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na obrázku 1 sú znázornené dráhy prvých dvanástich vzoriek v ktorých sú jednotlivé fragmenty DNA určitých dĺžok viditeľné ako pružky. V prvej a poslednej dráhe sú

spravidla štandardy molekulových hmotností, v ktorých sa separujú presne veľkostne definované DNA fragmenty umožňujúce odhadnúť neznáme veľkosti DNA fragmentov vo zvyšných dráhach.



**Obrázok 1** Umiestnenie jednotlivých fragmentov DNA

## potravinárstvo

Vysvetlivky k obrázku 1:

**dráha č. 1, 14** - štandard molekulovej hmotnosti,

**dráha č. 2** - (vnútro svaloviny - 3hod - 100 °C) - vzorka č. 12

**dráha č. 3** - (šľava - 2hod - 100 °C) - vzorka č. 11

**dráha č. 4** - (okraj svaloviny - 2hod - 100 °C) - vzorka č. 10

**dráha č. 5** - (vnútro svaloviny - 2hod - 100 °C) - vzorka č. 9

**dráha č. 6** - (šľava- 1hod - 100 °C) - vzorka č. 8

**dráha č. 7** - (vnútro svaloviny - 1hod - 100 °C) - vzorka č. 7

**dráha č. 8** - (okraj svaloviny - 15min.- 156°C) - vzorka č. 6

**dráha č. 9** - (vnútro svaloviny - 15min - 156°C) - vzorka č. 5

**dráha č. 10** - (výpek- 15min - 156°C) - vzorka č. 4

**dráha č. 11** - (okraj svaloviny - 15min - 240°C) - vzorka č. 3

**dráha č. 12** - (vnútro svaloviny - 15min - 240°C) - vzorka č.2

**dráha č. 13** - (výpek - 15min - 240°C) - vzorka č. 1

**Tabuľka 2** Celková výťažnosť analýz v  $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$

línaie	línaia 1		línaia 2		línaia 3		línaia 4
Riadok	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť
r1							
r2			5769	897.36			
r3	5000	20					
r4	2000	23.473					
r5	850	25.287					
r6							
r7							
r8	400	19.193					
r9							
r10							
r11	100	20.238					
výsledok		108.19		897.36		neurčená	
línaie		línaia 5		línaia 6		línaia 7	
Riadok	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo
r1						6667	171.52
r2							
r3		5103	981.17				
r4							
r5							
r6							
r7							
r8							
r9		531	773.90				
r10		178	171.94				
r11							
výsledok	neurčená		1972		neurčená		171.52

**Tabuľka 3** Celková výťažnosť analýz v  $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$

línaie	línaia 8		línaia 9		línaia 10		línaia 11
Riadok	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť
r1							
r2							
r3							
r4							
r5							
r6			751	1309.3			
r7							
r8	438	15334.2					
r9							
r10							
r11							
výsledok		1534.2		1309.3		neurčená	

**Tabuľka 3 - pokračovanie** Celková výťažnosť analýz v  $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$

lína		lína 12		lína 13		lína 14	
Riadok	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo	molová hmotnosť	množstvo
r1			6692				
r2							
r3						5000	14.350
r4						2000	16.626
r5						850	13.552
r6							
r7							
r8						400	9.82
r9		268	155.45				
r10							
r11						100	7.50
výsledok	neurčená		280.06		neurčená		58.961

Zverina je príkladom cieľeného podvodného značenia v dôsledku hospodárskeho zisku, ktoré vedie k predaju lacnejšieho mäsa ako mäso drahších a kvalitnejších druhov (Brodmann et al., 2001).

Bolo prijatých mnoho analytických metód pre druhovú identifikáciu mäsa ktoré sú do veľkej miery založené na detekcii buď bielkovín alebo DNA. Avšak, bielkoviny sú denaturované tlakom a tepelným spracovaním, čo sťažuje identifikáciu druhov. DNA má výhodu v tom, že má relatívne stabilné molekuly, a je schopný odolávať tepelnému spracovaniu (Chikuni et al., 1990).

Klein et al., 1998, zistile že počas spracovania dochádza k fragmentácii DNA, pričom obsah DNA (vrátane

nukleotidov) nie je zväčša ovplyvnený. Vznikajú rôzne veľké fragmenty, pričom ich veľkosť je nepriamo úmerná času opracovania potravinovej matrice. Bauer et al., (2004) tvrdia že degradácia DNA je závislá od podmienok, ktoré vznikajú počas výrobného procesu a od potravinovej matrice, ktorej je súčasťou. Degradáciu DNA ovplyvňujú vnútorné faktory ako sú zložky potravín, pH, nukleázy a exogénne faktory napr. spracovanie, uskladnenie potravín. Vzhľadom na veľkú variabilitu týchto faktorov je zrejmé, že rozsah degradácie pre konkrétny potravinový produkt nedá predpovedať.

## ZÁVER

Z uvedených technologických úprav najvyššie množstvo DNA 1927 ng a teda celková výťažnosť analýzy  $192,7 \text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$  bola zaznamenaná u vzorky, ktorú sme upravovali varením po dobu dvoch hodín pri teplote varu, Najnižšie zistené množstvo DNA 89,82 ng a teda celková

výťažnosť analýzy  $8,98 \text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$  bola zaznamenaná u vzorky, ktorú sme upravovali dusením po dobu jednej hodiny pri teplote 100–150 °C. V niektorých tepelné upravených vzorkách nebolo možné zistiť množstvo DNA z dôvodu jej rozsiahlej degradácie.

## LITERATÚRA

BAUER, T., WELLER, P., HAMMES, W. P., HERTEL, C. 2003. The effect of processing on the DNA degradation in Food. In *European Food Research and Technology*, vol. 217. p. 338-343.

BRODMANN, P. D., NICHOLAS, G., SCHALTENBRAND, P., & ILG, E. C. 2001. Identifying unknown game species: experience with nucleotide sequencing of the mitochondrial cytochrome b gene and a subsequent basic local alignment search tool search. In *European Food Research and Technology*, vol.212, 2001, p. 491–496.

HIRD, H., J. CHISHOLM, A. SANCHEZ, M. HERNANDEZ, R. GOODIER, K. SCHNEEDE, C. BOLT, and B. POPPING. 2006. Effect of heat and pressure processing on DNA fragmentation an implications for the detection of meat using a real-time polymerase chain reaction. In *Food Addit Contam.*, vol. 23, 2006, no.7, p. 645- 650.

HOFMANN, K. 1994. What is quality? In *Meat Focus International*, vol. 3, 1994, no. 2, p. 73-82.

HOLME, D., PECK, H. 1998. Analytical biochemistry. 3. vyd. London: Longman., 481p. ISBN 0-582-29438-X.

CHIKUNI, K., OZUTSUMI, K., KOISHIKAWA, T., AND KATO, S. 1990. Species identification of cooked meat by DNA hybridization assay. In *Meat Science*, vol. 27, 1994 p. 119-128.

CHUDÝ, J. et al. 2000. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu. Nitra: Vydavateľské a edičné stredisko SPU, 2000. p. 204. ISBN 80-7137-692-2.

KLEIN, J., ALTENBUCHNER, J., MATTES, R. 1998. Nucleic acid and protein elimination during the sugar manufacturing process of conventional and transgenic sugar beets. In *Journal of Biotechnology*, vol. 60,1998, p. 145- 153.

LOFUS, R. 2005. Traceability of biotech-derived animals: application of DNA technology. In *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, vol. 24, 2005, no.1, p. 231-242.

MEYER, R., U. Candrian, and J. Luthy. 1994. Detection of pork in heated meat products by polymerase chain reaction. *J. AOAC Int.* vol. 77, 1994, no.3, p. 617-622.

SAMBROOK, J., FRITZ, E. F., MANIATIS, T. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed., Cold Spring Harb. Lab. Press, USA. Vol. 1-3, 1989.

STEVENSON, J. M., SEMAN, D. L., & LITTLEJOHN, R.P. 1992. Seasonal variation in venison quality of mature, farmed red deer stags in New Zealand. In *Journal of Animal Science*, vol. 70, 1992, p. 1389-1396.

TELETCHÉA, F., C. MAUDET, C. HANNI. 2005. Food and forensic molecular identification: update and challenges. In *Trends Biotechnol.* vol. 23, 2005, no. 7, p. 359- 366.

VOLPELLI, L. A., VALUSSO, R., PIASENTIER, E. 2002. Carcass quality in Male fallow deer (*Dama dama*): effects of age and supplementary feeding. In *Meat Science*, vol. 60, 2002, p. 423-427.

ZHANG, C. L., FOWLER, M. R., SCOTT, N. W., LAWSON, G., SLATER, A. 2007. A TaqMan real-time PCR system for the identification and quantification of

bovine DNA in meats, milks and cheeses. In *Food Control*, vol. 18, 2007, p. 1149-1158.

ŽIDEK, R., POKORÁDI, J., BANDRY L. 2008. Biodiversity in deer population observed by microsatellite markers. In *Journal of Agrobiolgy*, vol. 25, 2008, p. 113-115.

ŽIDEK, R., MARŠALKOVÁ, L. GOLIAN, J., POKORÁDI, J., 2009. Potencial of microsatellite markers in traceability of red deer product. In *Hygiēna alimentorum XXX* : production of poultry, eggs, fish and game in conditions of common market., 13.-15. May 2009, Štrbské Pleso - Vysoké Tatry. - Košice : Univerzity of veterinary medicine, 2009. - ISBN 978-80-7148-060-0. p. 341-343.

### Acknowledgments:

This article was part of the project VEGA 1/0619/10.

### Contact address:

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

Miroslava Barnová, 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: mbarnova@gmail.com

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

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

## MORPHOLOGICAL AND ORGANOLEPTIC FRUIT PROPERTIES OF VARIOUS PERSIMMON SPECIES (*DIOSPYROS* SPP.)

*Olga Grygorieva, Ján Brindza, Vladimír Vietoris, Lucia Kucelová, Dezider Tóth, Vlasta Abraham, Miroslava Hricová*

### ABSTRACT

The goal of the study was to assess the morphological and organoleptic fruit characteristics of various persimmon species and their derived food products. For experimental evaluation we used persimmon fruits (*Diospyros kaki* L. f.), (*D. lotus* L.), and (*D. virginiana* L.) and interspecific hybrids derived from crosses (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f.). Fruits of the assessed species were obtained from Slovakia and Ukraine. We determined in comparison of persimmon fruits statistically significant difference of average weight (100.85 grams), height (47.88 mm), width (54.50 mm) and a ratio of flesh fruit weight (94%). Statistically significantly lower levels in comparison with other species were determined for *D. lotus* fruits (4.37 grams, 17.58 mm, 17.58 mm and 70%). For fruits of *D. virginiana* we obtained (21.07 grams, 28.06 mm, 33.14 mm and 85%) and interspecific hybrids are not determined significant differences in the studied traits (60.91 grams, 40.68 mm, 47.48 mm and 95%). Generally is the smallest number of seeds in fruits in interspecific hybrids (1.7 pieces) and at most *D. lotus* (4.5 pieces). The weight of seeds / calyx in the fruit were determined by 1.5% (inter-species hybrid) to 6.5% (species *D. lotus* and *D. virginiana*). Sensory analysis was conducted on fresh fruits and mixture with yogurt, cottage cheese and cream carriers. We constructed a custom classifier (List of descriptors and its scales) for evaluation of persimmon fruits. In the organoleptic characteristics, we identified significant differences between the mainly species. Fruits of *D. lotus* were distinguished for their acidity and bitterness. Organoleptic attributes of all assessed samples is very similar. We determined persimmon fruits as the most preferable by taste properties. Cream was determined as best carrier for persimmon fruit as a component part of milk products.

**Keywords:** persimmon, *Diospyros lotus* L., *D. kaki* L. f., *D. virginiana* L., (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f.). fruit morphology, sensory analysis, milk products

### ÚVOD

Druhy rodu *Diospyros* spp. patria do rozsiahlej čeľade ebenovitých (*Ebenaceae*) so 7 rodmi. Podľa **Sugiura (2005)** má rod *Diospyros* 400 druhov. Viaceré druhy sú ekonomicky významné a využiteľné nielen z ovocinárskeho hľadiska. Pre podmienky mierneho pásma sú vhodné tri druhy pre praktické využívanie a to ebenovník rajčiakový (*Diospyros kaki* L. f.), ebenovník virgínsky (*Diospyros virginiana* L.) a ebenovník datľový (*Diospyros lotus* L.) (**Bellini et al., 1991**). V ovocinárskej praxi sú využívané aj medzidruhové odrody Rossiyanka, Nikitskaya Bordova a ďalšie získané z kríženia *Diospyros virginiana* L. x *Diospyros kaki* L. f.

Všetky uvedené druhy majú opadavé listy. Hospodársky sú využívané ako ovocné stromy (**Mareček et al., 2001**). Plody ebenovníkov sú jedlé. Pre konzumovanie sú vhodné, keď sú mäkké, dokonale zrelé (**Heaton, 1997**). Zrelé plody sú „mäsitej“ konzistencie, veľmi lahodnej chuti. Konzumujú sa v surovom a sušenom stave, ale aj formou marmelád, džemov, ovocných šalátov, sirupov, rôznych nápojov, destilátov alebo doplnkov do zmrzlín, jogurtov a iných potravinových výrobkov (**Kremer, 1995; Mareček et al., 2001**).

Plody ebenovníka rajčiakového sú podlhovasté, guľovité až sploštené bobule dosahujúce hmotnosť od 90 do 600 g. Priemerná hmotnosť jedného plodu sa však najčastejšie pohybuje v rozmedzí 120 – 180 g. Oplodie je tenké, hladké, často s voskovým povlakom, v nezrelom stave v zelenom sfarbení, po dozretí obyčajne žlté, oranžové, červené až červenohnedé v rôznej intenzite týchto farieb. Dužina je chrumkavá až mazľavá, po dokonalom dozretí príjemne sladká. Nezrelé plody niektorých odrôd majú v

dôsledku prítomnosti trieslovín trpkou, sťahujúcu chuť, ktorá sa postupne v procese dozrievania stráca. Existujú aj odrody, ktorých plody sa v nezrelom stave nevyznačujú trpkosťou. V dužine plodov sa vytvára najviac 8 oválne podlhovastých semien. Niektoré odrody netvorí semená. Farba semien je škoricová, hnedá až hnedočierna (**Pospíšil a Hrachová, 1990**).

Plody ebenovníka virgínského sú žltej, oranžovej alebo hnedej dužinatej bobule podlhovastého alebo guľovitého tvaru. V priemere dosahuje 10 až 50 mm. Na bazálnej časti plodu je prisadnutý štvorlísty kalich. V zelenom stave majú plody silne zvieravú chuť a to z dôvodu vysokého obsahu tanínu. Po premrznutí plodov dosahujú plody sladkú chuť. V plodoch sa vytvára 4 – 8 hnedých, podlhovastých semien (**Maisenhelder, 1971**).

Medzi najznámejšie a prakticky využívané odrody z medzidruhového kríženia *Diospyros virginiana* L. x *Diospyros kaki* L. f. patrí odroda Rossiyanka a Nikitskaya Bordovaya. **Pasenkov (1970)** uvádza pri odrode Rossiyanka / Nikitskej Bordovej priemernú hmotnosť plodov 47,0 – 60,0 g / 34,7 – 105,0 g, výšku 31,8 – 33,0 mm / 30,0 – 41,9 mm a priemer plodov 47,2 – 48,0 mm / 44,0 – 65,0 mm. **Grygorieva et al. (2009a)** určila pri uvedených odrodách Rossiyanka / Nikitskaya bordovaya priemernú hmotnosť plodov 43,9 – 69,3 g / 61,3 – 97,7 g, výšku 33,1 – 40,43 mm / 36,6 – 47,2 mm a priemer plodov 42,9 – 53,6 mm / 48,4 mm / 69,7 mm.

Pri štúdiu populácie semenáčov ebenovníka datľového rastúcich v Arboréte Mlyňany určila **Grygorieva et al. (2009b)** priemernú hmotnosť plodov v rozsahu

0,80 – 8,10 g, výšku plodov 9,62 – 22,07 mm a priemer plodov 10,21 – 23,06 mm.

Plody ebenovníka sa vo všeobecnosti označujú ako „potrava Bohov“ (Zarneckij, 1934; Nesterenko, 1950). Uvedené pomenovanie vo svojej podstate vyjadruje vysokú nutričnú hodnotu a lahodné chuťové vlastnosti plodov (Nowak a Schulzová, 2002; Kirillovna, 1984) a rôzne využitie vo výžive na priamy konzum, v sušenom stave, džemy, nápoje a iné (Kremer, 1995; Nabijev, 1998; Lekvejschvili, 1959). Plody obsahujú mnohé významné biologicky aktívne látky, a to triterpenoidy (Chen et al., 2007; Thuong et al., 2008), diospyrin (Hazra et al., 2005), fenolové zlúčeniny (Lee et al., 2006), flavónové glykozidy (Furusawa et al., 2005), flavonoidy (Bei et al., 2005; Joslin, 1964; Pathak et al., 1991; Gorobec et al., 1985), karotenoidy (Hosotani et al., 2004), taníny (Park et al., 2004) a ďalšie.

V rámci druhu je známa pomerne široká variabilita v tvaroch, veľkostiach, farbe a skorosti dozrievania plodov (Fletcher, 1942).

### MATERIÁL A METÓDY

Cieľom práce bolo zhodnotenie morfológických a organoleptických znakov plodov rôznych druhov ebenovníkov a z nich vyrobených potravinových výrobkov. Pre experimentálne hodnotenie sme použili plody z 10 genotypov ebenovníka rajčiakového (*Diospyros kaki* L. f. – DK), 5 genotypov ebenovníka datľového (*D. lotus* L. – DL), 4 genotypov ebenovníka virginského (*D. virginiana* L. – DV) a 2 genotypy medzidruhového hybridu získaného z kríženia ebenovníka virginského s ebenovníkom rajčiakovým (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f. – DVDK). Plody z ebenovníka rajčiakového, ebenovníka virginského a medzidruhových hybridov sme získali od pestovateľov z Užhorodu (Ukrajina) a pestovateľov zo Slovenska. Plody ebenovníka datľového sme získali z Arboréta Mlyňany (Slovensko). Na plodoch sme hodnotili základné pomologické znaky a to hmotnosť, výšku, priemer, počet semien, podiel úžitkovej časti plodov, tvar, farba a vzhľadnosť.

Senzorickú analýzu sme vykonali pre štyri skupiny vzoriek. Prvou skupinou boli sušené plody. Celkovo bolo hodnotených 15 vzoriek z nasledovných druhov a s označením *D. kaki* L. f. – vzorky A, B, J, K, L, N; *D. virginiana* L. – C, D, E, F; *D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f. – G, H, J, M a *D. lotus* L. – O.

Druhú skupinu tvorili čerstvé plody (11 vzoriek) z nasledovných druhov a označením *D. kaki* L. f. – vzorky 1,2DK; *D. virginiana* L. – 3, 4, 5DV; *D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f. – 6DKDV a *D. lotus* L. – 7, 8, 9, 10, 11DL.

Tretiu skupinu tvorilo 18 vzoriek získaných kombináciou dužiny hodnotených druhov ebenovníkov v rôznom zastúpení (25 – 50 %) s tvarohom (TV 50 – 75 %), jogurtom bielym (JB 50 – 75%) a sladkou smotanou (SS 25 – 50 %) z nasledovných druhov a označením *D. kaki* L. f. – vzorky A (TV75 – DK25), B (TV50 – DK50), G (JB75 – DK25), H (JB50 – DK50), M

Ayari et al. (2006) experimentálne hodnotili nutričné a senzorické vlastnosti aromatizovaných jogurtov s pridaním pasty plodov ebenovníka rajčiakového. Pridanie dužiny ebenovníkov spôsobilo výrazné zvýšenie emulzie viskozity jogurtov v porovnaní s kontrolnými variantmi jogurtov. Zvyšovaním podielu dužiny plodov v jogurtoch sa určil výrazný pokles synergických zložiek vo výrobkoch. Zvyšoval sa obsah sušiny, uhlíohydrátov a popolovín, pričom sa súčasne znížil obsah tukov, bielkovín a kyslosti výrobkov. Pridaná pasta plodov výrazne zvýšila nedostatočný obsah niektorých minerálnych látok v tradičných jogurtoch, a to hlavne obsahu železa a draslíka. Organoleptické vlastnosti jogurtov doplnených o pastu plodov ebenovníka rajčiakového sa zlepšili. Takto obohatené jogurty o pastu plodov predstavujú významné potravinové zdroje Ca, Mg, Zn, P, K a vlákniny s dobrými senzorickými vlastnosťami.

(SS75 – DK25), N (SS50 – DK50); *D. lotus* L. – C (TV75 – DL25), D (TV50 – DL50), I (JB75 – DL25), J (JB50 – DL50), O (SS75 – DL25), P (SS50 – DL50) a *D. virginiana* L. – E (TV75 – DV25), F (TV50 – DV50), K (JB75 – DV25), L (JB50 – DV50), R (SS75 – DV25), S (SS50 – DV50).

Štvrtú skupinu tvorilo 15 vzoriek získaných kombináciou dužiny hodnotených druhov ebenovníkov v rôznom zastúpení (50 – 75 %) s jablčnou dužinou (JA 25 – 50 %), tekvicovou dužinou (TE 25 – 50 %) a kombináciou jablčnej a tekvicovej dužiny (25 – 25 % / 50 – 25 % / 25 – 50 %) s nasledovným označením vzoriek: A (JA25 – DK75), B (JA50 – DK50), C (JA75 – DK25), D (TE25 – DK75), E (TE50 – DK50), F (TE75 – DK25), G (JA25 – TE25 – DK50), H (JA50 – TE25 – DK25), I (JA25 – TE50 – DK25), J (DK 100), K (JA 100), L (TE 100), M (TE50 – DV50), N (JA66 – DV34), O (DV100).

Z každého druhu sme na senzorickú analýzu vybrali zrelé plody. Základné organoleptické znaky sme hodnotili podľa vlastne vyvinutých deskriptorov: vizuálna atraktivita farby; príjemnosť pachu; charakteristika pachu; chuť; charakteristika chute; sladkosť vzorky; trpkosť vzorky; textúra vzorky; pocit pri prehltávaní vzorky; interakcia s médiom. Plody hodnotilo 7 hodnotiteľov v kontrolovaných podmienkach senzorického laboratória SPU. Vzorky boli podané vo vybalancovanom poradí (Latinské štvorce). Experimentálne údaje sme vyhodnotili metódou hlavných komponentov. Preukaznosť rozdielov medzi jednotlivými druhmi a genotypmi sme vyhodnotili jednofaktorovou analýzou rozptylu a metódou najmenších preukazných rozdielov podľa Tukey-a. Pre hodnotenie preukaznosti rozdielov sme použili štatistický on-line systém dostupný na web stránke: (<http://department.obg.cuhk.edu.hk/ResearchSupport/OWAV.asp>).

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri hodnotení hospodárskej hodnoty plodov rastlinného pôvodu je dôležité poznať okrem iného aj základné morfometrické parametre ako je hmotnosť, výška, šírka,

počet semien, podiel úžitkovej časti plodu a iné znaky. Uvedené znaky sú významné predovšetkým pre určenie produkčnej schopnosti, kvalitatívnych tried, výberu

vhodných obalov pre prepravu ale aj pre určenie tzv. vonkajšej kvality plodov, čo priamo súvisí aj so

senzorickým hodnotením plodov a ich výrobkov.



**Obrázok 1** Tvar a farba plodov vybraných genotypov ebenovníka datľového (*D. lotus* L.). Foto: O. Grygorieva, 2009

Z uvedeného dôvodu sme aj v prvej časti experimentov určili variabilitu základných kvantitatívnych a kvalitatívnych znakov plodov zo štyroch hodnotených druhov ebenovníkov, ktoré sme použili na senzorickú analýzu.

Pri posudzovaní vonkajšej kvality plodov sa spravidla hodnotí ako prvý znak tvar a farba plodov. Plody ebenovníkov sú vo všeobecnosti podlhovasté, guľovité až sploštené bobule (Maisenhelder, 1971; Pospíšil a Hrachová, 1990). Pri všetkých hodnotených druhoch je

známa variabilita v tvare plodov, čo dokazujú aj niektoré ukážky z tvaru plodov ebenovníka datľového (obrázok 1) a ebenovníka rajčiakového (obrázok 2).

Pri plodoch ebenovníka je zaujímavá aj variabilita vo farbe plodov. Oplodie plodov je vo všeobecnosti tenké, hladké, často s voskovým povlakom, v nezrelom stave v zelenom sfarbení, po dozretí obyčajne žlté, oranžové, červené až červenohnedé v rôznej intenzite týchto farieb (Pospíšil a Hrachová, 1990).



**Obrázok 2** Tvar plodov vybraných genotypov ebenovníka rajčiakového (*D. kaki* L. f.). Foto: O. Grygorieva, 2009



**Obrázok 3** Povrch a rebrovanosť plodov vybraných genotypov ebenovníka rajčiakového (*D. kaki* L. f.). Foto: O. Grygorieva, 2009



**Obrázok 4** Apikálna časť a tvar plodov vybraných genotypov ebenovníka rajčiakového (*D. kaki* L. f.). Foto: O. Grygorieva, 2009

Pre komplexné posúdenie jednotlivých plodov ebenovníkov sme v prvom rade zabezpečili ich morfológickú analýzu. Z výsledkov tabuľky 1 vyplývajú značné rozdiely v hodnotených znakoch. Pri hodnotených odrodách sme určili hmotnosť plodov, hmotnosť semien, hmotnosť kalicha, výšku a šírku plodov. Štatisticky preukazne najvyššie hodnoty v porovnaní s ostatnými druhmi sme určili pri plodoch e. rajčiakového (100,85 g, 3,76 g, 1,69 g, 47,88 mm, 54,50 mm) a najnižšie hodnoty pri plodoch e. datľového (4,37 g, 1,11 g, 0,19 g, 17,58 mm, 17,58 mm). Pri ebenovníku virginskom (21,07 g, 2,08 g, 0,30 g, 28,06 mm, 33,14 mm) a medzidruhových hybridoch (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f.) sme neurčili významné rozdiely v hodnotených znakoch (60,91 g, 2,79 g, 0,95 g, 40,68 mm, 47,48 mm).

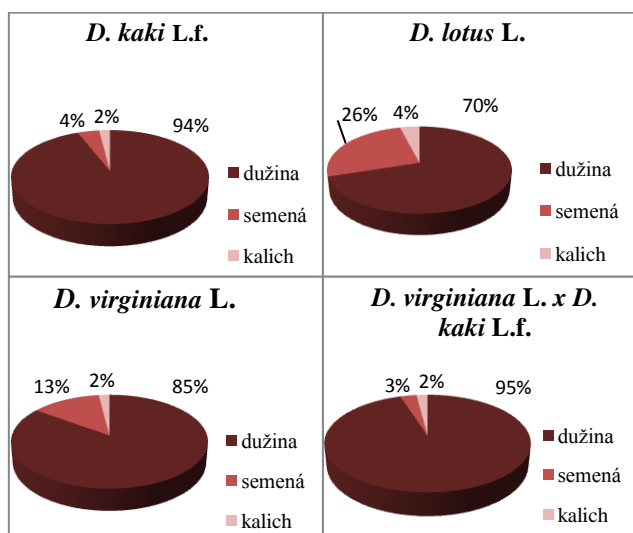
Z údajov tabuľky 1 súčasne vyplýva, že pri jednotlivých znakoch sme určili rôznu stupeň variability znakov, čo dokumentujú hodnoty variačných koeficientov určené v rozsahu 1,84 – 89,65 %. Pri prevažnej väčšine znakov sme však určili stredný až veľmi vysoký stupeň variability hodnotených znakov.

**Pospíšil a Hrachová (1990)** uvádza pri plodoch hmotnosť od 90 do 600 g, pričom sa priemerná hmotnosť jedného plodu najčastejšie vyskytuje v rozmedzí 120 – 180 g. **Pasenkov (1970)** uvádza pri medzidruhových hybridoch z kríženia *D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f. priemernú hmotnosť plodov 34,7 – 105,0 g a **Grygorieva et al. (2009a)** 43,9 – 97,7 g. **Grygorieva et al. (2009b)** pri hodnotení ebenovníka datľového určila priemernú hmotnosť plodov 3,97 g. Pri vzájomnom porovnaní údajov dosiahnutých v experimentálnom štúdiu s literárnymi údajmi sme určili určitú zhodu. Rovnako významné rozdiely sme určili aj v ostatných hodnotených znakoch, čo dokumentujú údaje prezentované v tabuľke 1.

**Tabuľka 1** Variabilita hodnotených znakov na plodoch porovnávanej skupiny genotypov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.)

Druhy	n	min	max	$\bar{x}$	V%
Hmotnosť plodov (g)					
<i>D. kaki</i> L. f.	63	10,70	165,44	100,85 <sup>a</sup>	43,66
<i>D. virginiana</i> L.	35	26,60	105,90	60,91 <sup>b</sup>	40,38
<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.	30	13,34	30,27	21,07 <sup>c</sup>	19,63
<i>D. lotus</i> L.	235	1,20	7,20	4,37 <sup>d</sup>	5,73
Hmotnosť semien (g)					
<i>D. kaki</i> L. f.	63	0,66	7,43	3,76 <sup>a</sup>	43,59
<i>D. virginiana</i> L.	30	0,02	7,48	2,79 <sup>b</sup>	77,71
<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.	35	0,16	4,80	2,08 <sup>c</sup>	72,18
<i>D. lotus</i> L.	235	0,14	2,50	1,11 <sup>d</sup>	22,38
Hmotnosť kalicha (g)					
<i>D. kaki</i> L. f.	63	0,31	2,97	1,69 <sup>a</sup>	43,90
<i>D. virginiana</i> L.	35	0,51	1,85	0,95 <sup>b</sup>	37,10
<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.	30	0,21	0,45	0,30 <sup>c</sup>	21,83
<i>D. lotus</i> L.	170	0,07	0,50	0,19 <sup>c</sup>	89,65
Výška plodov (mm)					
<i>D. kaki</i> L. f.	63	25,10	60,98	47,88 <sup>a</sup>	20,89
<i>D. virginiana</i> L.	35	27,18	61,19	40,68 <sup>b</sup>	23,20
<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.	30	22,84	32,93	28,06 <sup>c</sup>	10,39
<i>D. lotus</i> L.	235	9,66	24,91	17,58 <sup>d</sup>	1,84
Šírka plodov (mm)					
<i>D. kaki</i> L. f.	63	22,21	68,38	54,50 <sup>a</sup>	25,34
<i>D. virginiana</i> L.	35	38,37	59,39	47,48 <sup>b</sup>	12,51
<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.	30	26,19	37,27	33,14 <sup>c</sup>	7,76
<i>D. lotus</i> L.	235	6,88	28,75	17,58 <sup>d</sup>	2,03

(a,b,c, d) v hornom indexe aritmetických priemerov znamená štatistickú preukaznosť medzi druhmi určenú najmenšími preukaznými rozdielmi LSD podľa Tukey-a



**Obrázok 5** Porovnanie hodnotených druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) v podiele hmotnosti dužiny, semien a kalicha z celkovej hmotnosti plodov (%)



**Obrázok 6** Počet semien v plodoch genotypov ebenovníka datľového (*D. lotus* L.). Foto: O. Grygorieva, 2009



Medzi významné hospodárske znaky plodov patrí aj podiel dužiny z hmotnosti plodu. Pri hodnotených druhoch sme určili priemerný podiel hmotnosti dužiny (%) z celkovej hmotnosti plodov v rozsahu od 70 % (*D. lotus* L.) do 95 % (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f.), čo je dokumentované aj na obrázku 5. Podiel dužiny najviac ovplyvňuje počet vytvorených semien v plodoch. V plodoch ebenovníkov sa vytvára spravidla 1 – 8 semien (Pospíšil a Hrachová, 1990; Maisenhelder, 1971). Názorne to dokumentuje aj obrázok 6. Pri ebenovníkoch je však všeobecne známe, že plody sa môžu vytvárať partenokarpicky ako bezsemenné, t.j. bez opelenia (Chandler, 1965), čo sme určili aj pri hodnotení plodov pri všetkých druhoch. Pre konzumentov sú takéto plody veľmi vhodné. Pre spracovateľský priemysel sú využiteľné aj semená na získavanie veľmi kvalitného oleja. Najmenší podiel 2 – 4 % tvorí na plodoch kalich (graf 1), ktorý sa v ázijských krajinách využíva vo farmaceutickom priemysle.

Jednoduchou lineárnou korelačnou analýzou sme určili vysoko preukaznú mieru lineárnej závislosti medzi hmotnosťou plodov, ich výškou v rozsahu  $r = 0,76$  (DL) –  $r = 0,92$  (DVDK) a šírkou plodov v rozsahu  $r = 0,86$  (DV) –  $r = 0,95$  (DVDK) pri všetkých hodnotených druhoch. Pri hodnotení závislosti medzi ostatnými znakmi sme zistili

veľmi rozdielne hodnoty korelačných koeficientov (Tabuľka 2).

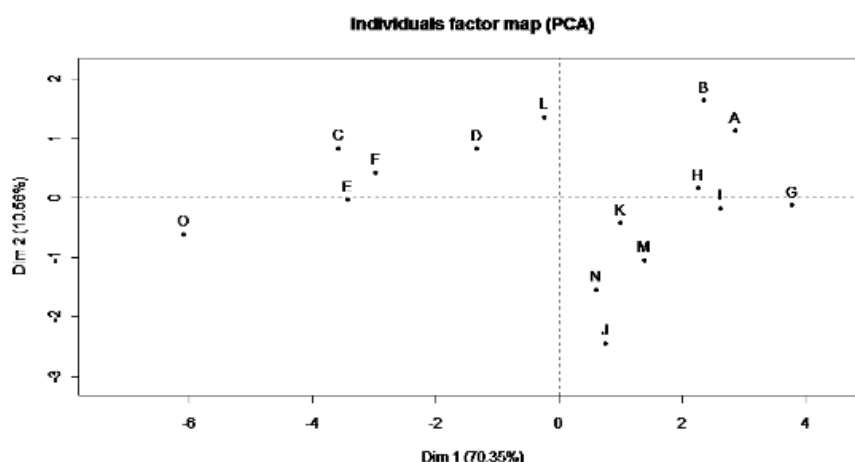
Tabuľka 2 Korelačná analýza závislosti medzi vybranými znakmi plodov ebenovníkov (*Diospyros* spp.)

<i>D. kaki</i> L. f.	<i>D. lotus</i> L.	<i>D. virginiana</i> L.	<i>D. virginiana</i> L. x <i>D. kaki</i> L. f.
r	r	r	r
Hmotnosť plodov (g) – Hmotnosť semien (g)			
-0,200	0,886 ++	0,311	0,601 ++
Hmotnosť plodov (g) – Hmotnosť kalicha (g)			
0,883 ++	0,637 ++	0,073	0,725 ++
Hmotnosť plodov (g) – Výška plodov (mm)			
0,895 ++	0,769 ++	0,820 ++	0,920 ++
Hmotnosť plodov (g) – Šírka plodov (mm)			
0,961 ++	0,872 ++	0,868 ++	0,950 ++
Hmotnosť semien (g) – Hmotnosť kalicha (g)			
-0,227	0,506 +	0,297	0,661 ++
Hmotnosť semien (g) – Výška plodov (mm)			
-0,140	0,571 ++	0,343	0,507 ++
Hmotnosť semien (g) – Šírka plodov (mm)			
-0,316	0,696 ++	-0,057	0,397

### Senzorická analýza sušených plodov

Sušenie plodov patrí medzi najstaršie technológie konzervácie, čo sa využíva v mnohých východných krajinách aj pri plodoch ebenovníkov. Z uvedeného dôvodu sme zabezpečili senzorickú analýzu sušených plodov z hodnotených druhov ebenovníkov. Podobnosti medzi vzorkami sušených ebenovníkov demonštruje mapa hlavných komponentov (obrázok 7). Z výsledkov vyplýva, že vzorky tvoriace zhluky sú organoleptickými vlastnosťami podobné. Prvý zhluk vzoriek **K (DK)**, **M (DVDK)**, **N (DK)**, **J (DK)** pôsobil na hodnotiteľov

vyrovnane a nevynikal ani v jednom z hodnotených atribútov. Druhý zhluk **B (DK)**, **A (DK)**, **H (DVDK)**, **I (DVDK)**, **G (DVDK)** je charakteristický hlavne texturálnymi atribútmi (žuvateľnosť, prehĺtavosť, pocity v hltane) a vizuálnymi charakteristikami (atraktivita, farba). Hodnotitelia prezentovali tieto vzorky ako štatisticky preukazne lepšie. Tretí zhluk **C (DV)**, **G (DVDK)**, **F (DV)** je nízkymi hodnotami väčšiny atribútov. Vzorka **O (DL)** bola charakterizovaná vo všetkých sledovaných atribútoch ako štatisticky preukazne horšia.

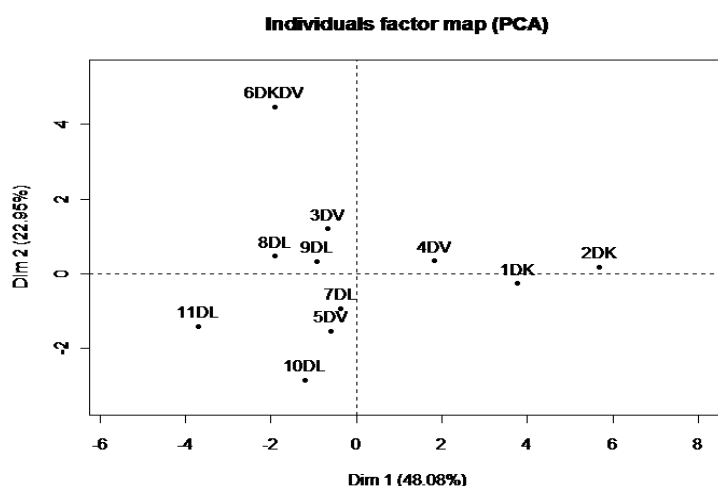


Obrázok 7 Zaradenie vzoriek sušených plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) na základe senzorickej analýzy podľa metódy hlavných komponentov.

### Senzorická analýza čerstvých plodov

Senzorickú analýzu čerstvých plodov hodnotilo identických 7 hodnotiteľov v kontrolovaných podmienkach senzorického laboratória SPU v Nitre. Vzorky boli podané vo vybalansovanom poradí (Latinské

štvorce) a následne spracované totožným postupom ako pri analýze sušených plodov. Mapu podobnosti jednotlivých hodnotených vzoriek demonštruje obrázok 8.



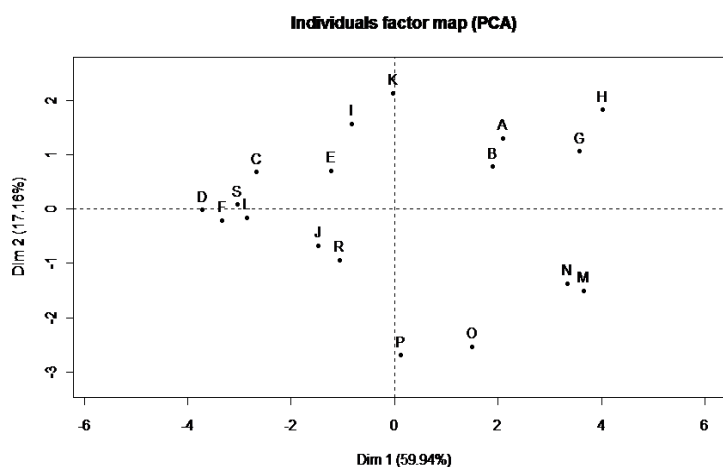
**Obrázok 8** Zaradenie vzoriek čerstvých plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) na základe senzorickej analýzy podľa metódy hlavných komponentov.

Vzorky **1DK** a **2DK** (*Diospyros kaki* L. f.) boli hodnotené ako štatisticky preukazne najlepšie, vynikali vo väčšine chuťových a texturálnych atribútov. Senzoricky sa im priblížila jedine vzorka **4DV** (*Diospyros virginiana* L. f.) no jedine v príjemnosti pachu a prehltavosti. V ostatných hodnotených atribútoch nedosahovala štatistickú preukaznosť a považujeme ju oproti spomínanej dvojici za štatisticky rozdielnu. Zhluk hodnotených vzoriek **3DV**, **8DL**, **9DL**, **7DL**, **5DV**, **11DL**, **10DL** (*Diospyros lotus* L., *Diospyros virginiana* L.) komisia hodnotiteľov považuje za identické a rozdiely medzi sledovanými organoleptickými atribútmi za zanedbateľné (nepreukazné). Vzorka **6DKDV** je zreteľne organolepticky rozlíšiteľná farebne a atraktivitou plodov sa blíži hodnotám vzoriek **1DK**, **2DK**. Hodnotitelia nemali problém rozlíšiť organoleptickú kvalitu medzi druhmi rodu *Diospyros* a hodnotili ich ako najlepšie vzorky (*D. kaki* L. f.), následne (**DV** a **DL**) a najhoršie v hodnotení celkovej kvality skončil hybrid (**DKDV**).

### Senzorická analýza dužiny plodov v mliečnych výrobkoch

Okrem hodnotenia organoleptických atribútov plodov jednotlivých druhov ebenovníkov sa senzorická komisia

zamerala aj na sledovanie atribútov na vybraných nosičoch - médiach. Ich úlohou je sprostredkovať zmyslovým atribútom samotnej plodiny akúsi pridanú hodnotu, či spoločne vytvoriť komplexný pre laického spotrebiteľa oveľa prijateľnejší vnem. Vzorky ebenovníka rajčiakového sme hodnotili na troch mliečnych médiach a to tvaroh (TV), jogurt biely (JB) a sladká smotana (SS) v rôznych pomeroch (Obrázok 9). Celý súbor vzoriek možno rozdeliť na niekoľko skupín. Vzorky **A** (TV75 – DK25), **B** (TV50 – DK50), **G** (JB75 – DK25) a **H** (JB50 – DK50) sa prejavovali intenzívnym pachom a najmenšou interakciou s médiom, pričom boli organoleptické vlastnosti jogurtu potlačené. Zhluk vzoriek **D** (TV50 – DL50), **F** (TV50 – DV50), **S** (SS50 – DV50), **L** (JB50 – DV50), **C** (TV75 – DL25) bol považovaný za preukazne sladší ako zvyšok súboru a hodnotitelia ocenili práve interakciu s médiom. Túto skupinu vzoriek možno označiť ako harmonicky sladko-kyslú. Ostatné vizuálne a texturálne atribúty boli hodnotené skôr negatívne. Poslednú veľkú skupinu tvoria vzorky **M** (SS75 – DK25), **O** (SS75 – DL25), **P** (SS50 – DL50), **N** (SS50 – DK50), kde vynikla práve textúra a vzorky **O** a **P** inklinujú ku kyslastej chuti, čo demonštruje pozícia vzoriek **P**, **O** z obrázku 9 a príslušná pozícia deskriptorov na obrázku 10.



**Obrázok 9** Zaradenie vzoriek dužiny plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) v kombinácii s mliečnymi výrobkami senzorickej analýzou podľa metódy hlavných komponentov.

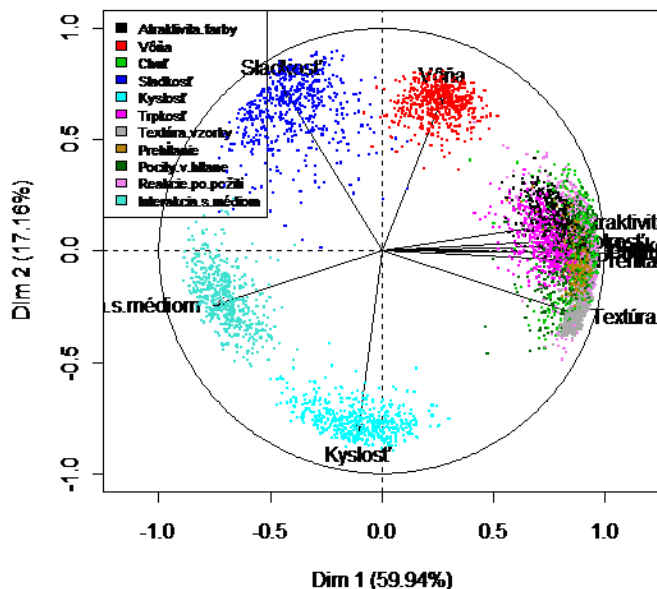
Priebeh senzorickej analýzy možno hodnotiť ako uspokojivý. Najmenší rozptyl výsledkov dosahovali

texturálne a vizuálne atribúty. Znamená to, že hodnotitelia, ktorí sa zúčastnili senzorickej analýzy bodovali jednotlivé

atribúty takmer identicky. Deskriptor vôňa bol hodnotený uspokojivo, čo demonštruje obrázok 10. Väčšie problémy

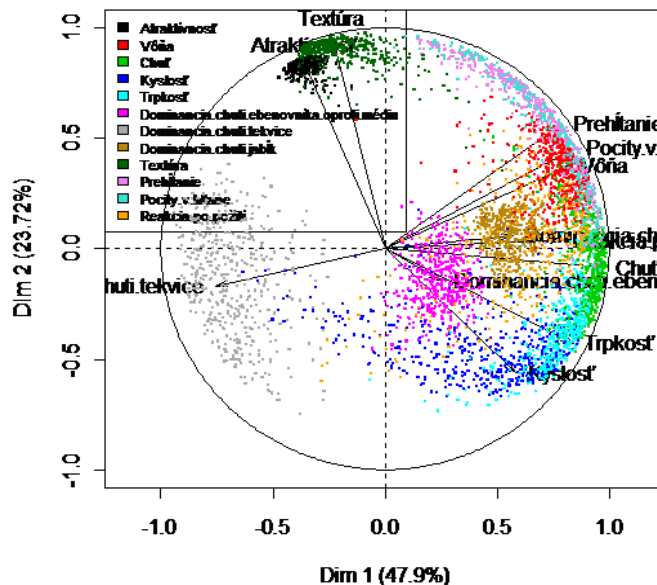
mali hodnotitelia s interpretáciou sladkosti, interakcie s médiom a kyslosťou.

Variables factor map (PCA)



Obrázok 10 Pozícia hodnotených deskriptorov pri senzorickej analýze dužiny plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) na mliečnych médiách, (R Development Core Team, 2010)

Variables factor map (PCA)



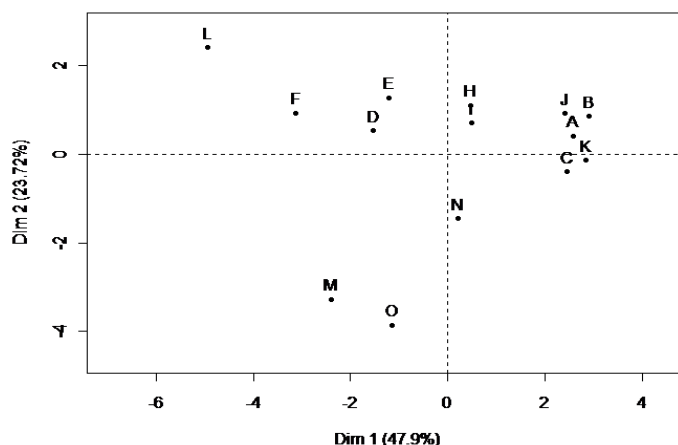
Obrázok 12 Pozícia hodnotených deskriptorov pri senzorickej analýze dužiny plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) na v kombinácii s dužinou tekvic a jablka (R Development Core Team, 2010)

**Dužina plodov v kombinácii s dužinou tekvic a jablka**

Následne sme hodnotili intenzitu organoleptických vlastností na médiách (jablko, tekvica a ebenovník) v rôznych pomeroch. V tejto sérii sa najlepšie umiestnili vzorky v kombinácii dužiny jablko a ebenovník rajčiakový **J** (DK 100), **A** (JA25 – DK75), **C** (JA75 – DK25), **K** (JA 100), **B** (JA50 – DK50). Chuťovo pôsobili s médiom veľmi harmonicky, vyznačovali sa príjemnou vôňou a v skupine medzi sebou ich hodnotitelia označili ako štatisticky preukazne rovnaké. Skupina **F** (TE75 – DK25),

**G** (JA25 – TE25 – DK50), **D** (TE25 – DK75) sa vyznačovala pozitívnym hodnotením textúrnych a vizuálnych atribútov (atraktivita pyrė). Vzorky **M** (TE50 – DV50) a **O** (DV100) boli hodnotené skôr negatívne, prejavovali sa silnou dominanciou tekvice a pôsobili mierne kyslo. Vzorka **L** napriek tomu, že pôsobila atraktívne, chuťovo bola mdlá a nevýrazná. Bližšie popisujú jednotlivé vzorky a ich chuťový prejav obrázky 11 a 12.

Individuals factor map (PCA)



Obrázok 11 Zaradenie vzoriek dužiny plodov z rôznych druhov ebenovníkov (*Diospyros* spp.) v kombinácii s jablkovou a tekvicovou dužinou senzorickej analýzy podľa metódy hlavných komponentov.

V hodnotení vzoriek v rôznych pomeroch médií možno z obrázka 10 vyčítať, že hodnotitelia bez problémov určili chuťové atribúty, textúru a atraktivitu pyrė. V určovaní dominancie chuti veľmi dobre určili dominanciu jablka, následne ebenovníka a interpretácia dominancie tekvice

s médiom spôsobila problémy, ako možno pozorovať z obrázka 10, kde je rozptyl výsledkov veľký. Rovnako nejednotne bol interpretovaný pocit prehĺtania a následne pocity v hltane (tieto deskriptory boli vybrané zámerné, pretože astringentná chuť sa prejaví na koreni jazyka).

Dokonca sa u jedného z hodnotiteľov prejavila alergická

reakcia a následne ukončil hodnotenie.

## ZÁVER

Ebenovníky sú pre mnohých konzumentov stále neznámymi plodinami. Plody týchto druhov sú zaujímavé pre svoje výživné, energetické, fytotherapeutické a organoleptické vlastnosti. Preto má význam hodnotenie plodov z uvedených druhov aj po morfologickej a organoleptickej stránke. Pre experimentálne hodnotenie sme použili plody z ebenovníka rajčiakového (*Diospyros kaki* L. f.), ebenovníka datľového (*D. lotus* L.), ebenovníka virginského (*D. virginiana* L.) a medzidruhového hybridu získaného z kríženia ebenovníka virginského s ebenovníkom rajčiakovým (*D. virginiana* L. x *D. kaki* L. f.). Pri plodoch e. rajčiakového sme určili v porovnaní s inými druhmi štatisticky preukazne najvyššie hodnoty priemernej hmotnosti (100,85 g), výšky (47,88 mm), šírky (54,50 mm) a podielu hmotnosti dužiny z celkovej hmotnosti plodov (94 %). Štatisticky preukazne najnižšie hodnoty v porovnaní s ostatnými druhmi sme určili pri plodoch ebenovníka datľového (4,37 g, 17,58 mm, 17,58 mm a 70 %). Pri ebenovníku virginskom (21,07 g, 28,06 mm, 33,14 mm a 85 %) a medzidruhových hybridoch sme neurčili významné rozdiely v hodnotených

znakoch (60,91 g, 40,68 mm, 47,48 mm a 95 %). Vo všeobecnosti sa tvorí najmenší počet semien v plodoch pri medzidruhových hybridoch (1,7 ks) a najviac pri ebenovníku datľovom (4,5 ks). Podiel hmotnosti semien / kalicha v plodoch sme určili od 1,5 % (medzidruhový hybrid) do 6,5 % (ebenovník datľový a ebenovník virginský). Senzorickú analýzu sme uskutočnili na čerstvých plodoch a ich dužine zmiešanej s jogurtom, tvarohom a smotanou (chuťové nosiče - média). Pre organoleptické hodnotenie sme vyvinuli vlastné deskriptory a kombinovanú hedonicko-intenzitnú škálu. V organoleptických znakoch sme určili významné rozdiely hlavne medzi e. datľovým a ostatnými hodnotenými druhmi. Rozdiely boli pozorované pri čerstvých aj sušených plodoch v prospech ebenovníka rajčiakového. Plody e. datľového ako aj z nich vyrobené výrobky vykazovali štatisticky preukazne vyššiu trpkosť a kyslosť. Hodnotenie plodov ebenovníka na chuťovom nosiči odhalilo medzi nimi signifikantné rozdiely. Senzorická komisia sa zhodla, že najhodnejším nosičom pre plody ebenovníka je smotana.

## LITERATÚRA

AYAR, A., SERT, D., KALYONCU, I. H., YAZICI, F. 2006. Physical, Chemical, Nutritional and Organoleptic Characteristic of Fruit Added Yogurts. In *Journal of Food Technology*, vol. 4, 2006, no. 1, p. 44-49.

BEI, W., PENG, W., MA, Y., XU, A. 2005. Flavonoids from the Leaves of *Diospyros kaki* Reduce Hydrogen Peroxide-induced Injury of NG108-15 Cells. In *Life Sciences*, vol. LXXVI., 2005, no. 11, p. 1975-1988.

BELLINI, E., GIORDANI, S. 2005. Germplasm and breeding of persimmon in Europe. In *Acta Horticulturae*, 2005, no. 685, p. 65-69.

FLETCHER, W. P. 1942. *The Native Persimmon*. USDA Farmers Bulletin 685. 28 p.

FURUSAWA, M., TANAKA, T., ITO, T., NAKAYA, K. I., ILIYA, I., OHYAMA, M., IINUMA, M., MURATA, H., INATOMI, Y., INADA, A., NAKANISHI, T., MATSUSHITA, S., KUBOTA, Y., SAWA, R., TAKAHASHI, Y. 2005. Flavonol Glycosides in Leaves of Two *Diospyros* Species. In *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. LIII., 2005, no. 5, p. 591-593.

GOROBYETZ, A. V., BANDYOKOVA, V. A., FISHMAN, G. I., 1985. Flavonoidi Diospyros. *Khimiya prirod. soyedinyeniya*, 1985, no. 5, p. 710-711.

GRYGORIEVA, O., BRINDZA, J., KLYMENKO, S., Z., TÓTH, D. 2010. Nutričná a fytofarmakologická hodnota plodov ebenovníka rajčiakového (*Diospyros kaki* L.). In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, mimoriadne číslo, p. 40-47.

GRYGORIEVA, O., KLYMENKO, S., BRINDZA, J., KOCHANOVA, Z., TOTH, D., DEREVJANKO, V., GRABOVECKA, O. 2009a. Introduction, breeding and use of persimmon species (*Diospyros* spp.) in Ukraine. In *Acta Hort.* (ISHS), 2009a, no. 833, p. 57-62.

GRYGORIEVA, O., KLYMENKO, S., BRINDZA, J., KOCHANOVA, Z., TÓTH, D., DEREVJANKO, V., GRABOVECKA, O. 2009b. Morphometrical analysis of

*Diospyros lotus* population in the Mlyňany Arboretum, Slovakia. In *Acta Hort.*, 2009b, no. 833, p. 145-150.

HAZRA, B., KUMAR, B., BISWAS, S., PANDEY, B. N., MISHRA, K. P. 2005. Enhancement of the Tumour Inhibitory Activity, *in vivo*, of *Diospyrin*, a Plant-Derived Quinonoid, Through Liposomal Encapsulation. In *Toxicology Letters*, vol. CLVII., 2005, no. 2, p. 109-117.

HEATON, D. D. 1997. *A Produce Reference Guide to Fruits and Vegetables from Around the World*. New York : Food Products Press, 1997. 79 p. ISBN 1-56022-865-2.

HOSOTANI, K., KAWAHATA, A., KOYAMA, K., MURAKAMI, C., YOSHIDA, H., YAMAJI, R., INUI, H., NAKANO, Y. 2004. Effect of Carotenoids and Ascorbic Acid of Japanese Persimmons on Cellular Lipid Peroxidation in HepG2 Cells. In *Biofactors*, vol. XXI., 2004, no. 1-4, p. 241-245.

CHANDLER, W. H. 1965. *Deciduous Orchards*. Lea and Febiger Pub. Philadelphia, USA. FAO, 1997.

CHEN, C. R., CHENG, C. W., PAN, M. H., LIAO, Y. W., TZENG, C. Y., CHANG, C. I. 2007. Lanostane-Type Triterpenoids From *Diospyros discolor*. In *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. LV., 2007, no. 6, p. 908-911.

CHEN, G., XUE, J., XU, S. X., ZHANG, R. Q. 2007. Chemical Constituents of the Leaves of *Diospyros kaki* and Their Cytotoxic Effects. In *Journal of Asian Natural Products Research*, vol. 11, 2007, no. 4, p. 347-353.

JOSLIN, M. A., GOLDSTEIN, G. L. 1964. Changes in phenolic content in persimmons during ripening and processing. In *J. Agrical. Food Chem*, vol. 12, 1964, no. 6, p. 67-72.

KIRILLOVA, V.V., KOCHURINA, A. P., KARBA, I. P., 1984. Biokhimicheskaya kharakteristika nyekotorikh soobtropichyeskikh plodovikh kooltoor. Izoohyeniye rastityelnykh ryesoosov v oosloviyakh vlaznykh subtropikov. L., 1984, vip. 141, s. 37-40.

- KREMER, B. 1995. *Stromy*. Bratislava : Ikar, 1995. p. 250-251. ISBN 80-7118-177-3.
- LEE, J. S., LEE, M. K., HA, T. Y., BOK, S. H., PARK, H. M., JEONG, K. S., WOO, M. N., DO, M., YEO, J. Y., CHOI, M. S. 2006. Supplementation of Whole Persimmon Leaf Improves Lipid Profiles and Suppresses Body Weight Gain in Rats Fed High-Fat Diet. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. XCIV., 2006, no. 11, p. 1875-1883.
- LYEKLYEYSHVILI, I. S., 1959. Kultura churmi v Gruzii. Soobtropichyeskiye kooltoori. M.: Gosoodarstvyennoye izdaniye s/kh lityeratoori, 1959, s. 161-169.
- MAISENHELDER, L. C. 1971. *Common persimmon (Diospyros virginiana)*. U.S. : Dep. Agric. F. S. 250. 6 p.
- MAREČEK, F. et al. 2001. *Zahradnický slovník naučný 5 R-Ž*. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2001. p. 174-175. ISBN 80-7271-075.
- NABIYEV, A. A. 1998. Razlichniye tyekhnologii poloocheniya vin iz khoormi. Agrarnaya naoka. No. 3, 1998, s. 19.
- NOWAK, B., SCHULZOVÁ, B. 2002. *Tropické plody*. Bratislava : Ikar, 2002. p. 146-147. ISBN 80-551-0318-6.
- NYESTYERYENKO, G. A. 1950. Kultura churmi. – M. In: *Gos. izd-vo s.-kh. lit-ri*, 1950-1980 p. One Way Analysis of Variance. 2010. [online]. [cit. 2010-01-22] Retrieved from the web: <<http://department.obg.cuhk.edu.hk/ResearchSupport/OWAV.asp>>.
- PARK, C. G., LEE, K. C., LEE, D. W., CHOO, H. Y., ALBERT, P. J. 2004. Effects of Purified Persimmon Tannin and Tannic Acid on Survival and Reproduction of Bean Bug *Riptortus clavatus*. In *Journal of Chemistry and Ecology*, vol. XXX., 2004, no. 11, p. 2269-2283.
- PASENKOV, A. K. 1970. The results of varietal testing of oriental persimmon at the Nikita Botanical Garden. In *Tr. Nikitsk. botan. sad.*, vol. 47, 1970, p. 5-92.
- PATHAK, D., PATHAK, K., SINGLA, A. K. 1991. Flavonoids as medicinal agents – Recent advances. In *Fitoterapia*. 1991, no. 5, p. 371-389.
- PERSIMMON CALYX. ZHEIJANG : Hangzhou Botanical Technology Co., Ltd. [online]. [cit. 2009-10-15] Retrieved from the web: <[http://www.alibaba.com/product-gs/277680354/Persimmon\\_Calyx\\_Di.html](http://www.alibaba.com/product-gs/277680354/Persimmon_Calyx_Di.html)>.
- POSPÍŠIL, F., HRACHOVÁ, B. 1990. *Ovocnictví (Tropické a subtropické ovocné druhy)*. Skriptum Brno : VŠZ, 1990. 195 p.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2010. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Sell Persimmon Calyx Extract. Xiamen Fujian: EC 21 [online]. [cit. 2010-01-22] Retrieved from the web: <[http://www.ec21.com/offer\\_detail/Sell\\_Persimmon\\_Calyx\\_Extract--8345143.html](http://www.ec21.com/offer_detail/Sell_Persimmon_Calyx_Extract--8345143.html)>.
- SUGIURA, A. 2005. Retrospects and Prospects on Persimmon Research. In *Acta Horticulturae*, vol. 685, 2005, p. 177-187.
- THUONG, P. T., LEE, C. H., DAO, T. T., NGUYEN, P. H., KIM, W. G., LEE, S. J., OH, W. K. 2008. Triterpenoids from the leaves of *Diospyros kaki* (persimmon) and their inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B. In *J. Nat. Prod.*, vol. 71, 2008, no. 10, p. 1775-1778.
- ZARYETZKIY, A. Ya., 1934. Yaponskaya churma. L.: Izdaniye Vsesoyoznogo in-ta rastyenyevodstva, 1934, 55 p.

### Pod'akovanie

Táto publikácia bola vytvorená realizáciou projektu „Podpora inovácie technológií špeciálnych výrobkov biopotravín pre zdravú výživu ľudí“ ITMS 26220220115 na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

### Contact address:

Mgr. Oľga Grygorieva, PhD., M. M. Grishko National Botanical Gardens of Ukraine National Academy of Sciences, Timiryazevska 1, 01014 Kiev, Ukraine. E-mail: [ogrygorieva@mail.ru](mailto:ogrygorieva@mail.ru)

doc. Ing. Ján Brindza, PhD., Institute of Biological Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. Tel.: +421 376 414 787, E-mail: [Jan.Brindza@uniag.sk](mailto:Jan.Brindza@uniag.sk)

Ing. Vladimír Vietoris, PhD., Department of Storing and Processing of Plant Products, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture in Nitra. Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: [vladimir.vietoris@uniag.sk](mailto:vladimir.vietoris@uniag.sk)

Ing. Lucia Kucelová, Institute of Biological Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra,

Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. Tel.: +421376414787, E-mail: [lucia.kucelova@uniag.sk](mailto:lucia.kucelova@uniag.sk)

Ing. Dezider Tóth, DrSc. Institute of Biological Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. Tel.: +421376414787, E-mail: [dezider.toth@uniag.sk](mailto:dezider.toth@uniag.sk)

Ing. Vlasta Abraham, Institute of Biological Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. Tel.: +421376414787, E-mail: [vlasta.abraham@uniag.sk](mailto:vlasta.abraham@uniag.sk)

Ing. Miroslava Hricová, Institute of Biological Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. Tel.: +421376414787, E-mail: [miroslava.hricova@uniag.sk](mailto:miroslava.hricova@uniag.sk)

doi:10.5219/96

## ORGANIC PRODUCTS, CONSUMER BEHAVIOR ON MARKET AND EUROPEAN ORGANIC PRODUCT MARKET SITUATION

*Dagmar Kozelová, Ladislav Mura, Eva Matejková, Lubomír Lopašovský, Vladimír Vietoris, Andrea Mendelová, Magdaléna Bezáková, Marcela Chreneková*

### ABSTRACT

The market of organic products around the world increased its volume in Central and Eastern Europe with organic food market has a number of shared features, which include the relatively low demand for organic food, low share of regular customers, the problems of producers marketing, the lack of enterprises which process organic products. Consumer behavior purchasing organic foods is influenced by several factors, among which is dominated consumer personality, income, finances and lifestyle, as well as psychological factors such as perception, motivation, learning, cognition and attitudes. Cultural and social factors in consumer behavior exhibit a lesser degree. Organic fruit and organic vegetables quality is generally higher for content of biologically active substances such as vitamins, polyphenols and flavonoids. The content of pesticide residues in organic food is significantly lower than conventional production. Regular monitoring of chemical and microbiological safety of organic products already in the primary production occurring in the raw state and after working in various sectors of food, an intensification of awareness raising and targeted increased support for organic agriculture. Multifunctional sector and increased support for family farms oriented for sectors with higher added value than the home sale, production processing on the farm and so on. By support of the sale of high quality domestic production by the state will be possible to persuade more people to personal health status and greater consumption of organic food affects the health and prevent the occurrence of various diseases.

**Keywords:** organic product, consumer behavior, consumption, eco-farming

### ÚVOD

Vplyv globalizačných javov a trendov sa prejavuje ako v poľnohospodárskom sektore, tak aj v priemysle a tiež v sektore služieb a odráža sa aj v správaní spotrebiteľov pri kúpe potravín. Biopotraviny predstavujú špecifický segment na trhu potravín. Typického spotrebiteľa biopotravín charakterizuje starostlivosť o zdravie, aktívny prístup k sebe a k svojmu okoliu, má vysokú mieru osobnej zodpovednosti a zodpovednosti k ostatným (aj k budúcim generáciám), preferuje aktívny a zdravý životný štýl. Bioprodukty majú niektoré vlastnosti špecifické, čím sa líšia od produktov vyrobených konvenčným spôsobom.

Ekologická poľnohospodárska výroba je podľa **Jordana et al. (2009)** závislá od šírenia výsledkov výskumov zameraných na ekosystémy a na technológie šetrné k životnému prostrediu.

Registrovaní ekologickí prevádzkovatelia, producenti bioproduktov a výrobcovia biopotravín, rozvíjajúci zelenú ekonomiku, musia dodržiavať prísne podmienky výroby. V takejto výrobe by manažmenty podnikov mali mať dostatok informácií aj o využívaní biotechnológií v rastlinnej a živočíšnej výrobe. V riadiacej činnosti by sa mala odrážať súčasná úroveň poznatkov o poľnohospodárstve a naň naväzujúcich sektorov národného hospodárstva aktívnym uplatňovaním poznatkovej (vedomostnej) ekonomiky. Dodržiavanie zásad správnej poľnohospodárskej praxe, systému správnej výrobnéj praxe a princípov HACCP, efektívne využívanie hnojív, kontrolu všetkých rastlinných a živočíšnych poľnohospodárskych produktov určených na priamy konzum ako aj na ďalšie spracovanie považujeme v celom výrobnom reťazci z dôvodu zachovania bezpečnosti týchto bioproduktov a biopotravín za nevyhnutné.

Prevažne malovýrobný spôsob získavania a distribúcie bioproduktov a biopotravín vyžaduje v rámci ochrany

spotrebiteľa spoľahlivý certifikačný a kontrolný systém dodržiavania podmienok produkcie a vymedzenie štandardizácie produktov v zrozumiteľných ukazovateľoch (**Frančáková, 2002**).

Výroba na biofarmách je významná z hľadiska udržania a posilnenia výroby bezpečných potravín a zdravia vo všetkých fázach a úrovniach agroekosystému (**Ghorbani et al., 2010**) a vo svojom rozvoji prihliada na ekologické, ekonomické a sociálne aspekty a môže byť úspešná jedine pri zosúladení mnohých interakcií navzájom a v tesnej interdisciplinárnej spolupráci so všetkými súvisiacimi vednými oblasťami (**Härdtlein et al., 1998**). Podľa **Gecíkovej (2008)** poľnohospodárske podniky okrem tradičných poľnohospodárskych aktivít poskytujú najmä poľnohospodárske služby a z diverzifikovaných činností realizujú najmä tie, ktoré nie sú viazané na pôdu ako remeslá, autoservis, autodoprava, diverzifikácia činností viazaných na pôdu ako agroturistika, prevádzka píly atď. je málo rozvinutá. Poľnohospodárska výroba bude podľa **Latacz-Lohmanna (1999)** silne trhovo orientovaná a regionálne diferencovaná, orientovaná na regionálne značky kvality a multifunkčného charakteru.

Poľnohospodárstvo ako odvetvie národného hospodárstva aj napriek poklesu počtu stálych pracovníkov za ostatné roky zohráva dôležitú úlohu v ekonomickej základni regiónov Slovenska (**Geciková et al. 2010**). Význam daného regiónu meraný lokalizačným kvocientom naznačuje, že sa jedná o bázičné odvetvie a má nadpriemerný význam v ekonomickej štruktúre väčšiny vidieckych regiónov SR (**Kozelová, 2006**).

Aby zostali producenti a predajcovia biopotravín úspešní na trhu, musia reagovať na meniace sa očakávania spotrebiteľov (**Organic Monitor, 2009**) a tiež poznať ako nakupujú.

Teória spotrebiteľského správania definuje nielen spotrebiteľa, ktorý identifikuje svoje potreby a želania, robí nákupy a disponuje produktom počas procesu spotreby, ale i kupujúceho, ktorý výrobok nakupuje, ale nespotrebuje a iniciátora kúpy poskytujúceho odporúčania ku kúpe a ovplyvňujúceho nákupné rozhodnutia. Človek spotrebúva výrobky a služby za účelom uspokojenia svojich potrieb súvisiacich s existenciou a osobným rozvojom (**Nagyová a Tonkovičová, 2004**).

Podľa členov európskej technologickkej platformy TP Organics sa po roku 2025 budú ľudia stravovať zdravšie a vyváženejšie. Zmenia sa preferencie v prospech biopotravín. Potraviny sa budú spracovávať iba minimálne. Bude viac oceňovaná ich špecifická chuť a jej regionálne podoby (**Rural Europe, 2009**).

Cieľom príspevku je na základe dostupných domácich a zahraničných literárnych zdrojov popísať vybrané faktory, ktoré vplyvajú na správanie spotrebiteľov pri kúpe biopotravín, poukázať na existujúce rozdielnosti medzi konvenčnými a ekologickými potravinami ako aj naznačiť spôsoby zvyšovania spotreby biopotravín.

Na spotrebiteľské správanie pôsobia faktory kultúrne, spoločenské, osobné, psychologické a situačné. Kultúrne faktory súvisia s kultúrnym prostredím, v ktorom spotrebiteľ vyrástol a žije. Spoločenské faktory súvisia so spoločenskými skupinami, ktoré majú vplyv na jedinca a v ktorých je jednotlivec členom. Patria k nim rodina a skupiny na základe spoločenského alebo pracovného postavenia. Osobné faktory súvisia s demografickou charakteristikou spotrebiteľa a zahŕňame k nim zamestnanie, príjem financií, osobnosť spotrebiteľa a životný štýl. Psychologické faktory súvisia s psychologickými procesmi, ktoré vplyvajú na ľudské správanie, v nákupnom správaní rozlišujeme vnímanie, motiváciu, učenie a poznávanie a postoje. Situačné faktory vytvárajú prostredie konkrétnej rozhodovacej situácie. Dôležitým faktorom spotrebiteľského správania je aj miesto predaja.

### Znalosť produktov

V rozhodovacom procese spotrebiteľa zohrávajú významnú úlohu viaceré faktory a podľa **Alba a Hutchinsona (1987)** a **Brucksa (1985)** znalosť produktov patrí k jedným z nich. Priaznivý vplyv na výber potravín má aj dostatočná úroveň vedomostí spotrebiteľa a dostatok spoľahlivých informácií o výrobkoch (**Verbeke, 2008**). Túto skutočnosť potvrdzuje aj analýza názorov spotrebiteľov na biopotraviny, ktorú uskutočnili **Kozelová et al. (2010)**, pri skúmaní poznania pojmu biopotraviny a nákupného správania spotrebiteľov. Znalosti všeobecne vo vzťahu k správaniu spotrebiteľa pri kúpe potravín skúmali tiež **Radecki a Jaccard (1995)**. V súvislosti s nákupom biopotravín sa problematike označovania biopotravín venovali **Kozelová et al. (2011)**, podľa ktorých je potrebné informovanosť spotrebiteľov o označovaní biopotravín logami zvýšiť.

### Postoje spotrebiteľov k produktom

Spotrebiteľské správanie ovplyvňujú aj postoje. Tie sa formujú na základe naučených hodnôt a názorov, vlastných skúseností spotrebiteľa s daným produktom, na základe informácií od priateľov, známych a rovesníkov, na základe nasadenia nástrojov komunikačného mixu akými

sú reklama, podpora predaja, vzťahy s verejnosťou, osobný predaj.

Postoje spotrebiteľov k značkovým produktom charakterizovala **Vysekalová (2004)**, podľa ktorej sa vyskytujú nasledovné typy postojov: negatívny postoj k značkovým produktom, výrazne podmienený nízkymi príjmami; pozitívny postoj k značkovým produktom celkovo, menej výrazný vo vzťahu ku konkrétnym značkám; rezervovaný postoj (antisnobizmus spojený s preferenciou lacnejšieho tovaru); pozitívny postoj ku konkrétnym značkám.

Pozitívny vzťah medzi postojom k výrobku a správaním spotrebiteľa potvrdzujú výsledky prác **Aertsensa et al. (2009)**, **Chena (2007)**. Spotrebiteľské správanie pri kúpe biopotravín skúmali aj **de Magistris a Gracia (2008)**, **Verbeke (2008)**. **Dean et al. (2008)** zistili, že v rozhodovacom procese pri nákupe biopotravín zohrávajú dôležitú úlohu tiež morálne a etické postoje spotrebiteľa. Podľa **Magnussona et al. (2001)** a **Stobbelaara et al. (2007)** mladí ľudia majú pozitívny postoj k ekologickým potravinám aj napriek tomu, že ich obmedzený príjem financií nedovoľuje kupovať pravidelne tieto výrobky.

### Motívy kúpy biopotravín

Ďalším faktorom ovplyvňujúcim spotrebiteľa pri jeho nákupoch sú motívy. **Padel a Foster (2005)** uvádzajú, že v rozhodovacom procese spotrebiteľ motívy a bariéry kúpy biopotravín vyhodnocuje komplexne a že medzi jednotlivými kategóriami biopotravín sa tieto môžu líšiť. Motívy kúpy biopotravín analyzovali tiež **Aertsens et al. (2009)**, **Schifferstein a Ophuis (1998)**, **Matysik – Pejas a Szafranska (2009)**, **Kozelová et al. (2010)** a ďalší. Skúmaním etických aspektov motívov kúpy biopotravín sa zaoberali **Zander a Hamm (2010)**, ktorí zistili, že dobré životné podmienky zvierat – welfare zvierat, regionálna produkcia, spravodlivé ceny pre poľnohospodárov - fair price patria k najdôležitejším etickým atribútom z pohľadu spotrebiteľov, pričom cena bioproduktu sa ukázala ešte dôležitejším faktorom ako tieto uvádzané etické aspekty kúpy biopotravín.

Úlohu etiky a morálky jednotlivca u talianskych a francúzskych spotrebiteľov pri vytváraní modelu nákupného správania spotrebiteľov biopotravín a pri analyzovaní vplyvu etických a morálnych motívov v reklamnej stratégii orientovanej na zvýšenie spotreby biopotravín skúmali **Guido et al. (2010)**.

Motívy kúpy biopotravín čínskych spotrebiteľov skúmali **Shijiu et al. (2010)** a zistili, že sú silne ovplyvnené faktormi, akými sú príjem financií, miera dôvery v biopotraviny, miera akceptácie ceny biopotravín a obavy spotrebiteľov o vlastné zdravie a len mierne ovplyvnené faktormi akými sú vek spotrebiteľov, úroveň vzdelania a záujem o ochranu životného prostredia.

### Biopotraviny verus konvenčné potraviny

V nákupnom správaní spotrebiteľa v procese rozhodovania zohráva možnosť voľby medzi organickými a konvenčnými potravinami významné miesto (**Dean et al., 2008**). Mikrobiologickú analýzu kvality vajec z ekologického a konvenčného chovu nosníc vykonali **Kačániová et al. (2006)**, ktorí porovnaním výsledkov jednotlivých skupín mikroorganizmov v chove nosníc zistili, že na povrchu škrupín vajec v ekologickom chove

boli počty koliformných baktérií, počet baktérií *Escherichia coli*, počet laktobacilov a počet mezofilných a aeróbných sporulujúcich mikroorganizmov nižší oproti konvenčnému chovu, počet enterokokov a mikroskopických vláknitých húb bol nižší v konvenčnom chove nosníc.

Porovnanie kvality mäsa mladého hovädzieho dobytká z oboch systémov hospodárenia na pôde uskutočnili **Hornánová et al. (2005)** a **Čuboň et al. (2005)**. Z výskumu **O'Donovana a McCarthyho (2002)** vyplnilo, že spotrebiteľia považujú ekologické mäso za lepšie v porovnaní s mäsom konvenčným a to z hľadiska kvality, bezpečnosti, označenia, výrobných metód a nutričnej hodnoty.

Základné jatočné ukazovatele, kvalitu mäsa, jeho chemické zloženie a energetickú hodnotu ako aj ďalšie ukazovatele u 2 genotypov kurčiat z ekologického chovu porovnávali **Čuboň et al. (2007)**, podľa ktorých kurčatá genotypu Ross 308 (genotyp Ross 308 je šľachtený pre konvenčný systém výkrmu, kde dosahuje vysokú intenzitu rastu, avšak pri intenzívnej výžive) v podmienkach ekologického poľnohospodárstva dosahujú nižšiu intenzitu rastu, vyšší podiel abdominálneho tuku, približne o 1 % nižší podiel bielkovín v prsnej svalovine a približne o 1 % vyšší podiel bielkovín v stehrovej svalovine ako kurčatá plemena Oravka, pričom obidva genotypy sú vhodné pre podmienky ekologického poľnohospodárstva, ale chovateľ si musí uvedomiť, že sa nejedná o intenzívny výkrm a Ross 308 nedosiahne jatočnú zrelosť za 42 ale za 120 dní.

Analýzy surového a pasterizovaného ovčieho mlieka, vyrobeného na ekologickej farme, zamerané na celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*, počet *Staphylococcus aureus*, prítomnosť *Listeria monocytogenes*, dôkaz *Salmonella spp.* vykonali **Necidová et al. (2010)**.

U naturálne funkčných biopotravín probiotického charakteru, medzi ktorými má výnimočné postavenie tradičná slovenská bryndza a žinčica, komplexné pôsobenie niektorých zložiek mlieka dokáže zvyšovať odolnosť organizmu proti rizikovým environmentálnym faktorom, pričom srvátka, získaná zvlášť z ovčieho mlieka, obsahuje aj rôzne bielkoviny viažuce železo a iné minerálne látky, vitamíny A, D, B<sub>12</sub>, riboflavín, kyselinu listovú a iné a vyznačuje sa okrem antioxidantných účinkov aj antihypertenznými, hypolipidemickými, antiobéznymi, antimikrobiálnymi, protirakovinovými, antiosteoporotickými vlastnosťami a podporuje aj regeneráciu svalov (**Keresteš, 2008**). K probiotickým baktériám patria: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* a ďalšie (**Axelson, 1998**). Tieto živé kultúry pôsobením enzýmov vyvolávajú charakteristické biochemické zmeny mlieka a mliečnych výrobkov sprevádzané znížením pH, vyzrážaním bielkovín a tvorbou aromatických látok. Zdravotne priaznivé vlastnosti sa však pripisujú najmä probiotickým baktériám z rodov *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (**Drábeková a Lengyelová, 2004; Lengyelová et al., 2010**).

Nutričnú, hygienickú, technologickú a senzorickú kvalitu rastlinných produktov ako aj spracovanie záhradníckych

produktov a bioproduktov popisuje **Frančáková (2002)**, podľa ktorej je obsah bielkovín v bioproduktoch niekedy nižší, ako dôsledok deficitu dusíka pri absencii priemyselných hnojív, avšak biologická hodnota charakterizovaná zastúpením esenciálnych aminokyselín je priaznivejšia. Kontrolu kvality ovocia a zeleniny, ich chemickú a senzorickú analýzu vykonávajú ako aj technológiami výroby konzervárenských výrobkov vrátane výroby detských ovocných výživ sa venujú **Mendelová et al. (2010)**. Vyššia kvalita bioovocia a biozeleniny spočíva vo všeobecne vyššom obsahu biologicky aktívnych látok ako sú napríklad vitamíny, polyfenoly, flavonoidy. Obsah reziduí pesticídov je u biopotravín podstatne nižší ako u konvenčnej produkcie. Bioprodukty majú zároveň lepšie predpoklady na skladovanie vďaka vyššiemu obsahu sušiny a pevnejšej štruktúre. **Frančáková (2002)** uvádza, že pri štatistickom vyhodnotení 50 prác zameraných na nutričnú kvalitu potravín uskutočnených v Európe neboli preukazné rozdiely medzi obsahom fosforu (P), draslíka (K) a vápnika (Ca) pri produktoch konvenčného a ekologického poľnohospodárstva, v bioproduktoch bol však stanovený vyšší obsah horčíka (Mg) a železa (Fe), čo sú spoločne s draslíkom prvky dôležité pri prevencii ochorení vyvolaných stresom a porúch srdcovej činnosti.

### Cena biopotravín

Spotrebiteľia, ktorí poznajú výhody biopotravín, sú viac ochotní kupovať ich a sú si vedomí dôvodov pre stanovenie vyššej ceny za tento tovar (**Botonaki et al., 2006**). Tvorba ceny biopotravín je však niekedy problematická. Vyššie výrobné náklady na ekologickú produkciu zemiakov a nižšie výnosy v porovnaní s konvenčne vyrábanými zemiakmi spôsobili celkový pokles ekologickej výroby zemiakov vo Švédsku, aj napriek tomu, že v posledných desaťročiach sa podiel ekologickej certifikovanej poľnohospodárskej výroby neustále zvyšuje, výmera ekologickej produkovaných zemiakov poklesla o 30 % v priebehu rokov 2001 - 2006, a momentálne predstavuje 2,5 % podiel z celkovej výmery zemiakov vo Švédsku (**Hagman et al. 2009**).

U kategórie biomäso vplyv vyššej ceny na rozhodovanie spotrebiteľa o jeho kúpe analyzovali **O'Donovan a McCharthy (2002)**, pričom na nejasnosti s vyčíslením nákladov poukazujú **Galletto et al. (2007)**. Vo vyššej cene za ekologické ovocie a zeleninu sa premietajú podľa **Via a Nucifora (2002)** okrem vyššej kvality produktov aj ďalšie premenné ako napr. extra služby zákazníkom.

Ceny biopotravín sú vyššie ako ceny konvenčných potravín. Dôvody sú viaceré, samotné náklady na výrobu biopotravín sú o 10 - 40 % vyššie, roztrúsená výroba, nedostatočná ponuka, pomerne vysoké náklady na dopravu i logistiku, sústredenie predaja v špecializovaných obchodoch a problémy s realizáciou produkcie (**Matysik - Pejas a Szafranska, 2009**).

**Zander a Hamm (2010)** skúmaním virtuálneho rozhodovania spotrebiteľov o kúpe biopotravín z 5 krajín - Rakúska, Nemecka, Talianska, Švajčiarska a Veľkej Británie - zistili, že väčšina účastníkov prejavila ochotu platiť k základnej cene za 1 liter biomlieka aj príplatok za ďalšie etické atribúty biopotravín vo výške najviac 20 %. Autori však upozorňujú na skutočnosť, že s týmito závermi je potrebné zaobchádzať opatrne, pretože respondenti boli v hypotetickom rozhodovaní o kúpe a tieto výsledky sa od



skutočného nákupného správania môžu líšiť. Autori ďalej virtuálne skúmali odhad podielu environmentálnych výdavkov spotrebiteľmi v cene potravín.

**Nagyová a Golian (2007)** v rámci skúmania názorov spotrebiteľov na značky kvality, ich znalosť a bezpečnosť potravín zistili, že v Slovenskej republike 30,1 % respondentov si uvedomuje, že kvalitný výrobok je zároveň aj drahší, 63,6 % respondentov uviedlo, že záleží na konkrétnom výrobku a 4,0 % respondentov uprednostňuje skôr lacnejšie výrobky bez ohľadu na kvalitu. V Českej republike sú názory spotrebiteľov v relatívnom vyjadrení veľmi podobné.

### Štruktúra spotrebiteľov

Profil spotrebiteľov biopotravín sa zdá byť rôznorodý, pretože zahŕňa aj sociálno-ekonomické a psychologické aspekty (**Cicia et al., 2009**). Sociálno-ekonomickým faktorom nákupného správania spotrebiteľov je i výška príjmov spotrebiteľa. Biopotraviny nakupujú viac spotrebiteľia strednej a vyššej úrovne príjmov (**O'Donovan a McCharthy, 2002**) a vyššieho vzdelania (**Aguirre, 2007**).

Štruktúru spotrebiteľov biopotravín podľa pohlavia sledovali aj **Davies et al. (1995)**, ktorí vo svojom prieskume zistili, že pravidelnejšie nakupujú biopotraviny ženy. **Aguirre (2007)** uvádza, že biopotraviny vyhľadávajú viac ženy a konkrétne ženy stredného veku. Podľa **Ureňu et al. (2008)** muži sú viac ochotní platiť vyššie ceny za nákup biopotravín ako ženy.

### Bioprodukcia v EÚ

V správe Európskej komisie o konkurencieschopnosti bioprodukcie v EÚ sa hovorí o jej expanzii počas posledných desiatich rokov. Naproti tomu spotreba bioproduktov zatiaľ predstavuje len malý podiel na trhu potravín v EÚ. Od roku 2000 do roku 2008 sa výmera plodín pestovaných ekologicky zvýšila zo 4,3 milióna na 7,6 milióna hektárov, čo predstavuje nárast asi o 7,4 % ročne. Ekologické hospodárenie v EÚ-12 bolo pred desiatimi rokmi zanedbateľné, od roku 2000 však ročne rástlo v priemere o 20 % a v roku 2008 dosiahla jeho výmera 1,46 milióna hektárov. V EÚ-15 je to až 6,2 milióna hektárov a predstavuje 80 % výmery ekologicky pestovaných plodín v EÚ. Ročne sa výmera v EÚ-15 zvyšuje asi o 6 %. V roku 2008 bola najväčšia výmera takejto produkcie v Španielsku (1,13 milióna ha), Taliansku (1 milión ha), Nemecku (0,91 milióna ha), Veľkej Británii (0,72 milióna ha) a Francúzsku (0,58 milióna ha), čo je spolu 56,8 % celej EÚ (**Agra Europe, 2010**).

### Spotreba biopotravín vo vybraných krajinách Európy

Najvýznamnejšími spotrebiteľmi biopotravín v roku 2008 boli Dáni (110 eur na obyvateľa), Švajčiari (108 eur na obyvateľa) a Rakušania (90 eur na obyvateľa). Najväčší podiel biopotravín na celkovej spotrebe nápojov a potravín je v Dánsku 6 %, Rakúsku 5,3 %, Švajčiarsku 4,5 % a v Nemecku 3,2 %, český spotrebiteľ na nákup biopotravín v roku 2007 vynaložil priemerne 126 Kč (na celkovej spotrebe potravín to predstavuje 0,55 % podiel) uvádza **Václavík cit. Košťál (2009)**. Podľa správy Európskej komisie, napriek zvyšujúcej sa výmere ekologicky pestovaných plodín pripadajú na toto odvetvie

len 2 % celkových výdavkov na potraviny v EÚ. Viac ako 80 % ekologickej produkcie EÚ sa spotrebováva v Nemecku, Veľkej Británii, Francúzsku a Taliansku, pri priemernom ročnom zvýšení o 18,1 %, ktoré zaznamenalo Francúzsko v rokoch 2005 až 2009. Rakúsko vedie v ponuke biopotravín v supermarketoch (**Agra Europe, 2010**).

Faktorovú analýzu spotreby biozeleniny v Belgicku uskutočnili **Pieniak et al. (2010)**, ktorí zistili, že subjektívne poznanie je dôležitým faktorom pri hodnotení spotreby biozeleniny. Autori ďalej uvádzajú, že spotrebiteľia boli veľmi dobre informovaní o výrobe ekologickej zeleniny a ich subjektívne poznanie bolo na strednej až nízkej úrovni.

Zisťovaniu situácie na trhu biopotravín na Slovensku sa venoval **Kretter (2005)**. Vo svojej analýze dospel k záveru, že viac ako polovica respondentov má pozitívne skúsenosti s bioovocím a biozeleninou, avšak pravidelne ich kupuje iba 7,2 % spotrebiteľov.

V súvislosti so zvyšovaním spotreby biopotravín **Stobbelaar et al. (2007)** odporúčajú zvyšovať informovanosť adolescentov. Veľký dôraz na vytváranie správnych stravovacích zvyklostí u detí sa kladie v Taliansku, kde takmer tretina detí mladšieho školského veku trpí chorobami z nadhmotnosti a obezity a kde chápu biopotraviny ako účelnú investíciu do zdravia, je zaradenie biopotravín do školských jedálnych lístkov upravené zákonom (**Košťál, 2008**).

Podľa vyjadrenia Zehetgruberovej cit. **Hinkovou-Dibarborovou (2008)**, minimálny podiel biopotravín v jedálničku viedenských škôl a materských škôl je 30 %. Zvýšenie konzumácie ovocia a zeleniny u detí sa prejaví na zmene ich stravovacích návykov.

Dlhodobejšia konzumácia biopotravín je zárukou výraznejšieho zlepšenia zdravotného stavu obyvateľstva (arterioskleróza, obezita, diabetes mellitus) a iných ochorení, ktoré majú svoj pôvod v nevhodných stravovacích zvyklostiach spejúcich často k tráviacim ťažkostiam (**Mura a Harasník, 2005**).

Z prieskumov spotreby biopotravín v Čechách v rokoch 2005 až 2008 v rámci jednotlivých kategórií najväčší podiel dosahujú spracované biopotraviny (predovšetkým dojčenská a detská výživa), nasledujú kategórie mlieko a mliečne výrobky, mäso a mäsové výrobky, nealkoholické nápoje, pečivo čerstvé a trvanlivé, ovocie a zelenina, obilniny, strukoviny a oriešky, bylinky a koreniny (**Václavík, 2009**).

### Trh s bioproduktmi na Slovensku

V roku 2007 sa biomlieko ešte vôbec nespracovávalo na slovenské biomliečne produkty, export biomlieka zo Slovenska preto predstavoval 3,56 miliónov litrov. V súčasnosti sa výroba slovenských biomliečnych produktov rozvíja, slovenských spotrebiteľov oslovujú už aj na Slovensku vyrobené kyslomliečne biopotraviny popri viacerých druhoch biomlieka. Ovčie certifikované biomlieko sa v roku 2007 predávalo v pomere 1:100 ekologickým a konvenčným spracovateľom na Slovensku. Na Slovensku bolo vyrobených do 110 000 kíl ovčieho ekologického syra. Do zahraničia nebolo predané ani ovčie biomlieko ani ovčí biosyr. Hovädzie mäso z ekologického chovu sa predalo v kvalite BIO len v malom (2,6 %) množstve a to na území Slovenska. Kým zvyšok ako

neekologický predaj sa realizoval v pomere 10:1 na slovenskom a zahraničnom trhu (Schlosserová, 2009).

Celá slovenská produkcia certifikovanej čerstvej biozeleniny bola podľa Schlosserovej (2009) spotrebovaná v kvalite BIO a to v pomere 1:10 v prospech zahraničia. Len 1/20 množstva slovenskej ekologicky vypěstovanej čerstvej zeleniny si našla cestu k slovenským odberateľom resp. do slovenských obchodov v kvalite BIO. Ekologická produkcia čerstvej zeleniny sa realizovala na ploche pokrývajúcej 6 % z celkovej plochy využívanej na pestovanie čerstvej zeleniny na Slovensku v roku 2007. Plochy registrované na produkciu biozeleniny sú sústredené na západnom Slovensku.

V roku 2009 bolo na Slovensku evidovaných 371 biofarmárov (nárast o 6 % oproti roku 2008), ktorí obhospodarovali celkovo 146 762 ha poľnohospodárskej pôdy. Trh s bioproduktmi na Slovensku nie je na dostatočnej úrovni uvádza Schlosserová cit. Nováková (2010) a dodáva, že vzhľadom na súčasný pomerne vysoký 10,8 % podiel ekologicky obhospodarovanej pôdy na celkovej výmere poľnohospodárskej pôdy v SR ku koncu januára 2010 počet spracovateľov bioproduktov je pomerne nízky. Slabou stránkou trhu s bioproduktmi je podľa Halmeša cit. Nováková (2010) aj skutočnosť, že na Slovensku neexistujú bitúnky na spracovanie ekologického mäsa, mäso, ktoré je v EKO kvalite, sa väčšinou predáva ako konvenčné.

### ZÁVER

Na základe uskutočneného prehľadu výsledkov výskumov domácich a zahraničných vedeckých tímov možno skonštatovať, že trh s ekologickými produktmi celosvetovo zvyšuje svoj objem. V strednej a východnej Európe má trh s biopotravinami viacero spoločných čít, medzi ktoré patria pomerne nízky dopyt po biopotravinách, nízky podiel pravidelných zákazníkov, problémy výrobcov s odbytom svojej produkcie, nedostatok podnikov spracúvajúcich bioprodukty.

Regionálnym producentom bioproduktov a biopotravin odporúčame, aby vybrané produkty spracúvali a predávali priamo na farme a svoje marketingové aktivity orientovali na udržanie doterajších zákazníkov a získavanie nových výraznejším zviditeľňovaním svojich podnikov, návštevami materských, základných a stredných škôl a uskutočňovali pre deti a žiakov exkurzie na svojich biofarmách spojené s ochutnávkou biopotravin. Zvýši sa tým povedomie detí a mládeže o ekologických potravinách a tiež nadobudne takéto hospodárenie na pôde multifunkčný charakter.

Spotrebitelia majú záujem prehlbovať svoje poznatky o biopotravinách. Ich nákupné správanie ovplyvňujú viaceré faktory, medzi ktorými prevládajú osobné faktory ako osobnosť spotrebiteľa, príjem a životný štýl a tiež psychologické faktory ako vnímanie, motivácia, učenie, poznávanie a postoje. Kultúrne a spoločenské faktory sa v nákupnom správaní spotrebiteľa prejavujú v menšej miere.

Predpokladáme, že pravidelnou kontrolou chemickej a mikrobiologickej bezpečnosti bioproduktov už v prvovýrobe, vyskytujúcich sa v surovom stave ako aj po ich spracovaní v jednotlivých sektoroch potravinárstva, výraznejšou osvetou a cielenou zvýšenou podporou ekologického poľnohospodárstva ako multifunkčného

odvetvia a zvýšenou podporou rodinných fariem orientujúcich sa na výrobu s vyššou pridanou hodnotou ako predaj z dvora, spracovanie produkcie na farme a pod., podporou predaja kvalitnej domácej produkcie zo strany štátu, bude možné presvedčiť viac obyvateľov, aby k svojmu zdraviu pristupovali zodpovedne a vyššou konzumáciou biopotravin pôsobili na zdravie svoje a svojich blízkych preventívne a predchádzali tak výskytom rôznych chorôb.

### POUŽITÁ LITERATÚRA

AERTSENS, J., VERBEKE, W., K. MONDELAERS, K., VAN HUYLENBROECK, G. 2009. Personal determinants of organic food consumption: A review. In *British Food Journal*. vol. 111, 2009, no. 10, p. 1140–1167. ISSN: 0007-070X.

AGRA EUROPE. 2010. Organic farming strong in EU after decade of growth. In *Agra Europe*. 2010, no. 2422, p. 9, [cit. 2011-04-10]. Retrieved from the web: <www.agraeurope.com>.

AGUIRRE, J. A. 2007. The farmer's market organic consumer of Costa Rica. In *British Food Journal*. vol. 109, 2007, no. 2, p. 145–154.

ALBA, J. W., HUTCHINSON, J. W. 1987. Dimensions of consumer expertise. In *Journal of Consumer Research*. vol. 13, 1987, no. 4, p. 411–454.

AXELSON, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: *Salminen S, Von Wright A (eds) Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker, New York, 1998, p. 1–71.

BOTONAKI, A., POLYMEROS, K., TSAKIRIDOU, E., MATTAS, K. 2006. The role of food quality certification on consumers' food choices. In *British Food Journal*. vol. 108, 2006, no. 2–3, p. 77–90.

BRUCKS, M. 1985. The effects of product class knowledge on information search behavior. In *Journal of Consumer Research*. vol. 12, 1985, no. 1, p. 1–16.

CICIA, G., DEL GIUDICE, T., RAMUNNO, I. 2009. Environmental and health components in consumer behavior perception of organic food: estimation of willingness to pay. In *Journal of Food Products Marketing*. vol. 15, 2009, no. 3, p. 324–336.

CUBOŇ, J., HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., PAVLIČOVÁ, S., ARPÁŠOVÁ, H. 2007. Porovnanie jatočných ukazovateľov a kvality mäsa hybridu ROSS 308 a plemena Oravka z ekologického chovu. In *Agromagazín*. vol. 8, no. 2, 2007, p. 54–57, ISSN 1214-0643.

CUBOŇ, J., HAŠČÍK, P., VAGAČ, V., KAČÁNIOVÁ, M., HLUCHÝ, S., PAVLIČOVÁ, S., L. HORŇANOVÁ, L., KOŠTÁLOVÁ, D., KOŽUCH, J. 2005. Kvalita mäsa mladého hovädzieho dobytku z ekologickej a konvenčnej produkcie In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín 2005 [elektronický zdroj] : zborník vedeckých prác z 1. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, Nitra, 10. november 2005*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-614-4, p. 253-256.

DAVIES, A., TITTERINGTON, A. J., COCHRANE, C. 1995. Who buys organic food? A profile of purchasers of organic food in Northern Ireland. In *British Food Journal*. vol. 97, 1995, no. 10, p. 17–23.

DE MAGISTRIS, T., GRACIA, A. 2008. The decision to buy organic food products in Southern Italy. In *British Food Journal*. vol. 110, 2008, no. 8–9, 2008, p. 929–947.

- DEAN, M., RAATS, M. M., SHEPHERD, R. 2008. Moral concerns and consumer choice of fresh and processed organic foods. In *Journal of Applied Social Psychology*. vol. 38, 2008, no. 8, p. 2088-2107.
- DRÁBEKOVÁ, J., LENGYELOVÁ, L. 2004. Jogurt ako súčasť zdravej výživy. In *Zborník z vedecko-metodickej konferencie Výchova k zdraviu a zdravému životnému štýlu*. FPV UKF Nitra, 2004, Edícia Prírodovedec no.143, p. 65-70. ISBN 80-8050-739-2.
- FRANČÁKOVÁ, H. 2002. Kvalita produktov v trvalo udržateľnom záhradníctve. In DEMO, M. 2002. *Trvalo udržateľné technológie v záhradníctve*. Nitra : SPU, p. 515-534, ISBN 80-8069-056-1.
- GALLETTO, L. 2007. Situation and Perspectives of Organic Meat in Italy. The experience of a small group of firms located in the Veneto Region. In *Organic food*. 2007, Part 2, p. 47-63.
- GHOORBANI, R., KOOCHEKI, A., BRANDT, K., WILCOCKSON, S., LEIFERT, C. 2010. Organic Agriculture and Food Production: Ecological, Environmental, Food Safety and Nutritional Quality Issues In *Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science Sustainable Agriculture Reviews*. vol. 3, 2010, p. 77-107.
- GECÍKOVÁ, I. 2008. Postavenie poľnohospodárskych podnikov v procese rozvoja vidieka. In *Acta regionalia et environmentalica*. vol. 5, 2008, no. 1, Nitra : SPU, p. 23, ISSN 1336-9253.
- GECÍKOVÁ, I., PAPCUNOVÁ, V., BALÁŽOVÁ, E. 2010. Economic base development in rural regions in the Slovak Republic. In *Economics of Agriculture*, vol. 10, 2010, no. 3, p. 35-41, ISSN 1335-6186.
- GUIDO, G., PRETE, M. I., PELUSO, A. M., MALOUMBY-BAKA, R. CH., BUFFA, C. 2010. The role of ethics and product personality in the intention to purchase organic food products: a structural equation modeling approach. In *International Review of Economics*, vol. 57, 2010, no. 1, p. 79-102.
- HÄRDTLEIN, M., KALTSCHNIDT, M., LEWANDOWSKI, I. 1998. Nachhaltigkeit in der Pflanzenproduktion. In *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung*, vol. 10, 1998, no. 3, p. 139.
- HAGMAN, J. E., MARTENSSON, A., GRANDIN, U. 2009. Cultivation Practices and Potato Cultivars Suitable for Organic Potato Production. In *Potato Research*. vol. 52, 2009, no 4, p. 319-320.
- HINKOVÁ-DIBARBOROVÁ, A. 2008. Bio ide do škôl pomaly. In *Obchod maloobchod veľkoobchod distribúcia*, vol. 14, may 2008, p. 18, ISSN 1335-2008.
- HORŇANOVÁ, E., KOŠŤÁLOVÁ, D., KOŽUCH, J. 2005. Kvalita mäsa mladého hovädzieho dobytky z ekologickej a konvenčnej produkcie. In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín 2005: zborník vedeckých prác z 1. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, Nitra, 10. november 2005*. Nitra : SPU, 2005. ISBN 80-8069-614-4. p. 253-256.
- CHEN, M. F. 2007. Consumer attitudes and purchase intentions in relation to organic foods in Taiwan: Moderating effects of food-related personality traits. In *Food Quality and Preference* vol. 18, 2007, no. 7, p. 1008-1021.
- JORDAN, R., MÜLLER, R., UODES, A. 2009. *Higt Sequestration, Low Emission, Food Secure Farming. Organic Agriculture – a Guide to Climate Change and Food Security*. IFOAM EU Group : Bruxelles. 23 p., ISBN 978-3-940946-70-6.
- KERESTEŠ, J. 2008. Biodiverzita ovčích mliečnych výrobkov. In *Potravinárstvo*. vol. 2, 2008, no. 2, p. 23-31, ISSN 1338-0230.
- KOŠŤÁL, D. 2008. Putujú aj na vidiek. In *Obchod maloobchod veľkoobchod distribúcia*, vol. 14, 2008, p. 43, ISSN 1335-2008.
- KOŠŤÁL, D. 2009. Svet očakáva potraviny s príbehom. In *Obchod maloobchod veľkoobchod distribúcia*, vol. 14, 2009, p. 12, ISSN 1335-2008.
- KOŠŤÁL, D. 2009. Česi už biopotraviny poznajú. In *Obchod maloobchod veľkoobchod distribúcia*, vol. 14, 2009, p. 14-15, ISSN 1335-2008.
- KOZELOVÁ, D. 2006. Poľnohospodárstvo ako regionálny zamestnávateľ a producent potravín. In: *Regióny – vidiek – životné prostredie 2006 – 1. časť. Zborník vedeckých, odborných príspevkov a posterov z medzinárodnej vedeckej konferencie konanej v dňoch 27. – 28.4.2006 v Nitre*. Nitra : SPU, p. 234-239, ISBN 80-8069-709-4.
- KOZELOVÁ, D., MATEJKOVÁ, E., QINETI, A. 2010. Analyzing consumer's opinion on organic food, their safety and availability in the slovak food market. In *Potravinárstvo*. vol. 4, 2010, no. 3, p. 30-35, ISSN 1338-0230.
- KOZELOVÁ, D., ZAJÁC, P., MATEJKOVÁ, E., ZELENÁKOVÁ, L., LOPAŠOVSKÝ, Ľ., MURA, L., ČAPLA, J., VIETORIS, V. 2011. Perception of bio-food labeling by consumers in Slovakia. In *Potravinárstvo*., vol. 5, 2011, no. 1, p. 33-38.
- KRETTNER, A. 2005. Marketing ekologického poľnohospodárstva a ekoproductov. Nitra: SPU, 2005, 90 s., ISBN 80-8069-620-9.
- LATACZ-LOHMANN, U. 1999. Die zukunfftige europaische Landwirtschaft. In DLG-Verlags-GmbH: *Landwirtschaft 2010*. Frankfurt am Main : DLG, p. 105-114, ISBN 3-7690-4058-9.
- LENGYELOVÁ, L., KOZELOVÁ, D., TRSTENOVIČOVÁ, Ľ., PINTÉROVÁ, S. 2010. Comparison of occurrence Lactic acid bacteria in chosen yogurts. *Potravinárstvo* vol. 4, 2010, no. 4, p. 38-43.
- MAGNUSSON, M. K., ARVOLA, A., HURSTI, U. K. 2001 Attitudes towards organic foods among Swedish consumers. In *British Food Journal*. vol. 103, 2001, no 3, p. 209-227.
- MATYSIK-PEJAS, R., SZAFRANSKA, M. 2009. Európsky spotrebiteľ a produkty ekologického poľnohospodárstva. In HORSKÁ, E. 2009. *Európsky spotrebiteľ a spotrebiteľské správanie*. Nitra : SPU, p. 189-191, ISBN 978-80-552-0318-8.
- MENDELOVÁ, A., IVANIŠOVÁ, E., BOJŇANSKÁ, T., MAREČEK, J., KOZELOVÁ, D. 2011. Antioxidant activity and total polyphenol contents in selected varieties of apples and pears. In *Potravinárstvo*, vol. 5, 2011, special issue, February 2011, p. 294-298.
- MURA, L., HARASNÍK, V. 2005. Marketingovo manažérske prístupy k biopotravínám a produktom zdravej výživy. In *Faktory podnikovej úspešnosti v podmienkach spoločného agrárneho trhu. Medzinárodný vedecký seminár*, Nitra : SPU, 2005, p. 144-147, ISBN 80-8069-615-2.
- NAGYOVÁ, Ľ., GOLIAN, J. 2007. Bezpečnosť potravín z pohľadu spotrebiteľov. In *Kvalita a bezpečnosť potravín. Zborník prednášok k III. medzinárodnej konferencii 25. – 26. september 2007*, Štrbské Pleso, Žilina : MASM, 2007
- NAGYOVÁ, Ľ., TONKOVIČOVÁ, Z. 2004. Spotrebiteľské správanie a medzinárodný trh potravín. In *Zborník vedeckých prác K dištančnému vzdelávaniu v oblasti*

- Agrárneho práva formou E-learningu. Nitra: SPU, 2004, p. 1-4, ISBN 80-8069-313-7.
- NECIDOVÁ, L., CUPÁKOVÁ, Š., JANŠTOVÁ, B., DUŠKOVÁ, M., PŘÍDALOVÁ, H., VORLOVÁ, L. 2010. Mikrobiologické parametry syrového a tepelně ošetřeného ovčímho mléka. In *Potravinárstvo*. vol. 4, 2010, special issue, February 2010 p. 436-438.
- NOVÁKOVÁ, E. 2010. *Čo je nové v ekologickej poľnohospodárskej výrobe?* [online], [s.a.], [cit. 2010-10-01], Retrieved from the web: <[http://www.agroporadenstvo.sk/ep/ep\\_2010.htm](http://www.agroporadenstvo.sk/ep/ep_2010.htm)>.
- O'DONOVAN, P., MC CARTHY, M. 2002. Irish consumer preference for organic meat. In *British Food Journal*. vol. 104, 2002, no. 2-4, p. 353-370.
- ORGANIC MONITOR. 2009. Global organic market. Time for organic plus strategies. [online], [s.a.], [cit. 2010-09-08], Retrieved from the web <<http://www.organicmonitor.com>>.
- PADEL, S., FOSTER, C. 2005. Exploring the gap between attitudes and behaviour – Understanding why consumers buy or do not buy organic food. In *British Food Journal*. vol. 107, 2005, no. 8, p. 606-625. ISSN: 0007-070X.
- KACÁŇIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., HAŠČÍK, P., PAVLIČOVÁ, S., SUDZINOVÁ, J. 2006. Mikrobiologická kvalita vajec z ekologického a konvenčného chovu nosníc. In *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe [elektronický zdroj] : zborník z XI. medzinárodného vedeckého seminára, Nitra 10. november 2006*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2006. ISBN 80-8069-799-X. s. 361-367.
- PIENIAK, Z., AERTSENS, J., VERBEKE, W. 2010. Subjective and objective knowledge as determinants of organic vegetables consumption. In *Food Quality and Preference*, vol. 21, 2010, no. 6, p. 581-588.
- RADECKI, C. M., JACCARD, J. 1995. Perceptions of knowledge, actual knowledge, and information search behavior. In *Journal of Experimental Social Psychology*. vol. 31, 1995, no. 2, p. 107-138.
- RAJU, P. S., LONIAL, S. C., W.G. MANGOLD, W. G. 1995. Differential effects of subjective knowledge, objective knowledge, and usage experience on decision making. In *Journal of Consumer Psychology*. vol. 4, 1995, no. 2, p. 153-180.
- RURAL EUROPE. 2009. Organics can boost rural economies, says research NGO. In *Rural Europe*. 2009, no. 77, p. 8, [cit. 2010-04-10]. Retrieved from the web: <[www.agra-net.com](http://www.agra-net.com)>.
- SCHIFFERSTEIN, H. N., P.A. OPHUIS, P. A. 1998. Health-related determinants of organic food consumption in the Netherlands. In *Food Quality and Preference*. vol. 9, 1998, no. 3, p. 119-133.
- SCHLOSSEROVÁ, J. 2009. Trendy výroby bioproduktov na Slovensku. [online], [2009-11-19], [cit 2010-01-15], Retrieved from the web: <<http://www.agroporadenstvo.sk/ep/bioprodukty.htm>>.
- SHIJIU, Y., MO, CH., LILI, D., LINHAI, W. 2010. Consumers' purchase intention of organic food in China. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 90, 2010, no. 8, p. 1361-1367.
- STOBBELAAR, D. J., CASIMIR, G., BORGHUIS, J., MARKS, I., MEIJER, L., ZEBEDA, S. 2007. Adolescents' attitudes towards organic food: A survey of 15- to 16-year old school children. In *International Journal of Consumer Studies*. vol. 31, 2007, p. 349-356.
- UREŇA, F., BERNABEU, R., OLMEDO, M. 2008. Women, men and organic food: differences in attitudes and willingness to pay. A Spanish case study. In *International Journal of Consumer Studies*. vol. 32, 2008, no 1, p. 18-126.
- VERBEKE, W. 2008. Impact of communication on consumers' food choices. In *Proceedings of the Nutrition Society*. vol. 67, 2008, no. 3, p. 281-288, ISSN: 00296651.
- VIA, G. L., NUCIFORA, A. M. D. 2002. The determinants of the price mark-up for organic fruit and vegetable products in the European Union. In *British Food Journal*, vol. 104, 2002, no. 3-5, p. 319-336.
- VYSEKALOVÁ, J. 2004. *Psychologie spotřebitele. Jak zákazníci nakupují*. Praha : Grada Publishing, a.s., 2004, s. 166-167, ISBN 80-247-0393-9.
- ZANDER, K., HAMM, U. 2010. Consumer preferences for additional ethical attributes of organic food. In *Food Quality and Preference*, vol. 21, 2010, no. 5, p. 495-503, ISSN 09503293.

**Contact address:**

Ing. Dagmar Kozelová, 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: dagmar.kozelova@uniag.sk

Ing. Ladislav Mura, PhD. Department of Specialised Subjects, Dubnica Institute of Technology, Sládkovičova 533/20, 018 41 Dubnica nad Váhom. Slovak Republic, E-mail: ladislav.mura@gmail.com

Ing. Eva Matejková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Economics and Management, Department of Statistics and Operation Research, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: eva.matejkova@fem.uniag.sk

MVDr. Lubomír Lopašovský, 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: lubomir.lopasovsky@uniag.sk

Ing. Vladimír Vietoris, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of storing and processing plant products, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: vietoris@afnet.uniag.sk

Ing. Andrea Mendelová, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of storing and processing plant products, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: andrea.mendelova@uniag.sk

Ing. Magdaléna Bezáková, Slovak University of Agriculture, Faculty of European Studies and Regional Development, Department of Sustainable Development, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: magdalena.bezakova@uniag.sk

Ing. Marcela Chreneková, Slovak University of Agriculture, Faculty of European Studies and Regional Development, Department of Regional and Rural Development, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: marcela.chrenekova@uniag.sk

**NUTRITIONAL STATUS OF SUBJECTS WITH DOMINANT PLANT FOOD CONSUMPTION**

*Marica Krajčovičová-Kudláčková, Martina Valachovičová, Katarína Babinská, Pavel Blažíček, Viera Spustová, Viera Pauková*

**ABSTRACT**

In three groups of apparently healthy subjects – vegetarians (plant food, dairy products, eggs), semi-vegetarians (as vegetarians with addition of white meat consumption) and non-vegetarians (control group on traditional mixed diet) were analyzed the dietary questionnaires of consumption frequency and measured the values of lipid profile, insulin resistance, homocysteine with determinants (vitamins B6, B9, B12) and plasma antioxidative vitamins (C, E, beta-carotene). Vegetarians and semi-vegetarians consumed the significantly reduced amount of cholesterol, saturated fatty acids, methionine, lysine, vitamin B12 and on the other hand, they have the significantly higher daily intake of polyunsaturated fatty acids, linoleic acid, alpha-linolenic acid, fiber, plant proteins, arginine, glycine, serine, alanine, folic acid (vitamin B9), vitamin B6, vitamins C, E and beta-carotene. Alternative nutrition groups vs. non-vegetarians have the significantly reduced concentrations of total and LDL-cholesterol, triacylglycerols, insulin as well as values of atherogenic index and insulin resistance. The vegetarian (but not semi-vegetarian) value of homocysteine is significantly increased as a consequence of the significantly reduced and low concentration of vitamin B12. Other two determinants of homocysteine degradation were significantly increased in serum of alternative nutrition groups. The both vegetarian groups have the significantly higher plasma concentrations of antioxidative vitamins and these values are in range of effective free radical disease reduction. The results of favourable values of cardiovascular risk markers and antioxidants document a beneficial effect of vegetarian nutrition in prevention of degenerative age-related diseases.

**Keywords:** vegetarian nutrition, intake of key nutrient, lipid profile, insulin resistance, antioxidative vitamin

---

**INTRODUCTION**

Plants are basal components of the food chain in that they provide all essential nutrients to humans either directly, or indirectly by animal food consumption. The complex diets that provide a nutrition quality (intake of all nutrients) and the nutrient concentrations in the consuming food mixture according with the recommended dietary allowances /RDAs/ (a nutrition quantity) are necessary to support human growth and health (**Craig, Mangels, 2009**). In general, vegetarian diets provide relatively large amounts of cereals, pulses, nuts, fruits and vegetables (**Key et al., 2006**). In terms of nutrients, vegetarian diets are usually rich in carbohydrates, n-6 fatty acids, dietary fiber, carotenoids, folic acid, vitamin C, vitamin E and magnesium, and relatively low in some essential amino acids, saturated fat, long-chain n-3 fatty acids, retinol, vitamin B12, vitamin D, iodine and zinc (**Krajčovičová-Kudláčková et al., 2003, Key et al., 2006, Allen 2008, Bortoli, Cozzolino, 2009, Sanders, 2009, Crowe et al., 2010**). These facts are connected with certain health benefits or risks in population consuming exclusively or predominantly plant food.

The American dietetic association introduced that appropriately planned vegetarian diets are healthful, nutritionally adequate, and may provide health benefits in the prevention and treatment of certain diseases (**Craig, Mangels, 2009**). Mortality and incidence of coronary disease events are indeed clearly lower in vegetarians (**Fraser, 2009**). A combined analysis of two cohorts of Adventists in California, older cohorts of British and

German vegetarians confirmed this result with a 32% higher coronary heart mortality rate in the non-vegetarians. Prevalence of diabetes is lower in Adventist vegetarians than in non-vegetarians. There is general agreement that red meat consumption increases the risk of colon or colorectal cancer. The idea that higher consumption of fruit and vegetables is associated with reduced all-cause mortality and reduced risks of some cancers has a longer history (**Fraser, 2009, Key et al., 2009**). Although vegetarian diets are healthful and are associated with lower risk of several chronic diseases, different types of vegetarians may not experience the same effects on health.

Several studies demonstrated that the observed deficiencies of nutrients in vegetarians are usually due to poor meal planning (**Leitzmann, 2005**). From view of prevention of health risks of vegan diet (strict vegetarians) or incorrectly planned vegetarian diet is inevitable the consumption of fortified food or nutritional and pharmaceutical supplements to compensation of absent or low-present nutrients in key vegetarian food (**Krajčovičová-Kudláčková et al., 2003, Leitzmann, 2005, Elmadfa, Singer, 2009**).

The main goal of this study was to assess the selected cardiovascular risk parameters and plasma antioxidative vitamins in correlation to nutritional status in subjects with dominant consumption of plant food in comparison to general population.

## SUBJECTS AND METHODOLOGY

Randomly selected 143 apparently healthy non-obese (BMI < 30 kg/m<sup>2</sup>) non-smoking subjects aged 20-60 years (64 men, 79 women) were divided into three groups. The group of vegetarians (n=41) consumed plant food, dairy products and eggs. Semi-vegetarians (n=44) with addition of white meat consumption (poultry) and fish consumption were the other group of alternative nutrition. The non-vegetarian (control) group consisted of 58 persons of general population on traditional mixed diet (Slovak medical university workers). Alternative nutrition subjects were selected from data base of previous research university projects. The group characteristics are introduced in Table 1. The probands indicated an approximately similar physical activity (no sports).

The calculation of daily intake of nutrients was based on the data from standardized and validated dietary questionnaires. The questionnaire contained 146 food items. The frequency of consumption was measured using four categories: almost never, times per day, per week or per month depending on food item. Trained workers checked the completeness of questionnaires. The conversion to nutrients was done by using self-developed software Nutrition based on the Slovak food composition database compiled by the Food Research Institute (**Slovak Food Data Bank, 1999**).

## RESULTS AND DISCUSSION

Consumption of animal fat (saturated) raises total and LDL-cholesterol, while polyunsaturated fats (plant sources) have a cholesterol lowering effect. Sufficient intake of food rich in dietary fiber is associated with a lower risk of cardiovascular disease; the soluble and insoluble fibers reduce plasma total and LDL-cholesterol. The hypocholesterolemic effect of fiber is due to an increase in bile-acid binding and fecal sterol excretion. Fermentation of soluble fiber is produced short-chain fatty acids that inhibit hepatic cholesterol synthesis. In addition to unsaturated fat and fiber, there are components of plant food that have the ability to reduce cardiovascular risk (saponins in legumes, plant proteins, antioxidant nutrients, selenium, polyphenols and flavonoids (**Carroll, Kurowska, 1995, Krajcovicova-Kudlackova et al., 2005, Key et al., 2006, Erkkila et al., 2008**)). Previously, the dietary recommendation to reducing cardiovascular risk was aimed at decreasing total and saturated fat intake from meat consumption. Actually, this alone may not be sufficient. The consumption of a variety of plant foods is necessary to favourable modify lipid and lipoprotein profile (**Rajaram, Sabate, 2000**).

Plant protein consumption decreases cardiovascular risk. For a longer time, experimental studies described, that animal proteins with higher content of essential amino acids in comparison to plant proteins induce an elevation of plasma total and LDL-cholesterol concentrations. Conversely, plant protein consumption can prevent from hypercholesterolemia (**Carroll, Kurowska, 1995**). The higher intake of methionine and lysine from animal proteins has an unfavourable effect on phospholipid metabolism (**Krajcovicova-Kudlackova et al., 2005**).

Vegetarians and semi-vegetarians in present study consumed the significantly reduced amount of cholesterol

Blood was sampled after an overnight fasting by a standard procedure. Serum concentrations of total cholesterol, HDL-cholesterol, triacylglycerols and glucose were measured using standard laboratory methods. Values of LDL-cholesterol were calculated in according with the Friedewald formula (LDL-cholesterol = total cholesterol – triacylglycerols/2.2 – HDL-cholesterol). The atherogenic index was expressed as a ratio of total cholesterol and HDL-cholesterol. Serum concentrations of insulin were detected by electro-chemiluminescence immunoassay (Roche Elecsys Insulin Test). Insulin resistance values IR/HOMA/ (HOMA – homeostasis model assessment) were calculated from fasting concentrations of insulin and glucose: IR /HOMA/ = insulin x glucose/22.5. Plasma concentrations of total homocysteine were measured by HPLC (**Houze et al., 2001**). EDTA was used as an anticoagulant. Serum vitamin B12 and folic acid (vitamin B9) concentrations were determined using Elecsys immunoassay (Roche tests). Serum vitamin B6 values were detected by HPLC method (Chromsystems test). Plasma concentrations of vitamins C and E, and beta-carotene were measured by HPLC (**Lee et al., 1992, Ārhata et al., 1994**).

The intake of vitamins, mineral and trace elements in natural form only was allowed (no supplementation). The study was realized in half of May in duration of six days. The Student t-test was used for final evaluation.

and saturated fatty acids (Tables 2,3) and on the other hand, they have the higher daily intake of polyunsaturated fatty acids, linoleic acid and alpha-linolenic acid. Tables 2, 3 introduce also that both alternative nutrition groups have significantly higher intake of fiber, plant proteins and significantly reduced consumption of methionine and lysine. Favourable values of cardiovascular risk markers as a consequence of vegetarian nutrition are introduced in Table 4. Concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol and triacylglycerols and values of atherogenic index are in vegetarians and semi-vegetarians vs. non-vegetarians significantly reduced. Vegetarians consume significantly reduced and very low amounts of n-3 fatty acids (eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids) (Table 3) as a consequence of no fish consumption. On the other hand, intake of substrate for biosynthesis of n-3 fatty acids – alpha-linolenic acid is significantly higher. There is no evidence of adverse effects on health with lower n-3 fatty acid intake (**Sanders, 2009**).

Subjects with dominantly plant food consumption may be at lower risk of type 2 diabetes occurrence than subjects on traditional mixed diet (**Tonstad et al., 2009**). Complex carbohydrates with low glycemic index are slowly absorbed and thus they have a beneficial effect on glucose control, hyperinsulinemia, insulin resistance and blood lipids (**Reaven, 2000**). Hyperinsulinemia and insulin resistance are critical components of the metabolic syndrome and are the early manifestations of type 2 diabetes. The significantly reduced values of insulin resistance (IR/HOMA) as well as insulin serum concentrations were found in vegetarians and semi-vegetarians vs. non-vegetarians (Table 4). Composition of dietary proteins has the potential to influence the balance of glucagon and insulin activity (**McCarty, 1999**). Plant

proteins are higher in non-essential amino acids in comparison to animal protein sources (**Krajčovicova-Kudlackova et al., 2005**). Glucagon promotes (and insulin inhibits) cAMP-dependent mechanisms that down-regulate lipogenic enzymes and cholesterol synthesis, while up-regulating hepatic LDL receptors. Essential amino acids are relatively more effective for releasing insulin, whereas non-essential amino acids (arginine and pyruvigenic amino acids) are effective in glucagon secretion. The effect of a chronic increase in glucagon activity by regular and sufficient intake of plant proteins means a reduction in lipogenesis, cholesterol and triacylglycerol synthesis. In presented groups of alternative nutrition was found the significantly higher intake of arginine, glycine, serine and alanine (Table 3).

Vegetarians and semi-vegetarians consume significantly more antioxidative vitamins C,E and beta-carotene (Table 2) and plasma concentrations of these vitamins are significantly higher (Table 4) in comparison to non-vegetarians and they are in value range of effective reduction of free radical disease – more than 50 µmol/l for vitamin C, more than 0.4 µmol/l for beta-carotene, more than 30 µmol/l for vitamin E (**Krajčovičová-Kudláčková et al., 2004**). Alternative nutrition subjects have significantly reduced values of lipid peroxidation though they consume higher amounts of polyunsaturated fatty acids with greater oxidation ability. Products of DNA damage are also significantly reduced in vegetarians vs. non-vegetarians (**Krajčovičová-Kudláčková et al., 2008**). This fact is a consequence of the better antioxidative status of vegetarian nutrition. Damage of molecules during the oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of chronic age-related diseases such as cancer and cardiovascular disease. Improved antioxidant status helps to inhibit oxidative damage, and thus can prevent pathological changes. The endogenous antioxidants are inadequate prevent damage completely, so that diet-derived antioxidants have an important role in lowering free radical disease risk.

The favourable values of lipid and non-lipid cardiovascular risk markers in vegetarians and semi-vegetarians as well as the high plasma antioxidative vitamin concentrations document a beneficial effect of vegetarian nutrition in prevention and treatment of degenerative age-related diseases. The exception from markers is atherogenic homocysteine (HCy). During the last decade, several observational studies about HCy as a predictor for atherosclerosis risk showed that the overall risk for vascular disease is small (**Kaul et al., 2006**). In prospective longitudinal studies, a weak association between HCy and atherothrombotic vascular disease was reported, compared to retrospective case-control and cross-sectional studies with stronger association.

Vegetarians and mainly vegans (strict vegetarians) suffer from mild hyperhomocysteinemia as a consequence of lower vitamin B12 intake and lower serum concentrations (**Krajčovicova-Kudlackova et al., 2007, Allen, 2008, Elmadfa, Singer, 2009**). Vitamin B12 is absent in plant food. In evaluated group of vegetarians was recorded significantly higher concentration of total HCy and significantly reduced intake and serum concentration of vitamin B12 (Tables 2,4). Hyperhomocysteinemia (>15 µmol/l) was recorded in 17 % of subjects. Semi-vegetarian HCy values are similar with those in non-vegetarians and occurrence of mild hyperhomocysteinemia is low (5 % vs. 3 % in non-vegetarians). Semi-vegetarians consume the animal food in wider range and thus they have the significantly higher intake of vitamin B12 than vegetarians (Table 2). The second and third from nutritional determinants of HCy metabolism (folic acid and vitamin B6) are significantly higher in vegetarians – their intake and serum concentrations (Tables 2,4). In spite of generally weak atherogenic activity of Hcy the findings of higher Hcy values in vegetarians indicate the recommendation of low fat dairy product consumption in greater variety.

**Table 1.** Characteristic of groups

	Non-vegetarians	Semi-vegetarians	Vegetarians
n (m+w)	58 (26+32)	44 (20+24)	41 (18+23)
Average age (y)	40.0±1.7	40.8±1.8	38.8±2.0
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.3±0.4	22.7±0.3 **	22.2±0.4 ***
range	19.3-28.5	18.9-25.7	18.2-25.8
>25	12 %	5 %	5 %
Duration of vegetar. (y)	-	9.8±0.7	11.0±0.7
Consumption of (times weekly)			
red meat	3.04±0.15	-	-
white meat (poultry)	2.15±0.13	3.25±0.17	-
fish	1.04±0.10	1.17±0.08	-

The results are expressed as mean±SEM \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

**Table 2.** Daily intake of selected nutrients

	Non-vegetarians	Semi-vegetarians	Vegetarians
Total proteins (g)	92.3±2.6	91.1±4.2	76.6±3.3 ***
Animal proteins (g)	49.4±2.0	29.6±2.1 ***	14.8±1.8 ***
Plant proteins (g)	42.9±1.6	61.5±3.8 ***	61.8±4.0 ***
Fiber (g)	26.6±1.2	43.4±2.4 ***	44.3±2.9 ***
Total fat (g)	90.4±1.8	87.3±2.8	74.6±3.2 ***
Cholesterol (mg)	438±25	123±11 ***	60.5±7.7 ***
Vitamin B12 (µg)	15.1±0.9	14.2±2.3	7.2±1.9 ***
Folic acid (µg)	297±15	563±35 ***	616±51 ***
Vitamin B6 (mg)	1.78±0.09	2.93±0.24 **	2.92±0.19 ***
Vitamin C (mg)	81.3±2.2	171±16 ***	165±12 ***
Vitamin E (mg)	12.4±0.4	16.2±1.5 **	14.9±1.1 *
beta-carotene (mg)	3.95±0.20	6.45±0.44 ***	6.89±0.72 ***

The results are expressed as mean±SEM \* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

**Table 3.** Daily intake of selected key amino and fatty acids

	Non-vegetarians	Semi-vegetarians	Vegetarians
<b>Amino acids</b>			
Methionine (g)	1.68±0.08	1.26±0.06 **	1.03±0.05 ***
Lysine (g)	5.21±0.25	4.11±0.21 **	3.12±0.20 ***
Arginine (g)	4.29±0.21	5.44±0.23 **	5.64±0.22 **
Glycine (g)	3.56±0.13	4.79±0.16 ***	5.00±0.14 ***
Serine (g)	4.01±0.18	4.46±0.16 *	4.76±0.16 **
Alanine (g)	3.28±0.11	4.73±0.17 ***	4.90±0.18 ***
<b>Fatty acids</b>			
Myristic (g)	2.66±0.17	1.82±0.11 **	1.56±0.10 ***
Palmitic (g)	15.53±0.69	12.46±0.47 **	8.94±0.59 ***
Stearic (g)	9.03±0.43	6.48±0.39 **	4.20±0.35 ***
Saturated (g)	33.82±2.12	24.59±1.84 **	18.04±1.644 ***
Oleic (g)	28.70±0.81	28.23±1.43	27.10±1.72
Monounsaturated (g)	30.94±0.82	29.62±1.67	27.98±1.60
Linoleic (g)	19.06±0.71	24.11±1.22 **	23.28±1.12 **
alpha-linolenic (g)	1.64±0.09	1.98±0.17 *	2.06±0.18 *
Eicosapentaenoic (mg)	37.20±4.11	31.91±2.23	0.42±0.19 ***
Docosahexaenoic (mg)	38.47±3.67	33.02±2.45	0.47±0.14 ***
Polyunsaturated (g)	21.38±0.56	26.35±1.26 **	26.98±0.92 ***

\* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

Saturated: butyric, caproic, caprylic, capric, lauric, myristic, palmitic, stearic acids

Monounsaturated: palmitoleic, oleic acids

Polyunsaturated: linoleic, alpha-linolenic, arachidonic, eicosapentaenoic, docosahexaenoic acids



**Table 4.** Lipid profile, insulin resistance, concentrations of homocysteine and its determinants and antioxidative vitamin concentrations

	Non-vegetarians	Semi-vegetarians	Vegetarians
Total cholesterol (mmol/l)	5.34±0.09	4.78±0.08 **	4.56±0.14 ***
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.48±0.05	1.49±0.05	1.46±0.04
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.17±0.11	2.66±0.05 **	2.52±0.12 **
Triacylglycerols (mmol/l)	1.58±0.05	1.36±0.05 **	1.31±0.09 **
Atherogenic index	3.87±0.12	3.36±0.12 **	3.26±0.12 ***
Glucose (mmol/l)	5.10±0.07	4.94±0.06	4.67±0.06 **
Insulin (mU/l)	8.22±0.39	6.31±0.30 **	6.01±0.37 ***
IR (HOMA)	1.87±0.10	1.42±0.08 **	1.22±0.08 ***
Homocysteine (µmol/l)	9.69±0.33	10.8±0.4	12.6±0.6 ***
Vitamin B12 (pmol/l)	270±10	242±13	187±13 ***
Folic acid (nmol/l)	17.6±0.9	23.3±0.7 ***	25.6±0.9 ***
Vitamin B6 (µg/l)	4.80±0.29	6.93±0.36 **	7.26±0.41 ***
Vitamin C (µmol/l)	39.8±1.7	55.7±1.4 ***	58.0±1.8 ***
Vitamin E (µmol/l)	26.2±0.9	31.4±0.8 **	30.6±0.8 **
beta-carotene (µmol/l)	0.295±0.012	0.456±0.015 ***	0.476±0.016 ***

\*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

## CONCLUSION

Subjects with dominant plant food consumption vs. non-vegetarians consume the significantly reduced amounts of cholesterol, saturated fatty acids, methionine, lysine and on the other hand, they have the significantly higher daily intake of protective food (polyunsaturated fatty acids, linoleic acid, alpha-linolenic acid, fiber, plant proteins – mainly amino acids arginine, glycine, serine, alanine, vitamins B6, B9 and antioxidative vitamins). This protective nutritional habit reflect in the favourable values of lipid and non-lipid cardiovascular risk markers in

vegetarians and semi-vegetarians as well as the high plasma antioxidative vitamin concentrations with effective reduction of oxidative stress and thus with preventive effect against free radical diseases. Possible higher values of weakly atherogenic homocysteine as a consequence of vitamin B12 deficiency can be prevented by sufficient consumption of low fat animal food of greater variety (or vitamin supplements in strict vegetarians). The described findings document a protective effect of vegetarian nutrition against degenerative age-related diseases.

## REFERENCES

- ALLEN, L. H. 2008. Causes of vitamin B12 and folate deficiency. In *Food Nutr. Bull.*, vol. 29, 2008, p. 20-34.
- BORTOLI, M. C., COZZOLINO, S. M. 2009. Zinc and selenium nutritional status in vegetarians. In *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 127, 2009, p. 228-233.
- CARROLL, K. K., KUROWSKA, E. M. 1995. Soy consumption and cholesterol reduction, review of animal and human studies. In *J. Nutr.*, vol. 125, 1995, p. 594-597.
- CRAIG, W. J., MANGELS, A. R. 2009. Position of the American Dietetic Association, vegetarian diets. In *J. Amer. Diet. Assoc.*, vol. 109, 2009, p. 1266-1282.
- CROWE, F. L., STEUR, M., ALLEN, N. E., APPLEBY, P. N., TRAVIS, R. C., KEY, T. J. 2010. Plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in meat eaters, fish eaters, vegetarians and vegans, results from the EPIC-Oxford study. In *Publ. Health Nutr.*, vol. 21, 2010, p. 1-7.
- ČERHATA, D., BAUEROVÁ, A., GINTER, E. 1994. Ascorbic acid determination in serum by high performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric determination. In *Ces. Slov. Farm.*, vol. 43, 1994, p. 166-168.
- ELMADFA, I., SINGER, I. 2009. Vitamin B12 and homocysteine status among vegetarians, a global perspective. In *Amer. J. Clin. Nutr.*, vol. 89, 2009, p. 1693-1698.
- ERKKILA, A., DEMELLO, V. D., RISERUS, U., LAAKSONEN, D. E. 2008. Dietary fatty acids and cardiovascular disease, an epidemiological approach. In *Prog. Lipid Res.*, vol. 47, 2008, p.172-187.
- FRASER, G. A. 2009. Vegetarian diets, what do we know of their effects on common chronic diseases? In *Amer. J. Clin. Nutr.*, vol. 89, 2009, p. 1607-1612.
- HOUZE, P., GAMRA, S., MADELAINE, I., BOUSQUET, B., GOURMEL, B. 2001. Simultaneous determination of total plasma glutathione, homocysteine, cysteinylglycine, and methionine by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. In *J. Clin. Lab. Anal.*, vol. 15, 2001, p. 144-153.
- KAUL, S., ZADEH, A. A., SHAH, P. K. 2006. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease, not validated. In *J. Amer. Coll. Cardiol.*, vol. 48, 2006, p. 914-923.
- KEY, T. J., APPLEBY, P. N., ROSELL, M. S. 2006. Health effects of vegetarian and vegan diets. In *Proc. Nutr. Soc.*, vol. 65, 2006, p. 35-41.
- KEY, T. J., APPLEBY, P. N., SPENCER, E. A., TRAVIS, R. C., ALLEN, N. E., THOROGOOD, M. 2009. Cancer incidence in British vegetarians. In *Brit. J. Cancer*, vol. 101, 2009, p. 192-197.
- KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M., BUČKOVÁ, K., KLIMEŠ, I., ŠEBOKOVÁ, E. 2003. Iodine deficiency

in vegetarians and vegans. In *Ann. Nutr. Metab.*, vol. 47, 2003, p. 183-185.

KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M., SPUSTOVÁ, V., PAUKOVÁ, V. 2004. Lipid peroxidation and nutrition. In *Physiol. Res.*, vol. 53, 2004, p. 219-224.

KRAJCOVICOVA-KUDLACKOVA, M., BABINSKA, K., VALACHOVICOVA, M. 2005. Health benefits and risks of plant proteins. In *Bratislava Med. J.*, vol. 106, 2005, p. 231-234.

KRAJCOVICOVA-KUDLACKOVA, M., BLAZICEK, P., MISLANOVA, C., VALACHOVICOVA, M., PAUKOVA, V., SPUSTOVA, V. 2007. Nutritional determinants of plasma homocysteine. In *Bratislava Med. J.*, vol. 108, 2007, p. 510-515.

KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M., VALACHOVIČOVÁ, M., PAUKOVÁ, V. 2008. Effects of diet and age on oxidative damage products in healthy subjects. In *Physiol. Res.*, vol. 57, 2008, p. 647-651.

LEE, B. L., CHUA, S. C., ONG, H. Y., ONG, C. N. 1992. High performance chromatographic method for routine determination of vitamins A and E, and beta-

carotene in plasma. In *J. Chromatogr.*, vol. 581, 1992, p. 41-43.

LEITZMANN, C. 2005. Vegetarian diets, what are the advantages? In *Forum Nutr.*, vol. 57, 2005, p. 147-156.

MCCARTY, M. F. 1999. Vegan proteins may reduce risk of cancer, obesity, and cardiovascular disease by promoting increased glucagon activity. In *Med. Hypoth.*, vol. 53, 1999, p. 459-485.

RAJARAM, S., SABATE, J. 2000. Health benefits of a vegetarian diet. In *Nutr.*, vol. 16, 2000, p. 531-533.

REAVEN, G. M. 2000. Diet and syndrome X. In *Curr. Atheroscl. Reports*, vol. 2, 2000, p. 503-507.

SANDERS, T. A. 2009. DHA status of vegetarians. In *Prostag. Leukot. Essen. Fatty Acids*, vol. 81, 2007, p. 137-141.

SLOVAK FOOD DATA BANK. 1999. Food Research Institute, Bratislava.

TONSTAD, S., BUTLER, T., YAN, R., FRASER, G. E. 2009. Type of vegetarian diet, body weight, and prevalence of type 2 diabetes. In *Diabetes Care*, vol. 32, 2009, p. 793-796.

### Contact address

Ing. Marica Kudláčková, DrSc., Slovak Medical University, Limbova 12, SK 833 03 Bratislava, Slovakia, tel.: +421 2 593 70 737, E-mail: marica.kudlackova@szu.sk

RNDr. Martina Valachovičová, PhD., Slovak Medical University, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia, E-mail: martina.valachovicova@szu.sk

MUDr. Katarína Babinská, PhD., Faculty of Medicine of Comenius University, Sasinkova 2, 813 72 Bratislava, Slovakia, E-mail: katarina.babinska.@fmed.uniba.sk

doc. Ing. Pavel Blažíček, PhD., Alpha Medical, Vlčie Hrdlo 49, 821 07 Bratislava, Slovakia, E-mail: pavel.blazicek@alphamedical.sk

prof. MUDr. Viera Spustová, DrSc., Slovak Medical University, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia, E-mail: viera.spustova@szu.sk

Ing. Viera Pauková, Slovak Medical University, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia, E-mail: viera.paukova@szu.sk

**PRESENCE OF *S. AUREUS* AND *ENTEROCOCCUS SPP.* IN GOAT'S CHEESE AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE**

Lucia Pol'áková, Eva Dudriková, Juraj Gallo

**ABSTRACT**

The aim of this study was to isolate strains of *Staphylococcus spp.* and *Enterococcus spp.* from artisanal goat's cheese during 30 days of ripening, and to determine their antibiotic resistance. Of the total received isolates, 53 (72.60%) isolates were confirmed as *Staphylococcus spp.*, from which was only 5.66% (n = 3) detected as *S. aureus*; and 91 (82.72%) isolates were confirmed as *Enterococcus spp.* by multiplex PCR. Antibiotic resistance was tested by disc diffusion method. The 69.81% (n = 37) of staphylococci and 56.04% (n = 51) *Enterococcus spp.* as resistant were detected to one and more antibiotic drugs. Staphylococci were resistant to penicillin 69.81%, ampicillin 49.06%, oxacillin 39.62%, erythromycin 20.75%, and gentamycin 16.68%. The highest resistance of enterococci was to cephalothin 42.86% and clindamycin 23.08%.

**Keywords:** *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, antibiotic resistance, goat's cheese

**ÚVOD**

Mikroflóra každého syra je jedinečná bez ohľadu na pridávanú štartovaciu kultúru alebo cielených sekundárnych mikroorganizmov (napr. plesne a kvasinky). V syroch sa vyskytujú nielen žiaduce mikroorganizmy pozitívne ovplyvňujúce vlastnosti syra, ale i nežiaduce mikroorganizmy, ktoré môžu negatívne ovplyvniť jeho senzorké a mikrobiologické vlastnosti (Beresford et al., 2001; Görner a Valík, 2004). EFSA (The European Food Safety Authority) podniká kroky na vytvorenie vhodného predpokladu bezpečnosti (Qualified Presumption of Safety (QPS)) vedúceho k bezpečnému ohodnoteniu mikroorganizmov používaných pri produkcii potravín a krmív (EFSA, 2007).

Stafylokoky predstavujú ubikvitárne baktérie, ktoré sa nachádzajú na koži a mukózných membránach teplokrvných zvierat a ľudí, a môžu byť izolované zo životného prostredia, napr. z pôdy, vzduchu, vody, ako aj z celej rady potravín vrátane fermentovaných mäsových výrobkov a syrov. Okrem toho, sú baktérie *Staphylococcus spp.* všeobecne považované za najfrekvencovanejšie sa vyskytujúce pôvodcov zápalu mliečnej žľazy prežúvavcov (Vasil', Elečko a Fotta, 2007). Rod *Staphylococcus spp.* zahŕňa 42 reálne opísaných druhov (DSMZ, 2009; DSMZ, 2010), ktoré sa tradične rozdeľujú na koagulázo-pozitívne (KPS) a koagulázo-negatívne stafylokoky (KNS). Koagulázo-negatívne stafylokoky (KNS) sú predominantnou skupinou baktérií izolovaných pri mastitidách na celom svete (Sampimonetal et al., 2009, Zadoks a Watts, 2009). Výskyt koagulázo-negatívnych stafylokokov v niektorých chovov kráv, oviec a kôz na Slovensku publikovali viacerí autori (Dudriková, 1998; Petřík et al., 2001, Vasil' et al., 2001, 2005; Pilipčincová et al., 2010). Na druhej strane, niektoré koagulázo-negatívne druhy ako *S. condimenti*, *S. equorum*, *S. piscifermentans*, *S. succinus* sa dávajú do spojitosti s potravinami a/alebo sa zapájajú do spontánnej fermentácie. Kmene ako *S. equorum* a *S. succinus subsp. casei* sú izolované zo zašpinyých a/alebo z povrchu zrejúcich syrov (Bockelmann, 2002; Place et al., 2002; Place et al., 2003). Preto kmene týchto druhov stafylokokov môžu byť potenciálom pre budúcu aplikáciu v potravinách ako štartovacie alebo protektívne kultúry

(Seitter et al., 2011). Dominantnú flóru stafylokokov v prostredí a syrov predstavujú druhy *S. equorum* (39,0%) and *S. saprophyticus* (26,7%). Tieto dva druhy sú dominantnými na povrchu niektorých syrov zrejúceho pod mazom talianskeho pôvodu (Fontana et al., 2010). Dokonca niektoré štúdie navrhujú zahrnúť *S. equorum* ako súčasť štartovacích kultúr pre zrejúce syry pod mazom a polotvrde syry švajčiarskeho typu (Bockelmann, 2002; Irlinger, 2008). Prítomnosť *S. saprophyticus* je na syroch typická, zisťuje sa najmä v kyslom tvarehu a kozích syroch (Bockelmann and Hoppe-Seyler, 2001; Irlinger, 2008). Druh *S. aureus* je zriedka prítomný v úplne zrejúcich syroch, pretože má tendenciu vymiznúť počas obdobia zrenia v dôsledku prevládajúcich podmienok v syroch, ako je napríklad nízka vodná aktivita ( $a_w$ ) v kombinácii s nízkymi hodnotami pH a produkciou bakteriocínov (Jorgensen et al., 2005). Bakteriocíny sú produkované baktériami mliečného kvasenia (BMK), ktoré tvoria významnú skupinu mikroorganizmov v surovom mlieku a výrobkov pochádzajúcich zo surového mlieka. K BMK patria aj najvýznamnejšie rody ako *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* a *Enterococcus* (Jay et al., 2005). Zvláštnu pozornosť je potrebné venovať enterokokom, ktoré predstavujú veľkú časť autochtonných baktérií. Na ich prítomnosť v mlieku a v mliečnych výrobkoch sú dva názory: (1) a to buď ako riziková alebo cudzorodá či nežiaduca flóra, ktorá poukazuje na nízku hygienu počas produkcie a spracovania mlieka ako dôsledku priamej kontaminácie (zvieracími a ľudskými fekáliami) a nepriamej kontaminácie (kontaminovanými vodnými zdrojmi, dojacími zariadeniami, povrchom vemená, uskladňovacími tankami na mlieko a pod.) (Gelsomino et al., 2002; Giraffa, 2002), (2) ako prospešná flóra prispievajúca k výrobe unikátnych tradičných produktov a nových medziproductov, v ktorých tieto mikroorganizmy majú ochranný účinok voči nežiaducej mikroflóre, resp. majú vlastnosti probiotických baktérií (Bhardwaj, 2008). BMK majú význam pri výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov a syrov.

Cieľom práce bolo (1) získať z kozieho syra vyrobeného z nepasterizovaného mlieka bez pridania štartovacej

kultúry kmene rodu *Staphylococcus spp.*, identifikovať *S. aureus* a *Enterococcus spp.*, (2) potvrdiť ich pomocou

multiplexovej PCR a (3) stanoviť u získaných a potvrdených izolátov citlivosť k vybraným antibiotikám.

## MATERIÁL A METODIKA

V roku 2010 sa uskutočnila izolácia kmeňov stafylokokov a enterokokov z 30 vzoriek kozieho syra vyrobeného v domácich podmienkach z nepasterizovaného kozieho mlieka bez pridania štartovacej mliekarenskej kultúry, zrejúceho 30 dní. Na analýzu sa odoberali vzorky kozieho syra v priebehu obdobia zrenia v pravidelných intervaloch (1d, 3d, 7d, 15d, 30d), ktoré sa spracovali podľa metódy **STN ISO 6887**. Stafylokoky sa získavali izoláciou na selektívno-diagnostickú pôdu Baird Parker (*Himedia laboratories, India*) pri 37 °C 24 hod. a enterokoky na selektívnom diagnostickom médiu *M-Enterococcus agar* (*Himedia laboratories, India*) pri 37 °C 24 - 48 hod. Z príslušných pôd sa sterilnou ézou odobralo 1 - 12 suspektných kolónii z každej vzorky, ktoré sa 2x purifikovali cez selektívno-diagnostickú pôdu podľa príslušnosti získaného izolátu. Čistota izolátov sa kontrolovala na krvnom agare (*Merck, Germany*). Takto purifikované izoláty sa konzervovali v BHI médiu (*Himedia laboratories, India*) s obsahom glycerolu (1:1) a skladovali pri -20 °C. Rodová príslušnosť suspektných izolátov *Staphylococcus spp.* a *Enterococcus spp.* sa uskutočnila pomocou fenotypových testov (1. Stafylokoky - plazmo-koagulázový test (*Imuna, Šarišské Michaľany*), katalázový test, farbenie podľa Grama; 2. enterokoky - katalázový test, PYRA - test (*Pliva Lachema, ČR*), farbenie podľa Grama, tvorba eskulínu) a genomických metód (1. Stafylokoky - pomocou multiplexovej PCR podľa **Strommenger et al. (2003)** a **Martineau et al. (1998)** za použitia primerov Sauni 1 a Sauni 2 amplifikujúcich 16 rDNA gén, ktorý je prítomný iba u kmeňov stafylokokov

a primerov Sau 1 a Sau 2 amplifikujúcich špecifické sekvencie prítomné iba u kmeňov *S. aureus* (SA) 2. Enterokoky - PCR metódou podľa **Ke et al. (1999)** za použitia primerov (Ent 1 5' - TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G - 3'; Ent 2 5' - AAC TTC GTC ACC AAC GCG AAC - 3'; InKO1 5' - GGA GGA AGG TGG GGA TGA CG - 3', InKO2 5' - ATG GTG TGA CGG GCG GTG TG - 3' (**Martineau et al. (1996)**). Izolácia genomickej DNA získaných kmeňov sa uskutočnila pomocou 20 % Chelexu 100 (*Biorad, USA*). PCR produkty sa elektroforeticky separovali v 2 % agarozovom gély (*Invitroge, USA*) pri 100 V 90 mA 45 min a vizualizovali UV svetlom po ofarbení *Gold View (E coli)*.

U geneticky potvrdených kmeňov sa zisťovala citlivosť k vybraným antibiotikám pomocou diskovej difúznej metódy na Muller Hinton agare (*Himedia laboratories, India*). V prípade identifikovaných kmeňov rodu *Staphylococcus spp.* sa sledovala citlivosť k Ampicilín 10 µg/disk (AMP10), Vankomycín 30 µg/disk (VAN30), Erytromycín 15 µg/disk (ERY15), Oxacilín 5 µg/disk (OX5), Penicilín 10 U (P10), Tetracyklín 30 µg/disk (TET30), Chloramfenikol 30 µg/disk (CMP30), Gentamycín 10 µg/disk (G10) a kmeňov rodu *Enterococcus spp.* k Ampicilín 10 µg/disk (AMP10), Erytromycín 15 µg /disk (ERY15), Tetracyklín 30 µg /disk (TET30), Vankomycín 30 µg /disk (VAN30), Oflaxacín 5µg/disk (OFL5), Cefalotín 30 µg /disk (CLT30), Penicilín 10 µg /disk (P10), Chloramfenikol 30 µg /disk (CMP30), Klindamicín 2 µg /disk (CLI2) (*HiMedia Laboratories, India*). Výsledky sa interpretovali podľa **CLSI (2006)**.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z celkového počtu získaných izolátov sa doposiaľ preskúmalo 76 suspektných izolátov rodu *Staphylococcus spp.* a 110 suspektných izolátov rodu *Enterococcus spp.*, z ktorých pomocou multiplexovej PCR bolo potvrdených 53 izolátov ako *Staphylococcus spp.* a 91 izolátov ako *Enterococcus spp.* Z konfirmovaných izolátov stafylokokov boli tri izoláty identifikované ako *S. aureus*, čo predstavuje 5,66 % z celkového počtu. **Williams and Withers (2010)** uvádzajú, že najvyššia frekvencia výskytu alimentárnych patogénov prežívajúcich v syroch vyrobených na farmách je *S. aureus*, kde ho detegovali v 40 % z analyzovaných vzoriek syrov ale najmä zo syrov vyrobených z organického mlieka, kde ho detegovali v 7 prípadoch z 12 testovaných organických syrov vyrobených z nepasterizovaného mlieka. Všetky ostatné potvrdené izoláty *Staphylococcus spp.* boli plazmo-koagulázo negatívne a ani v jednom prípade nebola zaznamenaná prítomnosť hemolýzy na krvnom agare. Potvrdené kmene obidvoch rodov boli následne testované na antibiotickú rezistenciu k vybraným antibiotikám.

Z celkového počtu stafylokokov sa pomocou diskovej difúznej metódy zistilo 69,81 % kmeňov *Staphylococcus spp.* a 56,04 % kmeňov *Enterococcus spp.* rezistentných na jedno a viac použitých antibiotík.

Najvyššia antibiotická rezistencia u *Staphylococcus spp.* sa zaznamenala na penicilín 69,81 %, ampicilín 49,06 %, oxacilín 39,62 %, erytromycín 20,75 %, gentamycín 16,98 % a najnižšia na vankomycín 7,55 %, tetracyklín 5,66 % a chloramfenikol 1,88 %. Intermediálna citlivosť sa zaznamenala k štyrom použitým antibiotikám: erytromycín 16,98 %, gentamycín 13,21 %, tetracyklín 7,55 % a chloramfenikol 5,66 %. Súčasne sa zistili aj multirezistentné kmene. Rezistenciu k jednému antibiotiku malo 16,98 % stafylokokov. Najviac stafylokokov bolo rezistentných k dvom antibiotikám (18,87 %), k trom (13,21 %) a štyrom použitým antibiotikám (11,32 %). V jednom prípade bola zaznamenaná rezistencia k piatim použitým antibiotikám a v štyroch prípadoch bola zaznamenaná rezistencia k šiestim použitým antibiotikám. Celkovo bolo citlivých na všetkých osem vybraných antibiotík 30,16 % kmeňov *Staphylococcus spp.* Všetky tri získané kmene *S. aureus* boli rezistentné na ampicilín a penicilín (tab. 1). Výsledky našej práce korelujú s výsledkami iných autorov (**Resch et al., 2008; Zell et al., 2008; Faria et al., 2009**). **Soares et al. (in press)** pri zisťovaní celkového profilu antibiotickej citlivosti medzi stafylokokmi, odhalili, že najvyššie percento rezistencie bolo zistené pre penicilín (30,5%), následne ampicilín (24,8%), erytromycín (22,9%) a tetracyklín (15,2%). Najnižšia

rezistencia bola zistená pre cephalexín (6,7%), gentamycín (6,7%) and oxacilín (4,8%).

V prípade kmeňov rodu *Enterococcus spp.* bola najvyššia rezistencia zistená na antibiotiká cefalotín 42,86 % a clindamycín 23,08 %. Rezistencia k ďalším použitým antibiotikám bola veľmi nízka (tab. 2). Intermediálna citlivosť sa zistila k štyrom vybraným antibiotikám: cefalotín 36,26 %, erytromycín, vankomycín (16,68 %), oflaxacín 9,89 %. Počet multirezistentných kmeňov bol nízky, t.j. 21,57 %. Najviac kmeňov *Enterococcus spp.* malo rezistenciu k dvom antibiotikám (15,69 %), k trom (3,92 %) a v jednom prípade k štyrom antibiotikám (1,96 %). V predchádzajúcej našej štúdii, v ktorej sme sledovali antibiotickú rezistenciu kmeňov rodu *Enterococcus spp.* pochádzajúcich z kozieho mlieka, kozích syrov, srvátky a prostredia sme zistili veľmi vysokú rezistenciu k vybraným antibiotikám oproti teraz dosiahnutým výsledkom. Najvyššia rezistencia bola preukázaná ku klindamycínu (85,19 %), vankomycínu (65,43 %), ampicilínu (60,49 %), penicilínu (53,09 %), cefalotínu (50,62 %), erytromycínu (45,68 %), oflaxacínu (39,51 %) a najnižšia k tetracyklínu (18,52 %) a chloramfenikolu (13,58 %). Intermediálna citlivosť sa zaznamenala k siedmim antibiotikám: erytromycín (25,93 %), chloramfenikol (17,28 %), oflaxacín (16,05 %), cefalotín (14,81 %), tetracyklín (12,35 %) a rovnaké percento (2,47 %) sa zistilo k vankomycínu a klindamycínu. Rovnako i počet multirezistentných enterokokov bol vyšší, a to na päť (23,46 %), ďalej na sedem (17,28 %), dva (16,05 %) a tri (12,35 %) druhy použitých antibiotík. Súčasne sa zistilo, že tri kmene (3,70 %) sú rezistentné na osem použitých antibiotík a v jednom prípade (1,23 %) sa zistila rezistencia voči všetkým použitým antibiotikám (Pol'áková et al., 2010). Za posledných desať rokov pribudli štúdie dokazujúce u izolátov enterokokov z mlieka rezistenciu na rôzne typy antibiotík používaných aj v liečbe ľudí. Araya et al. (2005) u enterokokov izolovaných zo surového mlieka zistili rezistenciu na erytromycín, tetracyklín, chloramfenikol a u 8 % izolátov aj na vankomycín.

Šustáčková et al. (2003) u izolátov enterokokov zo surového mlieka zistili rezistenciu na chloramfenikol, tetracyklín a erytromycín. Fabianová et al. (2010) vo vzorkách surového kravského mlieka zistili najvyššiu citlivosť enterokokov (n = 46) na teikoplanín (97,9 %) a najvyššiu rezistenciu na tetracyklín. Rezistencia enterokokov na vankomycín predstavovala len 4,5 %. Cortéz at al. (2006) vyzisolovali zo vzoriek kozieho mlieka 7 izolátov enterokokov, z ktorých boli rezistentné na vankomycín. Cupáková et al. (2010) uvádza, že všetky izoláty *E. faecalis* zo surového i pasterizovaného ovčieho mlieka boli rezistentné ku klindamycínu, cefalotínu a ofloxacinu. V prípade enterokokov pochádzajúcich z prvých strekov mlieka, Čanigová et al. (2010) zistili u 5 % izolátov (druh *E. faecalis*) rezistenciu na vankomycín, pričom sa vôbec v ich prípade nepotvrdila rezistencia na ampicilín a teikoplanín. Avšak u enterokokov izolovaných pôvodne z bazénových vzoriek mlieka títo autori nezistili rezistenciu na vankomycín, čo vysvetľujú náhodným výberom kolónií na izoláciu alebo pomerne nízkym výskytom vankomycín-rezistentných kmeňov enterokokov. Zistili však prekvapujúco vysoké percento izolovaných kmeňov rezistentných na tetracyklín (50 %).

Netreba zabúdať, že aj koagulázo-negatívne stafylokoky môžu byť rovnako ako *S. aureus* producentmi enterotoxínov a ako BMK môžu tvoriť biogénne aminy (Witte et al., 2008), čo môže viesť k vzniku alimentárnej intoxikácie. Okrem toho, z hľadiska patogenity je dôležitým kritériom pri hodnotení bezpečnosti ich prítomnosti: prítomnosť prenosných markerov rezistencie na antibiotiká. Kmene KNS izolovaných z potravín a klinických izolátov, sú často rezistentné na jedno alebo niekoľko antibiotík (Resch et al., 2008), čím sa stávajú zdrojom génu kódujúceho antibiotickú rezistenciu (Perrenten et al., 1997).

**Tabuľka 1** Prehľad antibiotickej citlivosti kmeňov *S. aureus* k vybraným antibiotikám

Kmeň <i>S.aureus</i>	AMP 10			VAN 30			ERY 15			OX 5			P 10			TET 30			C 30			G10		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	S	I	R	I	S	R	I	S	R	I	S
1	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
2	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
3	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+

R- rezistentné, I- intermediálne citlivé, S- citlivé

**Tabuľka 2** Percentuálny prehľad antibiotickej rezistencie *Enterococcus spp.*

	AMP10	VAN30	ERY15	CLT30	OFL5	P10	TET30	CMP	CLI2
R	2,20	3,30	1,10	42,86	1,10	2,20	9,89	0	23,08
I	-	16,48	16,48	36,26	9,89	-	13,19	0	8,79
S	97,80	80,22	82,42	20,88	89,01	97,80	76,92	100	68,13
Σ	100	100	100	100	100	100	100	100	100

R- rezistencia, I- intermediálna citlivosť, S- citlivosť

## ZÁVER

Z našich výsledkov vyplýva, že syry vyrobené z nepasterizovaného mlieka bez pridania štartovacej kultúry nepredstavujú nebezpečenstvo výskytu

alimentárneho patogéna *S. aureus*, ak sú dodržané hygienické požiadavky pri získavaní mlieka, ktoré pochádza od zdravých jedincov podľa požiadaviek

Nariadenia ES č. 853/2004 v znení neskorších predpisov a netrpia zápalom mliečnej zľazy. Rovnako aj osoby, ktoré manipulujú s mliekom a mliečnymi výrobkami nie sú latentnými nositeľmi *S. aureus*. Nesmieme avšak zabúdať, že výrobky z nepasterizovaného mlieka môžu okrem bakteriálnych ochorení, byť potenciálnym rizikom prenosu vírusových ochorení. V súčasnosti však viacero autorov poukazuje na to, že potraviny sa stávajú možným

prostredím, v ktorom dochádza k výmene informácií o antibiotickej rezistencii medzi bakteriálnymi druhmi, čo následne cez potravinový reťazec môže ovplyvňovať liečbu pomocou antibiotík v humánnej medicíne. Okrem týchto uvedených rizík, výrobky bez tepelnej úpravy majú väčšiu diverzitu baktérií, ktoré môže podmieňovať tvorbu určitých špecifických vlastností daných výrobkov.

## LITERATÚRA

ARAYA, M., DAVIDOVICH, G., CHAVES, C. 2005. Identification of *Enterococcus* sp. isolated from raw milk samples coming from the metropolitan area of Costa Rica and evaluation of its antibiotic sensibility pattern. In *Archivos Latinoamericanos de Nutricio*, vol. 55, 2005, no. 2, p. 161-166.

BERESFORD, T. P., FITZIMONS, N. A., BRENNAN, N. L., COGAN T. M. 2001. Recent advances in cheese microbiology. In *Microbiol. Int. Dairy J.*, vol. 11, 2001, no. 4-7, p. 259-274.

BHARDWAJ, A., MALIK, R. K., CHAUHAN, P. 2008. Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. In *Indian J. Microbiol.*, vol. 48, 2008, no. 3. p. 317-325.

BOCKELMANN, W. 2002. Development of defined surface starter cultures for the ripening of smear cheeses. In *International Dairy Journal*, vol. 12, 2002, no. 2-3, p. 123-131.

BOCKELMANN, W., HOPPE-SEYLER, T. 2001. The surface flora of bacterial smear-ripened cheeses from cow's and goat's milk. In *International Dairy Journal*, vol. 11, 2001, no 4-7 p. 307-314.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2006. In *16th Informational Supplement. CLSI document M100-S16*. Wayne, PA, USA, 2006, 92p.

CORTÉS, C., De la FUENTE, R., CONTRERAS, A., SÁNCHEZ, A., CORRALES, J. C., RUIZ-SANTANITA, J. A., ORDEN, J. A. 2006. Occurrence and preliminary study of antimicrobial resistance of enterococci isolated from dairy goats in Spain. In *Internat. J. Food Microbiol.*, vol. 110, 2006, no 1, p. 100-103.

CUPÁKOVÁ, Š., DUŠKOVÁ, M., JANŠTOVÁ, B., NECIDOVÁ, L., KARPÍŠKOVÁ, R. 2010. Druhové zastoupení a rezistence enterokoků izolovaných ze syrového a pasterovaného ovčieho mléka. In *Celostátní přehledky sýrů 2010. Výsledky přehledů a sborník přednášek konference Mléko a sýry*. Praha leden 2010, s. 242-244. ISBN 978-80-7080-760-6.

ČANIGOVÁ, M., KREBS-ARTIMOVÁ, A., KROČKO, M., DUCKOVÁ, V. 2010. Antibiotická rezistencia enterokokov izolovaných z rôznych zdrojov v prvovýrobe mlieka. In *Celostátní přehledky sýrů 2010 Výsledky přehledů a sborník přednášek konference Mléko a sýry*. Praha leden 2010, p. 237-241, ISBN 978-80-7080-760-6.

DUDRIKOVÁ, E., PILIPČINEC, E., BURDOVÁ, O. 1998. Stafylokoky izolované z ovčieho mlieka iné ako *Staphylococcus aureus*. In: Zborník XIX. Hygiena alimenterum, ŠVS SR a UVL, Košice, 1998, 66-67.

DSMZ, 2009. Nomenclature up-to-date: Approved lists, validation lists. Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen. Retrieved from the web: <[http://www.dsmz.de/microorganisms/bacterial\\_nomenclature\\_infophp?genus=STAPHYLOCOCCUS](http://www.dsmz.de/microorganisms/bacterial_nomenclature_infophp?genus=STAPHYLOCOCCUS)>.

DSMZ, 2010. Bacterial nomenclature up-to-date (Approved lists, validation lists). Deutsche Sammlung für

Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Braunschweig, Germany April 2010. Retrieved from the web: <<http://www.dsmz.de/download/bactnom/bactnamepdf>>.

EFSA, 2007. EFSA public consultation on the Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for the safety assessment of microorganisms deliberately added to food and feed. European Food Safety Authority. Retrieved from the web: <[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1178620759439.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620759439.htm)>.

FABIANOVÁ, J., DUCKOVÁ, V., ČANIGOVÁ, M., KROČKO, M. 2010. Výskyt enterokokov v kravskom mlieku a ich rezistencia na antibiotiká. In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, no 2, p 17-21, ISSN 1337-0960.

FARIA, C., VAZ-MOREIRA, I., SERAPICOS, E. NUNES, O. C., MANAIA, C. M. 2009. Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water. In *Sci. Total Environ.*, vol. 407, 2009, no. 12, p. 3876-3882, ISSN: 0048-9697.

FONTANA, C., CAPPÀ, F., REBECCHI, A., COCCONCELLI, P. S. 2010. Surface microbiota analysis of Talleggio, Gorgonzola, Casera, Scimudin and Formaggio di Fossa Italian cheeses. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 138, 2010, no. 3, p. 205-211.

GELSOMINO, R., VANCANNEYT, M., COGAN, T. M., CONDON, S., SWINGS, J. 2002. Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 3560-3565.

GIRAFFA, G. 2002. Enterococci from foods. In *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 26, 2002, no. 2, p. 163-171.

GÖRNER, F., VALÍK, E. 2004. In *Aplikovaná mikrobiológia požívateľin*. Malé Centrum, Bratislava, ISBN : 80-967064-9-7, 528 p.

IRLINGER, F. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: coagulase-negative staphylococci. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 126, 2008, no. 3, p. 302-310.

JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. 2005. *Modern Food Microbiology*. Springer Science, NY USA, 790 p. ISBN: 0-387-23180-3.

JORGENSEN, H. J., MØRK, T., RØRVIK, L. M. 2005. The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. In *Journal of Dairy Science*, vol. 88, 2005, no. 11, 3810-3817.

KE, D., PICARD, F. J., MARTINEAU, F., MÉNARD, C. H., ROY, P. H., OUELLETTE, M., BERGERON, M. G. 1999. Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 37, 1999, no. 11, p. 3497-3503.

MARTINEAU, F., PICARD, F. J., ROY, P. H., OUELLETTE, M., BERGERON, M. G. 1996. Species-specific and ubiquitous DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus epidermidis*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 34, 1996, no. 12, p. 2888-2893.

MARTINEAU, F., PICARD, F. J., ROY, P. H., OUELLETTE, M., BERGERON, M. G. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid

- identification of *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 36, 1998, p. 618-623.
- PERRETEN, V., SCHWARZ, F., CRESTA, L., BOEGLIN, M., DASEN, G., TEUBER, M. 1997. Antibiotic resistance spread in food. In *Nature*, vol. 389, 1997, p. 801-802, ISSN 0028-0836.
- PETRÍK, P., TRÁVNIČEK, M., ČÍŽEK, M., FOTTA, M., MARDZINOVÁ, S. 2001. Identifikácia koaguláza negatívnych stafylokokov izolovaných zo surového mlieka oviec a kôz. In: *Zborník Aktuálne problémy epizootológie a infektológie, november 2001*, 142-146.
- PILIPČINCOVÁ, I., BHIDE, M., DUDRIKOVÁ, E., TRÁVNIČEK, M. 2010. Genotypic characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from Sheep milk in Slovakia. In *Acta Vet., Brno*, vol. 79, 2010, no. 4, p. 269-275. ISSN 0001-7213 (printed), ISSN 1801-7576 (electronic).
- PLACE, R. B., HIESTAND, D., BURRI, S., M. TEUBER, M. 2002. *Staphylococcus succinus* subsp. *Casei* subsp. nov., a dominant isolate from a surface ripened cheese. In *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 25, 2002, no. 3, p. 353-359.
- PLACE, R. B., HIESTAND, D., GALLMANN, H. R., TEUBER, M. 2003. *Staphylococcus equorum* subsp. *linens*, subsp. nov., a starter culture component for surface ripened semi-hard cheeses, *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 26, 2003, no. 1, 30-37.
- POLÁKOVÁ, L., GALLO, J., DUDRIKOVÁ, E., FRIČOVÁ, L., CUPÁKOVÁ, Š., ŠPILOVSKÁ, S. 2010. Sledovanie antibiotickej citlivosti *Enterococcus spp.* In *III. Vedecká konferencia stretnutie mladých vedeckých pracovníkov v potravinárstve*. Gabčíkovo, 2.-3. december 2010, p. 285-291, ISBN 978-80-227-3411-0.
- RESCH, M., NAGEL, V., HERTEL, C. 2008. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 127, 2008, p. 99-104, ISSN: 0168-1605.
- SAMPIMONETAL, O. C., ZADOKS, R. N., DEVLIEGHER, S., SUPRE, K., HAESBROUCK, F., BARKEMA, H. W., SOL, J., LAM, T. J. G. M. 2009. Performance of API Staph ID 32 and Staph-Zym for identification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk samples. In *Vet. Microbiol.*, vol. 136, 2009, p. 300-305, ISSN 0378-1135.
- SEITTER (NÉE RESCH), M., CHRISTIANE NERZ, CH., ROSENSTEIN, R., GÖTZ, F., HERTEL, CH. 2011. DNA microarray based detection of genes involved in safety and technologically relevant properties of food associated coagulase-negative staphylococci. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 145, 2011, no. 2-3, p. 449-458.
- SOARES, J. C., MARQUES, M. R., TAVARIA, F. K., PEREIRA, J. O., MALCATA, F. X., MANUELA M. PINTADO, M. M. in press. Biodiversity and characterization of *Staphylococcus* species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 146, 2011, no. 2.
- STROMMINGER, B., KETTLITZ, C., WERNER, G., WITTE, W. 2003: Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 43, 2003, p. 4089-4094, Online ISSN: 1098-660X, Print ISSN: 0095-1137.
- STN ISO 6887: 1997. In *Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na prípravu riedení pri mikrobiologickom skúšaní*.
- ŠUSTÁČKOVÁ, A., NÁPRAVNÍKOVÁ, E., NAVRÁTILOVÁ, P. 2003. Potraviný živočíšného pôvodu jako vektor rezistence k antibakteriálním látkam. In *Zborník Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe*. Nitra, SPU, 2003, p. 328-342, ISBN 80-8069-295-5.
- VASIĽ, M., ELEČKO, J., FOTTA, M., JACKOVÁ, A., KALINÁČOVÁ, V., SIKLENKA, P. 2001. (Záverčná správa) Výskumný ústav veterinárnej medicíny Košice, 2001, 38 p.
- VASIĽ, M., ELEČKO, J., FOTTA, M. 2007. Výskyt baktérií *Staphylococcus spp.* v mlieku prežúvavcov. In: *Zborník Hygiena alimenterum XXVIII, Štrbské pleso-Vysoké Tatry, 2-4 mája. 2007*, 111-115, ISBN 978-80-8077-055-6.
- WILLIAMS, A. G., WITHERS, S. E. 2010. Microbiological characterisation of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. In *Int. J. Dairy Technology*, vol. 3, 2010, p. 305-476.
- WITTE, W., CUNY, C., KLARE, I., NUBEL, U., STROMMINGER, B., WERNER, G. 2008. Emergence and spread of antibiotic-resistant Gram-positive bacterial pathogens. In *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 298, 2008, no. 5-6, p. 365-377, ISSN 1438-4221.
- ZADOKS, R. N., WATTS, J. L. 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. In *Vet. Microbiol.*, vol. 134, 2009, p. 20-28, ISSN 0378-1135.
- ZELL, C., RESCH, M., ROSENSTEIN, R., ALBRECHT, T., HERTEL, C., GOTZ, F. 2008. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 127, 2008, p. 246-25, ISSN 0168-1605.

### Acknowledgments:

This work was supported by grant VEGA MŠ SR 1/0638/09 and KEGA MŠ SR no. 3/128-001UVL-4/2010.

Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia, E-mail: durikova@uvm.sk

MVDr. Juraj Gallo. Department of Food Hygiene and Technology, Institute of Milk Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia  
E-mail: gallo44@gmail.com

**CONTRIBUTION TO THE DEBATE ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK FROM VENDING MACHINES***Eubomír Valík, Alžbeta Medved'ová, Lucia Bírošová, Denisa Liptáková, Ladislav Ondruš, Ján Šnelcer***ABSTRACT**

Microbiological quality of raw milk from vending machines was analyzed in this work. Despite the pathogenic bacteria may be present in raw milk, the analyses and evaluations were focused to bacterial indicators only. Refer to total bacterial counts, the criterion  $\leq 100,000$  CFU.ml<sup>-1</sup> met 12 from 15 samples (80%) and all samples complied with the supplementary criterion of  $5 \times 10^4$  CFU.ml<sup>-1</sup> for psychrotrophs. Numbers of coagulase-positive staphylococci ranged closely around the average value  $2.9 \times 10^2$  CFU.ml<sup>-1</sup>. Average numbers of coliforms and *E. coli* in raw milk were found  $4.34 \pm 0.42$  and  $3.25 \pm 0.83$  log CFU.ml<sup>-1</sup>, respectively. These values significantly exceeded even the limits applicable in the past. On the basis of unchanged numbers of these bacteria in milk after 24 h at 6 °C, we assume that the high numbers of coliforms and *E. coli* present in milk are the result of faecal contamination and not growth. As *E. coli* is an indicator of faecal contamination of raw milk comprising the possible presence of *Salmonella* sp. *Campylobacter* sp. and other pathogens, microbiological survey suggested appropriate preventive measures that should be applied in terms of risk management.

**Keywords:** Raw milk, microbiological quality

---

**ÚVOD**

Nevyhnutné opracovanie poľnohospodárskych surovín určených pre výrobu potravín sa v súčasnosti často v negatívnom kontexte spája so všeobecnou globalizáciou v priemysle, medzinárodnom obchode alebo v predaji potravín. Spotrebiteľ to vníma a začína uprednostňovať s minimálnym teplotným opracovaním, prípadne potraviny surové, pričom si ale ťažko zvyká na ich kratšie doby spotreby. Meniace sa požiadavky konzumentov a v niektorých prípadoch nemiace sa návyky pri zaobchádzaní s potravinami môžu viesť častejšie k ich kazeniu alebo dokonca k alimentárnym ochoreniam.

Na dopyt časti konzumentov po tzv. prírodných, resp. biopotravínach v ostatnom čase reagovala prvovýroba ponukou surového kravského mlieka v mliečnych automatoch. Ich sieť v súčasnosti tvorí takmer 200 zariadení, ktoré boli zakúpené a inštalované s dotačnou podporou štátu. Mliečne automaty mali podporiť domácu výrobu surového mlieka, priniesť spravodlivejšie rozdelenie príjmov z produkcie surového mlieka pre prvovýrobcov, poskytnúť pravú chuť mlieka a zvýšiť jeho konzumáciu. Časť odbornej a vedeckej verejnosti pozostávajúcej prevažne z komunity mikrobiológov však poukazovala na skutočnosť, že počet automatov sa zvyšoval veľmi rýchlo. Pričom kritizovala klasickú empirickú argumentáciu zainteresovaných, že „veď aj naši predkovia konzumovali surové mlieko a nič sa im nestalo“. V informačných prostriedkoch sa často a jednotne používal termín „čerstvé mlieko“ a relativizovali sa možné mikrobiologické nebezpečenstvá ako aj riziko ochorenia spojené s priamou konzumáciou takéhoto nepasterizovaného mlieka (Valík, 2010). Dialo sa to aj napriek platnému Nariadeniu Vlády SR č. 352/2009, ktorým sa ustanovovali hygienické požiadavky na priamy predaj a dodávanie malého množstva prvotných produktov živočíšneho pôvodu, ktoré v §4, Hygienické požiadavky na malé množstvá surového mlieka neobsahovalo žiadny iný termín ako len surové mlieko. V súčasnosti prirodzene

pri platnosti legislatívy EÚ toto nariadenie už nie je účinné.

Citovaná kritika bola napokon do určitej miery účinná. Komunikačné prostriedky začali pripomínať, že surové mlieko nie je určené pre priamu konzumáciu a zvlášť deti, tehotné ženy, seniori alebo jedinci s oslabenou imunitou by ho mali piť tepelne ošetrené (prevarené). Konzumácia zmiešaného surového mlieka sa do určitej miery prestala relativizovať. Napokon sa do diskusie pred letnými mesiacmi t. r. zapojilo aj Ministerstvo pôdohospodárstva, životného prostredia a regionálneho rozvoja SR s odporúčaním dôsledne dodržiavať upozornenia umiestnené na automatoch.

Dostatočné argumenty pre náležitú opatrnosť pri rozširovaní konzumácie surového mlieka a tiež aj dôvody, prečo sa v minulosti pasterizácia mlieka zaviedla, nájdeme v odbornej a vedeckej literatúre. Hlavným cieľom zavedenia pasterizácie mlieka bola ochrana zdravia konzumentov a hlavnou príčinou skutočnosť, že v surovom mlieku sa prirodzene môžu nachádzať baktérie schopné (za určitých podmienok) vyvolať ochorenia.

Napriek týmto faktom ako aj skutočnosti, že v automatoch sa predáva surové mlieko od väčšieho počtu dojnic, teda zmiešané bazénové mlieko, propagátori mlieka z automatov, tvrdili, že pitie surového mlieka je absolútne bezpečné. Okrem iného stále tvrdia, že takéto mlieko obsahuje dokonca probiotické baktérie a je možné z neho vyrobiť kvalitný čerstvý syr ([www.mliekomat.sk](http://www.mliekomat.sk), október 2010).

Zámerom tejto práce bolo reagovať na uvedené informácie a vykonať prieskum v obsahu relevantných skupín mikroorganizmov vo vzorkách surového mlieka odobratých z automatov využívajúc pritom naše skúsenosti s kvantitatívnym hodnotením dynamiky správania sa mikroorganizmov v potravinách.



**MATERIÁL A METÓDY****Mlieko**

Vzorky mlieka boli štandardne odobrané do sterilných fliaš podľa postupu určeného automatmi (Stromová ul., Rožňavská ul., Bratislava) v období od 21. 6. do 6. 7. 2010. Vzorky sa podrobili počiatocnej mikrobiologickej analýze zahrňujúcej stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM), počet psychrotrofných baktérií (PTB), koliformných baktérií (KFB) a *E. coli* (EC), kvasiniek a vláknitých húb (KaP), predpokladaný počet laktobacilov na MRS agare (PrLB), predpokladaný počet laktokokov (PrLC) na agare M17 a počty koagulázo-pozitívnych stafylokokov (*S. aureus* - STA) ihneď po transporte do laboratória trvajúceho max. 20 min. Tieto stanovenia boli vykonané aj po 24 h inkubácii vzoriek pri  $6 \pm 1$  °C.

**Mikrobiologické analýzy**

Počty jednotlivých skupín mikroorganizmov boli stanovené zriedovacou kultivačnou metódou podľa príslušných STN ISO. Celkový počet mikroorganizmov (CPM) sa stanovoval na GTK agare (Imuna, Šarišské Michaľany, SR) podľa STN ISO 4833, počet psychrotrofných baktérií (PTB) na tom istom agare, ale pri inkubácii Petriho misiek pri  $6 \pm 1$  °C počas 7 až 10 d. Predpokladané počty laktobacilov (PrLB) sa stanovili podľa STN ISO 15 124 na MRS agare okyselenom kyselinou mliečnou na pH 5,4 (Merck, Darmstadt, Nemecko), predpokladané počty laktokokov (PrLC) podľa STN ISO 4833 na agare M17 (Merck, Darmstadt, Nemecko), počty koagulázo-pozitívnych stafylokokov (STA) podľa STN ISO 6888-1 na agare podľa Baird-Parkera (Biokar, Allonne, Francúzsko), počty koliformných baktérií (KFB) a *E. coli* podľa STN ISO 4832 na chromogénnom agare Chromocult (Merck, Darmstadt, Nemecko).

**Matematicko-štatistické hodnotenie**

Výsledky mikrobiologických stanovení mlieka sme podrobili základnému štatistickému hodnoteniu (popisná štatistika, histogramy) s využitím štatistického balíka Microsoft Office 2007 (Microsoft, Redmond, USA).

**VÝSLEDKY A DISKUSIA****Mikrobiologická kvalita surového mlieka**

V súvislosti s ukazovateľmi, ktoré sme sledovali v tejto práci, bolo možné pri hodnotení mikrobiologickej kvality surového mlieka oficiálne vychádzať z limitov uvedených v aktuálnych Nariadeniach EÚ č. 853/2005, 2073/2005, 1441/2007. Dodatočne, aj napriek neplatnosti, sme brali do úvahy aj niektoré ukazovatele bývalej STN 57 0529 alebo Nariadenia vlády SR č. 312/2003. Doplnkové mikrobiologické limity týchto dokumentov majú podľa nás stále pragmatický význam.

Legislatíva EÚ predpokladá, že surové mlieko nie je určené pre priamu konzumáciu, preto mikrobiologické ukazovatele zredukovala len na limit pre CPM ( $100\,000\text{ KTJ.ml}^{-1}$ ). Niektoré krajiny, v ktorých sa predáva surové mlieko alebo sa z neho vyrábajú syry, limitné hodnoty mikrobiologických ukazovateľov uvádzajú v hygienických príručkách (NZFSA, 2010),

v Potravinovom kódexe (FSA, 2010) alebo v produktových štandardoch, napr. v Kalifornii (CDFA, 2008). Ich prehľad je uvedený v tab. 1.

Ostatné dva štandardy, „kalifornský“ a „austrálsky“ obsahujú najprísnejšie limity,  $\text{KFB} \leq 10\text{ KTJ.ml}^{-1}$ , resp.  $E. coli \leq 3\text{ KTJ.ml}^{-1}$  a z praktického hľadiska sa zdajú byť diskutabilné. Napríklad, samotné oznámenie o kalifornskom limite uviedlo rozporuplné informácie. Na jednej strane sa v ňom konštatuje, že limit  $\text{KFB} \leq 10\text{ KTJ.ml}^{-1}$  je možné v surovom mlieku na farme dosiahnuť rutinne účinným čistením a dezinfekciou, ale na druhej strane uviedlo prieskum, v ktorom len 20 % vzoriek surového mlieka obsahovalo počty fekálne koliformných baktérií  $\leq 10\text{ KTJ.ml}^{-1}$ . Reálnejším sa zdá byť limit novozélandského úradu pre *E. coli*  $\leq 100\text{ KTJ.ml}^{-1}$  (NZFSA, 2010), ktorý je najbližšie k slovenskému limitu  $\text{KFB} \leq 1000\text{ KTJ.ml}^{-1}$  (STN 57 0529) logicky vyššiemu o jeden logaritmický poriadok. Najlepšia zhoda medzi platnými i neplatnými dokumentmi z tab. 1 je v limitnej hodnote  $\text{CPM} \leq 100\,000\text{ KTJ.ml}^{-1}$ . Výnimku tvorí len austrálsky potravinový kódex (FSA, 2010).

**Celkový počet mikroorganizmov**

Vybrané ukazovatele štatistického hodnotenia mikrobiologickej analýzy 15 vzoriek surového mlieka z automatov sú zosumarizované v tab. 2. Na základe limitu pre CPM ( $\leq 100\,000\text{ KTJ.ml}^{-1}$ ) môžeme konštatovať, že z 15-tich toto kritérium splnilo 12 vzoriek (80 %). Tri vzorky prekročili tento všeobecne akceptovaný limit a naznačili tak problémy so sekundárnou kontamináciou surového mlieka (Görner a Valík, 2004).

**Počet psychrotrofných baktérií**

Indikátorový význam počtu psychrotrofných baktérií je tiež spojený so sekundárnou kontamináciou mlieka, najmä z dojacích zariadení. Prakticky zaujíma predovšetkým spracovateľa, a to z hľadiska doby trvanlivosti mliečnych výrobkov alebo predpovede spôsobu ich prípadného kazenia. Psychrotrofné baktérie sú pôvodom mezofilné, ktoré dobre rastú a rozmnožujú sa pri teplotách 5 až 7 °C. Zahrňujú gramnegatívne druhy rodov, napríklad, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium* a *Flavobacterium*, ako aj grampozitívne baktérie z rodov *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* a *Microbacterium* (Sørhaug a Stepaniak, 1997). Vyznačujú sa tvorbou termostabilných proteolytických a lipolytických enzýmov, ktoré sa podieľajú na kazení mlieka a mliečnych výrobkov, vrátane ultravysoko zahriatych (UHT). V surovom mlieku sa ich vyššie počty spájajú s podporou rastu baktérií mliečného kysnutia. Peptidy alebo aminokyseliny vzniknuté dôsledkom aktivity týchto enzýmov podporujú rast a rozmnožovanie baktérií, ktoré prežili pasterizačný záhrev ako aj ostatných kontaminačných baktérií. Týmto sa kazenie teplotne ošetrovaných produktov značne urýchľuje.

Napriek tomu, že tento ukazovateľ nie je v súčasnosti zakotvený v platnej legislatíve, pre hodnotenie mikrobiologickej kvality je smerodajný. Ak vezmeme do úvahy základné štatistické parametre (Tab. 2) a histogram rozdelenia početností, je možné konštatovať, že všetky vzorky z automatov vyhovovali nezáväznému kritériu  $5 \cdot 10^4\text{ KTJ.ml}^{-1}$  (STN 57 0529). Podobne aj Muir (1996b)

**Tab. 1** Prehľad niektorých ukazovateľov mikrobiologickej kvality surového mlieka vo vybraných štandardoch (EÚ, Nového Zélandu, Austrálie, Kalifornie a SR pred vstupom do EÚ)

Ukazovateľ	NK č. 853 (2005)	NZFSA (2010)	FSA (2010)	C DFA (2008)	STN 57 0529 (1993)
	KTJ.ml <sup>-1</sup>				
CPM	100 000	100 000	25 000	-	100 000
PTB	-	-	-	-	50 000
KFB	-	-	100	10*	1 000
<i>E.coli</i>	-	100	3	-	-
STA	-	-	-	-	-

Vysvetlivky: CPM – celkový počet mikroorganizmov, PTB – počet psychrotrofných baktérií, KFB – počet koliformných baktérií, STA – počet koagulázo-pozitívnych stafylokokov; \*limit pre surové mlieko predané konzumentovi, - príslušný limit sa neuvádza.

považoval počet psychrotrofných baktérií za dôležitý V našich vzorkách surového mlieka z automatov sa počty

**Tab. 2** Vybrané ukazovatele štatistického hodnotenia mikrobiologickej kvality 15 vzoriek surového mlieka z automatov v Bratislave

Ukazovateľ	CPM	PTB	KFB	<i>E. coli</i>	STA	PrLB	PrLC
	log KTJ.ml <sup>-1</sup>						
Priem. hodnota	4,75	3,70	4,34	3,25	2,46	3,78	3,96
Smer. odchýlka	0,56	0,54	0,42	0,83	0,18	0,55	0,53
Rozptyl	0,31	0,30	0,18	0,68	0,03	0,30	0,28
Interval	1,85	2,02	1,63	3,45	0,73	1,73	1,67
Minimum	4,15	2,40	3,39	1,00	1,93	2,99	3,30
Maximum	6,00	4,41	5,02	4,45	2,66	4,72	4,97
Počet	15	15	15	15	15	15	15

Vysvetlivky: CPM - celkový počet mikroorganizmov, PTB - počet psychrotrofných baktérií, KFB - počet koliformných baktérií, STA - počet koagulázo-pozitívnych stafylokokov; PrLC - predpokladané počty laktokokov); PrLB - predpokladané počty laktobacilov

ukazovateľ. Ak tieto baktérie v čase do spracovania surového mlieka prekročia  $5 \cdot 10^6$  KTJ.ml<sup>-1</sup>, prejavajú sa vysokou koncentráciou extracelulárnych degradačných enzýmov. Valík, Görner a Lauková (2003) stanovili v mlieku pri teplote 5 a 7 °C rastové rýchlosti psychrotrofných baktérií okolo 0,5 log KTJ.ml<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, čo by znamenalo, že horeuvedený limit by nemal byť dosiahnutý ani za 48 h. Týmto by sme mohli nielen potvrdiť dobré kvalitatívne vlastnosti surového mlieka z automatov na ďalšie spracovanie, ale spätne aj doplnkový limit pre psychrotrofné baktérie v surovom mlieku podľa bývalej STN 57 0529.

#### Počet koagulázo-pozitívnych stafylokokov

Počty koagulázo-pozitívnych stafylokokov sú meradlom zvládnutia mastitídnych ochorení dojníc prvovýrobcami, vrátane ich chronických prejavov. Prípadné problémy s týmito ochoreniami je možné potvrdiť vyššími počtami somatických buniek ako 400 000 buniek.ml<sup>-1</sup> (NK č. 853/2004). Tento ukazovateľ sme však nestanovovali. Samotný *S. aureus* sa pri tzv. chladničkových teplotách (5 až 7 °C) nerozmnožuje a pasterizačný záhrev ho devitalizuje. Limitné počty koagulázo-pozitívnych stafylokokov sú uvádzané väčšinou v syroch všeobecne a zvlášť v syroch vyrobených zo surového mlieka. Maximálne prípustné počty *S. aureus*, m = 500 KTJ.ml<sup>-1</sup> a v prípade 2 vzoriek z 5 M = 2000 KTJ.ml<sup>-1</sup> priamo v surovom mlieku prakticky uvádzalo len v minulosti platné Nariadenie Vlády SR č. 312/2003.

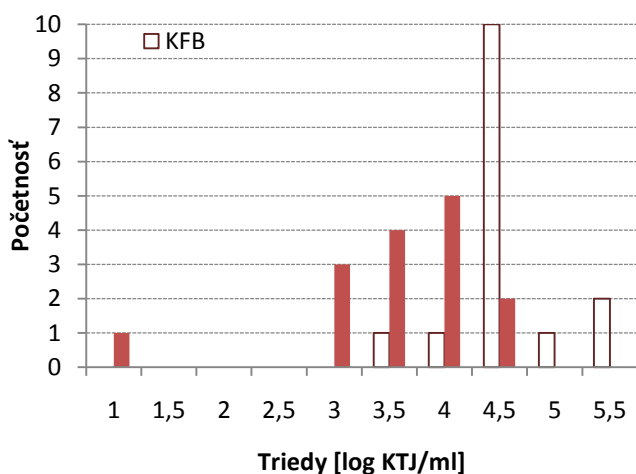
*S. aureus* pohybovali tesne okolo priemernej hodnoty  $10^{2,5}$ KTJ.ml<sup>-1</sup>, t.j.  $2,9 \cdot 10^2$  KTJ.ml<sup>-1</sup> (tab. 2). Prekročenie limitu sme nezaznamenali ani u jednej vzorky.

#### Počet koliformných baktérií a *E. coli*

Vyššie obsahy týchto gramnegatívnych baktérií v surovom mlieku indikujú jeho kontamináciu z prostredia na farme obyčajne znečisteného fekáliami. Tieto baktérie sa potom s mliekom dostávajú do dojacích zariadení a technologickej časti pre primárne ošetrenie a uchovávanie mlieka. Nakoľko sú vo všeobecnosti citlivé voči čistiacim a dezinfekčným prípravkom ako aj zvýšeným teplotám používaných pri sanitačných postupoch, napokon sú aj indikátormi nedostatočného čistenia a dezinfekcie týchto zariadení. Indikátorový a indexový význam týchto baktérií sa v ostatnom čase zvýšil a ich limity sa v potravinách sprísnil. Na jednej strane stanovenie počtu koliformných baktérií zahrňujúcich 4 rody z čeľade *Enterobacteriaceae* boli nahradené všetkými členmi čeľade a na druhej strane aj špecificky priamym stanovením *E. coli*. Podľa týchto kritérií hygieny procesu sa hodnotí väčšina, ak nie prakticky všetky skupiny potravín (NK č. 2073/2005 a NK č. 1441/2007). Pokiaľ by sme ďalej nazreli do argumentácií prečo, museli by sme spomenúť ich priamy indikátorový súvis s najčastejšie sa vyskytujúcimi alimentárnymi ochoreniami, kamylobakteriázami a salmonelózami ako aj s ťažkými hemoragickými a inými infekciami alebo intoxikáciami spôsobenými početnou

skupinou enteropatogénnych *E. coli* (EFSA, 2010; Valík a Prachar, 2009).

Z pohľadu počtov koliformných baktérií a *E. coli* stanovených na chromogénnom médiu Chromocult (Merck, Darmstadt, Nemecko), prieskum mikrobiologickej kvality surového mlieka nedopadol dobre. Na základe diskusie uvedenej na začiatku tejto kapitoly, ako smerodajné vezmeme do úvahy najmiernejšie limity, pre KFB 1 000 KTJ.ml<sup>-1</sup> a pre *E. coli* 100 KTJ.ml<sup>-1</sup> (NZFS, 2010). V oboch prípadoch zistené priemerné počty v surovom mlieku z automatov prekračovali limity zhruba o jeden logaritmickej poriadok, v poradí 4,34 ±0,42 a 3,25 ±0,83 log KTJ.ml<sup>-1</sup> (tab. 2). Z detailnejšej analýzy stanovených počtov znázornenej na Obr. 1 vyplynulo, limit KFB ≤1000 KTJ.ml<sup>-1</sup> nebol splnený ani u jednej vzorky a limit pre *E. coli* splnila len jedna vzorka. Pre porovnanie, Shabani (2003) vykonal prieskum takmer 40 vzoriek surového mlieka v 4 regiónoch Albánsku. Priemerné počty koliformných baktérií stanovených metódou MPN sa v mlieku pohybovali z troch regiónov pohybovali poriadkovo v stovkách KTJ.ml<sup>-1</sup>, v jednom regióne bola zistená priemerná hodnota 1,8.10<sup>3</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup>. Priemerné obsahy *E. coli* sa vo vzorkách mlieka podľa regiónov pohybovali od 20 do 32 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Napriek tomu, že tieto hodnoty boli podstatne nižšie ako naše, autor aj tak vyjadril značnú nespokojnosť s hygienickými podmienkami počas dojenia mlieka a konštatoval fekálne znečistenie surového mlieka. Získané výsledky pritom hodnotil oproti prísnejším limitom, konkrétne pre KFB <100 KTJ.ml<sup>-1</sup> a *E. coli* neprítomnosť v 1 ml.



Obrázok 2 Histogram rozdelenia početností počtov KFB a *E. coli* v 15 vzorkách surového mlieka

Vysoký obsah koliformných baktérií a *E. coli* v mlieku z automatov nie je možné podceňovať. Na základe zistených výsledkov, odporúčame preskúmať oficiálne analýzy kompetentných inštitúcií, vyhodnotiť prípadné riziko a v prvovýrobe vykonať príslušné opatrenia. K uvedenému konštatovaniu nás viedli aj ďalšie argumenty. *E. coli* je indikátorom fekálneho znečistenia surového mlieka zahrňujúcim možnú prítomnosť kampylobakterov a salmonel. Práve pre dostatočný indikátorový význam *E. coli* sa kampylobaktery bežne v potravinách nestanovujú a v mikrobiologickej legislatíve nemajú špecifický limit. Ďalším argumentom pre zvýšenie opatrnosti sú doteraz prebiehajúce propagačné kampane

v prospech priamej konzumácie zmiešaného surového mlieka. Riziko, že časť konzumentov nerespektuje odporúčanie uvedené na každom automate a mlieko z automatov konzumuje bez teplotného opracovania, je pravdepodobne vysoké.

Medzi mikroorganizmy s pravidelným výskytom v surovom mlieku patria salmonely, kampylobaktery, skupina enteropatogénnych *E. coli*, prípadne stafylokoky (*Staphylococcus aureus*). Sporadicky môžu byť prítomné listérie, napríklad *L. monocytogenes*. Niektoré z nich spôsobujú infekcie a na ich vyvolanie postačuje nízka infekčná dávka, niektoré tvoria enterotoxíny, pričom ich prítomnosti musí nevyhnutne predchádzať pomnoženie mikroorganizmu (Valík a Prachar, 2009). V minulosti bolo surové mlieko tiež nosičom mykobaktérií (*M. tuberculosis*), brucel ako aj pôvodcu Q-horúčky *Coxiella burnetii*. Nakoľko *M. tuberculosis* a *C. burnetii* sa považovali za najtermorezistentnejšie vegetatívne (nespórotvorné) patogénne mikroorganizmy, pasterizačné teploty a príslušné trvanie záhrevu sa nastavili tak, aby spoľahlivo devitalizovali tieto infekčné agens (Meunier-Goddik a Sandra, 2003). Povinná šetrná pasterizácia mlieka sa zaviedla po celom svete a v Bratislave dokonca už v r. 1929. Teda skôr, ako v samotnom Československu, v ktorom sa legislatívne zakotvila až v r. 1934 (Kolektív autorov, 1998). Pasterizácia mlieka významne prispela k zabráneniu šírenia tuberkulózy a iných infekčných chorôb prenosných zo zvierat na človeka. Súčasne sa zvýšila bezpečnosť distribúcie mlieka a jeho konzumácia najmä v mestách s vysokou koncentráciou obyvateľstva (Görner a Valík, 2004).

Medzi najčastejšie ochorenia z kontaminovaných potravín v súčasnosti patria kampylobakteriázy vyvolané termofilnými kampylobaktermi (*Campylobacter jejuni* a *C. coli*; EFSA, 2010). V Európskej únii, ako celku, sa darí ich počet znižovať, ale na Slovensku ich počet od r. 2004 vykazuje stúpajúci trend. Napríklad, chorobnosť na kampylobakteriázy bola v EÚ v r. 2008 40,7/100 000 obyvateľov, na Slovensku v r. 2009 činila až 72,2/100 000 obyvateľov (MPŽPRR SR, 2010).

Tieto ochorenia nie sú len doménou hydiny mäsa, ale jeho pôvodcom môže byť aj surové mlieko. Heuvelink et al. (2009) potvrdili skupinové ochorenia kampylobakteriáz zo surového mlieka vo Francúzsku z rokov 2005 a 2007. Dve triedy žiakov navštívili farmu a pili nepasterizované mlieko, pričom polovica z každej ochorela. Na druhej strane z ostatných patogénnych baktérií v bazénových vzorkách surového mlieka bol dokázaný aj výskyt pôvodcu Q-horúčky *C. burnetii* s prevalenciou vyššou ako 94 % (Kim et al., 2005).

#### Počet baktérií mliečného kysnutia

Baktérie mliečného kysnutia sa v analyzovaných vzorkách surového mlieka z automatov pohybovali okolo priemerných počtov 3,8 a 4,0 log KTJ.ml<sup>-1</sup> stanovených na MRS a M17 agare, v poradí. Ich histogramy rozdelenia početností ukázali, že polovica analyzovaných vzoriek vykazovala počty vyššie ako 1,0.10<sup>4</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup>. V prípade predpokladaného počtu laktobacilov stanovených na MRS agare boli tieto počty zaznamenané v 8 z 15 vzoriek a v druhom prípade predpokladaného počtu laktokokov vyššie počty ako 1,0.10<sup>4</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup> vykazovalo 7 vzoriek. Počty baktérií mliečného kysnutia v surovom mlieku

**Tab. 3** Vybrané ukazovatele štatistického hodnotenia mikrobiologickej kvality surového mlieka z automatov (n=15) po 24h inkubácii pri 6 ±1 °C

Ukazovateľ	CPM	KFB	<i>E. coli</i>	STA	PrLB	PrLC
	log KTJ.ml <sup>-1</sup>					
Priem. hodnota	<b>5,80</b>	<b>4,44</b>	<b>3,63</b>	<b>2,43</b>	<b>4,57</b>	<b>4,80</b>
Smer. odchýlka	0,66	0,14	0,64	0,23	0,36	0,50
Rozptyl	<b>0,44</b>	<b>0,30</b>	<b>0,41</b>	<b>0,05</b>	<b>0,13</b>	<b>0,25</b>
Interval	<b>2,75</b>	<b>2,02</b>	<b>2,01</b>	<b>0,82</b>	<b>1,30</b>	<b>1,75</b>
Minimum	4,40	3,27	2,81	1,99	3,78	3,88
Maximum	7,15	5,29	4,82	2,81	5,08	5,62
Počet	15	15	14	13	15	15

Vysvetlivky: CPM - celkový počet mikroorganizmov, PTB - počet psychrotrofných baktérií, KFB - počet koliformných baktérií, STA - počet koagulázo-pozitívnych stafylokokov; PrLC - predpokladané počty laktokokov; PrLB - predpokladané počty laktobacilov

určenom na výrobu syrov stanovovali v ostatnom čase aj **Franciosi et al. (2009)**. Ich priemerné hodnoty predpokladaných počtov laktobacilov (MRS, 30 °C) a laktokokov (M17, 30 °C) odobratých z piatich mliekarní v severnom Taliansku boli vyššie o jeden logaritmickej poriadok, 4,8 a 5,5 log KTJ.ml<sup>-1</sup>, v poradí. Skôr sa približovali k počtom, ktoré sme stanovili v našich vzorkách po 24 h inkubácii pri 6 ±1 °C (4,6 a 4,8 log KTJ.ml<sup>-1</sup>, v poradí; tab. 2).

#### Mikrobiologické ukazovatele po 24 h inkubácii surového mlieka pri 6 °C

Dodávatelia surového mlieka do automatov určili jeho dobu spotreby na 48 h. Okrem iného pre odobranie smotany odporučili uchovať mlieko v chladničke 24 h, potom ju pozberať a prevariť. Takto ošetrovanú smotanu je možné používať na prípravu šľahačky minimálne 7 dní. Vzorky surového mlieka inkubované pri 6 ±1 °C sme preto vyšetrili aj po 24 h. Výsledky sú zosumarizované v Tab. 3. Za predpokladu konštantnej rýchlosti rastu je možné z nárastu počtov jednotlivých skupín mikroorganizmov po 24 h odhadnúť celkom presne aj denzity po 48 h. Ako je vidieť z tab. 3, priemerná hodnota CPM sa po 24 h zvýšila o jeden logaritmickej poriadok na 5,8 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Na základe horeuvedeného predpokladu počty baktérií po 48 h by mali dosiahnuť priemerne 6,8 log KTJ.ml<sup>-1</sup> (6,3.10<sup>6</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup>). Predpokladané počty laktobacilov a laktokokov by z takejto koncentrácie za 48 h mali vytvoriť populáciu s 5,4 až 5,6 log KTJ.ml<sup>-1</sup> (2,5.10<sup>5</sup> a 4,0.10<sup>5</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup>, v poradí). Počty *S. aureus* sa v surovom mlieku pri 6 °C prirodzene nezvýšili, nakoľko jeho minimálna teplota pre rast a rozmnožovanie sa všeobecne pohybuje okolo 8 °C (**Medved'ová et al., 2009**).

Získané výsledky, i keď len na základe 5, resp. 4 mikrobiologických ukazovateľov, poukázali na skutočnosť, že surové mlieko z automatov si do 48 h zachovalo vhodnosť pre ďalšie spracovanie. Treba podotknúť, že súčasťou takéhoto spracovania má byť jeho teplotné opracovanie (prevarenie). Ďalej sa ukázalo, že neuspokojivé výsledky koliformných baktérií a *E. coli* sa po 24 h inkubácii pri 6 °C zvýšili len nepatrne. Na druhej strane však potvrdili predchádzajúce vysoké počty stanovené ihneď po odobratí vzoriek. Z tohto vyplýva, že vysoké počty KFB a *E. coli* boli spôsobené s najväčšou pravdepodobnosťou kontamináciou, vrátane fekálnej a nie

ich rozmnožovaním. Nepriamo túto dedukciu potvrdili aj výsledky **Shabaniho (2003)**, ktorý v porovnaní s našimi výsledkami zistil síce vyššie celkové počty baktérií v surovom mlieku, ale preukázateľne nižší obsah KFB a *E. coli*.

#### ZÁVER

Výsledky mikrobiologického prieskumu surového mlieka z automatov naznačili viaceré skutočnosti, ku ktorým je z hľadiska manažmentu rizika potrebné zaujať stanovisko. Na jednej strane sa ukázalo, že zmiešané mlieko by mohlo byť vhodné na spracovanie v domácnostiach (pre prípravu niektorých mliečnych výrobkov), prirodzene po vhodnom teplotnom opracovaní, ale na strane druhej, ukazovatele indikujúce fekálnu kontamináciu boli v závislosti od diskutovaných limitov významne prekročené. Ich počty pritom neboli zvýšené v dôsledku ich množenia, ale fekálnej kontaminácie. Z prieskumu vyplynulo, že v praxi je potrebné analyzovať surové mlieko z automatov, plošne sa zamerať na indikátory fekálnej kontaminácie, tieto štatisticky vyhodnotiť a prijať príslušné hygienické a sanitčné opatrenia v prvovýrobe. V súčasnosti nepokladáme za podstatné v mlieku dokazovať prítomnosť jednotlivých patogénnych baktérií, predpokladáme, že ak sa nám podarí preventívnymi opatreniami znížiť obsah koliformných baktérií alebo *E. coli* v mlieku, môžeme významne prispieť k minimalizácii rizika z konzumácie mlieka dodávaného automatmi.

#### LITERATÚRA

- BARANYI, J., ROBERTS, T. A., MCCLURE, P., 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 10, 1993, p. 43-59.
- CDFA Press Release on raw Milk. 2008. New Coliform Standard for Milk Sold Raw to Consumers. Sacramento. Dostupné na internete: <[http://www.cdfa.ca.gov/AHFSS/Milk\\_and\\_Dairy\\_Food\\_Safety/pdfs/ColiformStandardMilkConsumedRaw.pdf](http://www.cdfa.ca.gov/AHFSS/Milk_and_Dairy_Food_Safety/pdfs/ColiformStandardMilkConsumedRaw.pdf)>.
- EFSA, 2010. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. European Food Safety Authority, Parma, 1496 p.
- FOOD STANDARDS AUSTRALIA, 2010. Standard 1.6.1 - Microbiological Limits for Food. Dostupné na internete:

<<http://www.foodstandards.gov.au/foodstandards/foodstandardcode/>>.

FRANCIOSI, E., SETTANNI, L., CAVAZZA, A., POZNANSKI, E., 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. In *International Dairy Journal*, vol. 19, no. 1, p. 3-11.

GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívateľov. Bratislava, Malé Centrum, 528 p. ISBN 80-967064-9-7.

HEADRICK, M. L., ANGULO, F. J., POTTER, M. E., 1998. The Epidemiology of Raw Milk-Associated Foodborne Disease Outbreaks Reported in the United States, 1973 Through 1992. In *American Journal of Public Health*, vol. 88, no. 8, 1219-1221 p.

KIM, S. G., KIM, E. H., LAFFERTY, C. J., DUBOVI, E., 2005. *Coxiella burnetii* in Bulk Tank Milk Samples, United States. In *Emerging Infectious Diseases*, vol. 11, no. 4, 2005, p. 619-621.

TOMKA, M., 1998. Historie mlékárenství v Čechách a na Moravě. (D. Broncová, Ed.) Praha: Vydavatelství a nakladatelství Milpo, 236 p.

MEDVEĐOVÁ, A., VALÍK, L., SIROTNÁ, Z., LIPTÁKOVÁ, D., 2009. Growth Characterization of *Staphylococcus aureus* in Milk: a Quantitative Approach. *Czech Journal of Food Science*, vol. 27, 2009, p. 443-453.

MEUNIER-GODDIK, L., SANDRA, S., 2003. Liquid milk products. In H. Roginski, J. W. Fuquay, & P. F. Fox, *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Amsterdam: Academic Press, vol. III, 1627-1650 p.

Ministerstvo pôdohospodárstva, životného prostredia a regionálneho rozvoja SR, 2010. Správa o zoonózach a pôvodcoch zoonóz v Slovenskej republike za rok 2009. Bratislava, 2010, 120 p.

MUIR, D. D., 1996a. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *Journal of the Society of Dairy Technology*, vol. 49, no. 1, p. 24-33.

MUIR, D. D., 1996b. The shelf-life of dairy products: 2. Raw milk and fresh products. *Journal of the Society of Dairy Technology*, vol. 49, no. 2, p. 44-48.

NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 1441/2007 z 5. decembra 2007, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny. In Úradný vestník Európskej únie, L 322, 2007, p. 12-29.

NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 2073/2005 z 15. novembra 2005, o mikrobiologických kritériách pre potraviny. In Úradný vestník Európskej únie, L 338, 2005, p. 1-26.

NARIADENIE VLÁDY SR č. 352 z 19. augusta 2009, ktorým sa ustanovujú hygienické požiadavky na priamy predaj a dodávanie malého množstva prvotných produktov živočíšneho pôvodu, mäsa z hydiny a domácich králikov, voľne žijúcej zveri a zveriny z nej. Zbierka zákonov, 2009, p. 2746-2755.

NARIADENIE VLÁDY SR z 9. júla 2003 o zdravotných požiadavkách na výrobu a uvádzanie na trh surového mlieka, tepelne ošetrovaného mlieka a mliečnych výrobkov. In Zbierka zákonov č. 312/2003, 2003, p. 2406-2440.

NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY, (2010). *Code of Practice: Additional Measures for Raw Milk Products*. Wellington, 46 p.

SHABANI, L., 2003. Microbial pollution of milk by environment as an indicator of its contamination rate. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, vol. 4, no. 2, p. 401-405.

SØRHAUG, T., & STEPANIAK, L., 1997. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 8, no. 2, p. 35-41.

STN 57 0529 Surové kravské mlieko na mliekarenské ošetrovanie a spracovanie. Úrad pre normamizáciu, metrologiu a skúšobníctvo SR, 1993. Bratislava, 8 p.

VALÍK, L., PRACHAR, V., 2009. *Pôvodcovia ochorení z požívateľov a minimalizácia ich rizika*. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 167 p. ISBN 978-80-227-3200-0.

VALÍK, L., GÖRNER, F., LAUKOVÁ, D., 2003. Growth Dynamics of *Bacillus cereus* and Shelf-life of Pasteurised Milk. In *Czech Journal of Food Science*, vol. 21, no. 6, p. 195-202.

### Acknowledgments:

This work was supported by grant MŠ SR VEGA no. 1/0094/10.

### Contact address:

Lubomír Valík, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: lubomir.valik@stuba.sk.

Alžbeta Medveďová, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: alzbeta.medvedova@stuba.sk.

Lucia Bírošová, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: lucia.birosova@stuba.sk.

Denisa Liptáková, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: denisa.laukova@stuba.sk.

Ladislav Ondruš, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: ondrus.ladislav@gmail.com.

Ján Šnelcer, Department of Nutrition and Food Safety, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, Email: 28509@is.stuba.sk.

**EXAMINATION OF FACTORS INFLUENCING THE VARIABILITY OF YEAST AMOUNT IN THE CONTEXT OF PH CHANGES IN BOTTLED WINES***Lucia Zeleňáková, Eva Matejková, Lubomír Lopašovský, Dagmar Kozelová, Ladislav Mura***ABSTRACT**

The aim of this paper was to examine factors (manufacturer, temperature and storage time) influencing the variability of yeast amount and pH changes in bottled white wines. It was confirmed that wine originating from the business network was better quality in contrast to domestic wine. We have assumed that domestic wine was contaminated during the manufacturing process, while the most probable reason was imperfect filtration of wine, or its contamination during the bottling. The results showed that the way of storage wine in the room, resp. cooler temperature did not significant effect on changes in the amount of yeast ( $p$ -value=0.2080). Regarding the period of storage of wine, the conclusions are identical to the previous factor, ie. storage time not significantly impacted amount of yeast in wine ( $p$ -value=0.5507).

**Keywords:** wine, microbiological quality, yeast, condition of storage

---

**ÚVOD**

Posledných 20 rokov sú zdravotné účinky primeranej konzumácie vína diskutované širokou odbornou, ale i laickou verejnosťou. Pitie vína má mnoho pozitívnych vplyvov na zdravie ľudskej populácie a víno sa stáva súčasťou zdravého životného štýlu (Slezák, 2007). Priaznivé účinky vína na ľudský organizmus sú známe už z obdobia 4000 rokov pred n.l.. Možno ich zhrnúť do troch oblastí – antisklerotický (Vojteková, 2006), antioxidantný a antikarcinogénny efekt (Chlebo, 2009). Víno patrí k obľúbeným nápojom spotrebiteľov, o čom svedčí aj skutočnosť, že spotreba vína na obyvateľa v SR v roku 2009 vzrástla oproti predchádzajúcemu roku o 1,3 litra na 12,7 litra. Produkcia hrozna a vinohradníctvo majú na Slovensku dlhoročnú tradíciu. Vinohrady sa nachádzajú v 6 vinohradníckych oblastiach: Malokarpatská vinohradnícka oblasť, Južnoslovenská, Nitrianska, Stredoslovenská, Východoslovenská a Tokajská vinohradnícka oblasť a celkovo predstavujú plochu 19634 ha. V sektore spracovania hrozna momentálne prebieha reštrukturalizácia s cieľom zvýšiť kvalitu vinohradníckej produkcie a konkurencieschopnosť domácej produkcie na medzinárodných trhoch Šajbidorová (2010). Spotreba vína za ostatné obdobie výrazne stúpila, pričom sa zvýšili aj nároky konzumentov na jeho kvalitu. Víno musí pôsobiť harmonicky a malo by vykazovať znaky špecifické pre danú odrodu (Sedlo et al., 2004). Aby sa dosiahli požadované kvalitatívne vlastnosti vína, musia sa dodržať predovšetkým správne technologické postupy výroby a musí sa zamedziť možnému vzniku kontaminácií počas celého výrobného procesu, ako aj počas doby jeho uchovávaní (Hronský, 2006). Kontaminácie vo víne vznikajú počas celého technologického procesu a sú zapríčinené mikroflórou hrozna, muštu a vína. Už samotné hrozno obsahuje veľmi mnoho mikroorganizmov, pričom zdravé hrozno obsahuje prevažne kultúrne kvasinky, nahnité alebo poškodené hrozno obsahuje viac octových

a iných baktérií. Čím je hrozno viac kontaminované, tým rýchlejšie sa šíri kontaminácia do prostredia, aj na samotné víno. Hygiena a sanitácia sú úzko späté s ochranou vína proti nežiaducim mikroorganizmom. Prvá fáza sanitácie začína už pri spracovaní hrozna, kde sa dbá najmä na každodenné čistenie lisovacích a skladovacích zariadení. Počas kvasného procesu a dokvášania býva ovzdušie a zariadenie kontaminované prevažne kultúrnymi kvasinkami (Fugelsang et al., 2007). Z vinársko-technologického hľadiska patria kvasinky medzi najdôležitejšie mikroorganizmy. K najvýznamnejším technologickým vlastnostiam vínnych kvasiniek patria: kvasná aktivita a schopnosť produkovať alkohol, rezistencia voči alkoholu kyseliny siričitej, neschopnosť kmeňa produkovať a kumulovať sulfit a sulfid, glukofília, schopnosť degradovať kyselinu L-mliečnu (Vajcziková, Breierová, 2003). Vilela-Moura et al. (2010) analyzovali fermentačnú výkonnosť kvasiniek a dopad kyseliny octovej na túto výkonnosť. Uvádzajú, že kyselina octová je hlavnou zložkou prchavých kyselín hroznového muštu a vína. Tá sa môže tvoriť ako vedľajší produkt alkoholového kvasenia alebo ako produkt metabolizmu kyseliny octovej a baktérií kyseliny mliečnej, ktoré môžu metabolizovať zvyškový cukor s cieľom zvýšiť obsah prchavých kyselín. Zistili, že kyselina octová má negatívny dopad na fermentačnú výkonnosť kvasiniek a vplyva na kvalitu niektorých druhov vín. Popisujú tiež zloženie kvasenia zvýhodňujúce tvorbu kyseliny octovej, ako aj metabolické cesty vedúce k jej vzniku a degradácii kvasiniek. Výrobu vína v procese fermentácie a úlohu kvasiniek analyzovali tiež Tofalo et al. (2010) a Lejková et al. (2011).

Cieľom príspevku bolo sledovať a zhodnotiť kvalitu fľašovaných bielych vín pochádzajúcich od troch rôznych výrobcov z hľadiska zmien pH, ako aj obsahu kvasiniek počas skladovania vín v rôznych podmienkach.

**MATERIÁL A METODIKA**

V zmysle stanoveného cieľa sme počas 4 mesiacov odoberali a následne analyzovali vzorky vín (biele, suché, rizling vlašský), ktoré pochádzali od 3 rôznych výrobcov.

Fľašované vína od prvého a tretieho výrobcu sme odoberali z domácej výroby a víno od druhého výrobcu z obchodného reťazca (po 10 fliaš od každého z nich).

Laboratórne analýzy sme vykonali v deň otvorenia fľaše, následne po 7, 14, 21 a 28 dňoch uchovávania v chladničke pri teplote 6°C a pri izbovej teplote 22°C. Kvalitu vín sme počas sledovanej doby hodnotili z hľadiska zmien pH a obsahu kvasiniek. Všetky mikrobiologické vyšetrenia sme uskutočnili na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre, pričom sme za sledované obdobie zanalyzovali spolu 150 vzoriek.

Mikrobiologickým analýzám predchádzalo stanovenie pH vín, ktoré sme merali pH metrom po naliatí vzoriek do pripravených erlenmayerových baniek. Mikrobiologické stanovenia sme uskutočnili zriedňovacou platňovou metódou. Z jednotlivých fliaš skúmaných druhov vín sme za aseptických podmienok odobrali po 1 ml vzorky (riedenie  $10^0$ ), ktorú sme sterilne napipetovali súbežne do troch Petriho misiek. Následne sme pripravili sadu ďalších desiatkových riedení ( $10^{-1}$  až  $10^{-6}$ ), z ktorých sme taktiež odobrali po 1 ml vzorky a následne inokulovali do pripravených Petriho misiek. Premiešanie vzoriek v procese riedenia sme robili 10-násobným nasatím a vyprázdnením pipety.

Vzorky pripravené v Petriho miskách sme po zaliatí živnou pôdou ihneď zatvorili viečkom, dokonale premiešali jemným krúživým pohybom a nechali stuhnúť na chladnej vodorovnej ploche. Po úplnom stuhnutí média sme Petriho misky inkubovali v termostate obrátené hore dnom pri teplote 25 °C počas 5 dní. Narastené kolónie sme na 3, 4 a 5-ty deň počítali na odčítavacom zariadení oproti svetelnému zdroju za pomoci lupy a ich počty sme následne prepočítali na konečné hodnoty. Na určenie počtu kolónií mikroorganizmov sme použili Petriho misky, ktoré obsahovali menej ako 150 kolónií.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvalitu vína podmieňuje súhrn mnohých faktorov. V prvom rade je to chuť, farba a čistota vína. Osobitným, ale najmä pôsobivým faktorom, je iskrivá čistota vín, ktorú konzument vyžaduje. Výrobcom vína vie odpustiť malé nedostatky v chuti a vo vône, ale aj najkvalitnejšie víno, ktoré má len jemný závoj alebo veľmi malý sediment, odmieta konzumovať a reklamuje kúpený výrobok. Tieto okolnosti sú hnacou silou nielen vo vývoji nových technologických metód, stabilizačných, filtračných, ale najmä mikrobiologických a hygienických prostriedkov. Vývoj nových prostriedkov a získané poznatky vo výskume sú v súčasnosti základom na udržiavanie optimálnej kvality a stability vín, vrátane tých fľašovaných, pri ich viacročnom uskladnení.

V zmysle uvedeného sme v rámci analýzy dosiahnutých výsledkov zisťovali vplyv vybraných faktorov (výrobca, teplota a dĺžka skladovania vína) na zmeny pH, ako aj na obsah kvasiniek vo fľašovaných vínach.

1. Výrobca – vína pochádzajúce z obchodnej siete (výrobca 2) a vína pochádzajúce z domácej výroby (výrobca 1 a 3).
2. Teplota uskladnenia – vína uchovávané pri izbovej teplote 22 °C a v chladničke 6 °C.
3. Doba uskladnenia – vína uchovávané počas 28 dní, pričom sme analýzy uskutočnili v piatich časových odstupoch, ktoré sú označované ako spôsob 1 (po otvorení fľaše), 2 (po 7 dňoch), 3 (po 14 dňoch), 4 (po 21 dňoch), 5 (po 28 dňoch).

Stanovenie počtu kvasiniek a vláknitých mikroskopických húb v potravinách a živočíšnych krmivách v súčasnosti upravujú medzinárodné normy ISO 21527 – 1 a ISO 21527 – 2, podľa ktorých postupujú aj akreditované laboratória. V zmysle uvedených noriem sa v závislosti od vodnej aktivity využívajú na stanovenie kvasiniek a vláknitých mikroskopických húb živné pôdy DRBC (vodná aktivita väčšia ako 0,95) a DG 18 (vodná aktivita menšia alebo rovná 0,95). V našich pokusoch sme na kultiváciu uvedených mikroorganizmov použili živnú pôdu GKCH, ktorú predpisuje STN ISO 7954 a ktorá sa stále využíva v potravinárskej praxi na rutinnú diagnostiku.

Dosiahnuté výsledky sme štatisticky spracovali nasledovnými metódami:

- Jednofaktorová ANOVA, pričom rozdiely medzi úrovňami faktora sme posudzovali na základe Scheffého testu.
- Podmienky homogenity rozptylov sme overovali na základe Leveneho testu.
- V prípade nespĺnenia podmienky homogenity sme použili neparametrickú obdobu ANOVY – Kruskal-Wallisov test.
- Index korelácie, ktorým sme posudzovali existenciu závislosti medzi obsahom kvasiniek vo víne a hodnotou pH vína.
- V aplikovaných analýzach sme použili štatistický softvér Statgraphics.

### Hodnotenie kvality vína z hľadiska obsahu kvasiniek

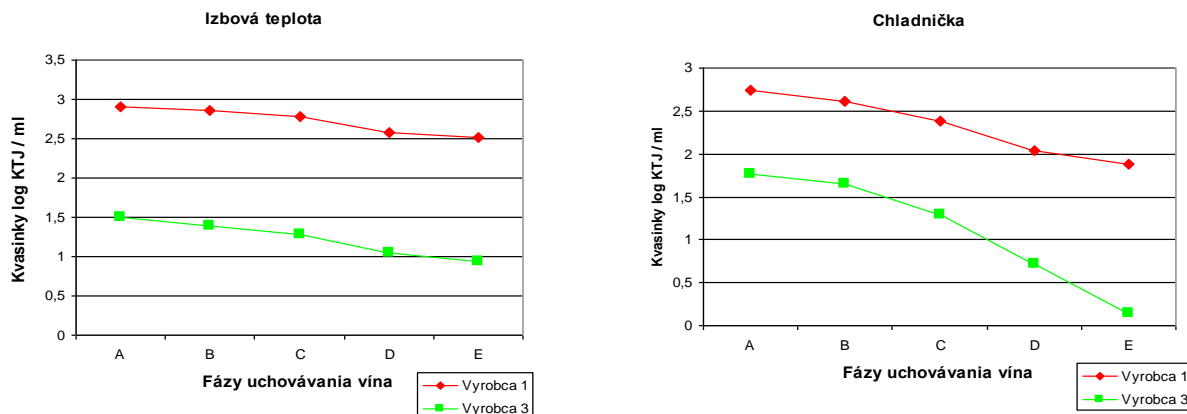
Zmeny vo víne sú najčastejšie spôsobené prítomnosťou baktérií (mliečne, octové) a kvasinkových mikroorganizmov. Práve tie spôsobujú dodatočné kvasenie (refermentáciu) vín so zvyškom cukru a birzu. Všetky druhy kvasiniek a kvasinkových mikroorganizmov treba považovať za potenciálnych pôvodcov ochorenia a znehodnotenia sudových a fľaškových vín. I keď vývin octových baktérií vo víne je zriedkavejší, patria tieto mikroorganizmy k najnebezpečnejším nepriateľom zdravotného stavu vína.

Potravinový kódex SR uvádza, že počet kvasiniek v 1 ml vína hroznového, ovocného dezertného a nápojov s obsahom etanolu menej ako 20 objemových %, okrem burčiaku nesmie byť vyšší ako  $2 \cdot 10^2$  KTJ. Z našich analýz vyplynulo, že uvedeným požiadavkám nevyhovovalo 6 vzoriek prvého výrobcu a 3 vzorky tretieho výrobcu. Predpokladáme, že uvedené vína museli byť kontaminované už počas výrobného procesu, pričom najpravdepodobnejšou príčinou bola nedokonalá filtrácia vína, prípadne jeho kontaminácia počas plnenia do fliaš. Z výsledkov zároveň vyplynulo, že mikrobiologicky najkvalitnejšie bolo víno pochádzajúce z obchodnej siete (výrobca 2). Možno konštatovať, že z hľadiska kvality a bezpečnosti treba výrobe vín v domácich podmienkach venovať zvýšenú pozornosť.

V ďalšej fáze hodnotenia dosiahnutých výsledkov sme skúmali variabilitu obsahu kvasiniek vplyvom rôznych podmienok uskladnenia vína (Obr. 1). Dospeli sme k

záverom, že vo víne prvého výrobcu (domáca výroba) bol priemerný počet kvasiniek po otvorení fľaše 2,90, resp. 2,74 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Po 7 dňoch uchovávania fliaš pri izbovej teplote, resp. chladničke sa počty kvasiniek znížili na úroveň 2,86, resp. 2,61 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Pokles počtu kvasiniek sme pozorovali počas celej sledovanej doby, pričom na 28 deň, kedy bola uskutočnená posledná analýza, sa počet kvasiniek znížil na hodnotu 2,52, resp. 1,88 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Víno pochádzajúce od tretieho výrobcu (z domácej výroby) malo tiež zvýšené vstupné hodnoty kvasiniek, ktoré sa pri prvom otvorení fľaše pohybovali v rozmedzí 1,50, resp. 1,76 log KTJ.ml<sup>-1</sup>.

Ich počet klesal podobne ako v predchádzajúcom prípade, pričom na 28 deň sme vo víne uskladnenom pri izbovej teplote detegovali 0,96 log KTJ.ml<sup>-1</sup> a vo víne, ktoré bolo uchovávané v chladničke 0,20 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Vo víne odoberanom z obchodnej siete sme nezistili žiadne kvasinky počas celej doby uskladnenia vína, či už pri izbovej alebo chladničkej teplote.



Obrázok 1 Zmeny počtu kvasiniek vo vínach v závislosti od podmienok uchovávania vína

Možno konštatovať, že mierny pokles kvasiniek v závislosti od doby uchovávania vína bol pravdepodobne spôsobený buď zvyškovým cukrom, ktorý mikroorganizmy využívali ako zdroj energie a neskôr odumierali, alebo rozmnožením octových baktérií. Mikroorganizmy adaptované v prostredí, kde je zvyškový cukor, sú schopné sa množiť aj pri nižších teplotách, ale ich počet je o polovicu nižší ako pri teplotách vyšších. Mikrobiologické zmeny vo vínach boli zároveň sprevádzané senzorickými zmenami. Skladovaním vína v otvorených fľašiach dochádzalo k znižovaniu jeho kvality v zmysle výraznej zmeny vône a vzhľadu (octový zápach a zlomenie farby). Je preto vhodné „načaté“ víno čo najskôr vypiť, resp. opätovne uzatvoriť a skladovať v chlade.

Pri skúmaní obsahu kvasiniek vo víne bol štatisticky vysoko preukazný vplyv výrobcu, t.j. boli potvrdené rozdiely v obsahu kvasiniek vo víne medzi jednotlivými výrobcami. Výberový súbor výrobcu 1 sa vyznačoval značnou heterogenitou, čo potvrdil aj Leveneho test pri overovaní podmienky použitia parametrickej ANOVY (p-hodnota Leveneho testu=0,0000278696). Vzhľadom na uvedenú skutočnosť sme testovali existenciu rozdielov pomocou neparametrického Kruskal-Wallisovho testu, ktorý potvrdil existenciu rozdielov (p-hodnota = 0,0). Pri zisťovaní existencie rozdielov medzi výrobcami boli vytvorené dve homogénne skupiny. Nižšie priemerné hodnoty kvasiniek sa nachádzali vo víne výrobcov 2 a 3, ktorí spolu tvorili spoločnú homogénnu skupinu. Oveľa vyšší priemerný obsah kvasiniek bol nameraný vo víne výrobcu 1 (tabuľka 1).



Obrázok 2 Narastené kolónie kvasiniek po prvom otvorení vínovej fľaše

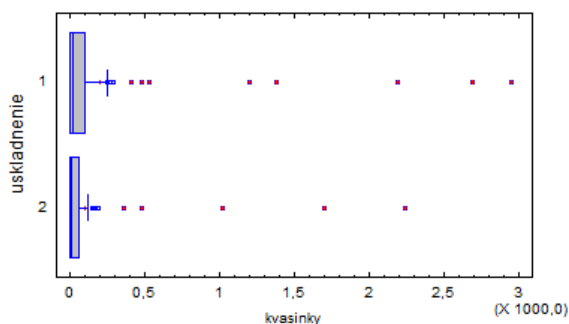
Tabuľka 1 Overovanie rozdielov medzi úrovňami faktora „výrobca“ pomocou Scheffeho testu

Výrobca	Počet vzoriek	Priemer	Homogénne skupiny
2	50	0,0	X
3	50	22,56	X
1	50	421,88	X

Pri posudzovaní vplyvu druhého faktora – teplota uskladnenia vína – nebol potvrdený štatisticky významný vplyv daného faktora, t.j. nemôžeme zamietnuť hypotézu o neexistencii rozdielov medzi uskladnením vína pri izbovej teplote a uskladnením vína v chladničke (p-hodnota = 0,2080). Vychádzajúc z obrázku 3 sa zdá, že aj v tomto prípade sa výberové súbory javili ako

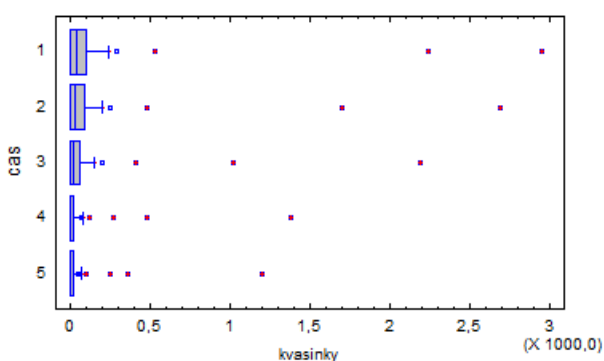


heterogénne. Leveneho test však nevyvrátil podmienku o homogenite súborov ( $p$ -hodnota = 0,208113).



**Obrázok 3** Prezentovanie faktora „teplota uskladnenia“ pomocou krabicových grafov

Podľa Pavlouška (2006) najpriaznivejšia skladovacia teplota pre biele vína je 10 až 12 °C a pre červené vína 12 až 14 °C. Ak vínu nemožno zabezpečiť túto teplotu, musí sa počítať s tým, že proces jeho zrenia a starnutia plynie v takom prípade rýchlejšie ako normálne. Dôležité je, aby teplota bola stála a nekolísala. V chladných podmienkach víno dlho dokvasuje, pomaly sa čirí a dozrieva. V červených vínach dochádza k zrážaniu farbív. V príliš vlhkých pivniciach môže dôjsť k rozvoju nežiaducich baktérií a vláknitých mikroskopických húb. Relatívna vlhkosť pivnice má byť 70 až 80 %. Pri uskladňovaní vín nepriaznivo pôsobia vyššie teploty, kedy sa víno viac vyparuje, rýchlejšie dozrieva a starne. Pri vyšších teplotách sa mobilizuje činnosť nežiaducich mikroorganizmov (octové, mliečne baktérie) podstatne zhoršujúcich kvalitu vína a spôsobujúcich rôzne „ochorenia“ (octovanie, birzovatenie, vláčkovenie, manitové a mliečne kvasenie, maslové kvasenie, horknutie, zvrhnutie, myšina) a „chyby“ vín (sírovodík vo víne, hnednutie vína, príchuf po kvasniciach, kove, vláknitých mikroskopických hubách a korku).



**Obrázok 4** Prezentovanie faktora „doba uskladnenia“ pomocou krabicových grafov

**Legenda:** čas: 1 – hneď po otvorení, 2 – po 7 dňoch, 3 – po 14 dňoch, 4 – po 21 dňoch, 5 – po 28 dňoch.

Pokiaľ ide o dobu uskladnenia vína (obrázok 4), závery sú identické s predchádzajúcim faktorom, tzn. aj doba uskladnenia štatisticky nevýznamne vplývala na obsah kvasiniek vo víne ( $p$ -hodnota = 0,5507). Fľaše sa odporúča skladovať na ležato v priestoroch s celoročne stabilnou

teplotou a vlhkosťou. Korkové zátky na ležato uskladnených fľašiach nevysychajú, udržiavajú si pružnosť a zabráňujú styku vína s kyslíkom a tým ho chránia pred znehodnotením. Niektorí odborníci dokonca tvrdia, že hneď po kvalite vína je druhým najdôležitejším faktorom kvalita korkovej zátky (Dörr et al., 1999).

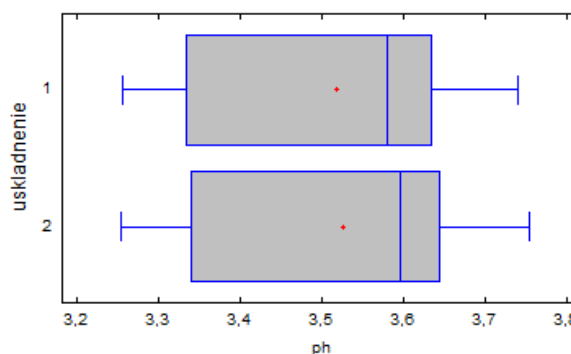
**Hodnotenie kvality vína z hľadiska pH vína**

Pri hodnotení pH vína sme za každých podmienok robili 3 nezávislé merania. Z nich sme vypočítali priemerné hodnoty, na základe ktorých boli realizované analýzy. Z hľadiska faktora „výrobca“ boli potvrdené štatisticky vysoko preukazné rozdiely medzi skúmanými výrobcami ( $p$ -hodnota = 0,000). Z tohto dôvodu sme pomocou Scheffeho testu overovali existenciu rozdielov medzi jednotlivými výrobcami. Na základe Scheffeho testu boli vytvorené tri homogénne skupiny (tabuľka 2). Každý výrobca tvoril samostatnú skupinu, z čoho vyplýva, že na hladine významnosti 0,05 existovali rozdiely medzi uvažovanými tromi výrobcami. Najvyššie pH po prvom otvorení vína bolo namerané vo víne výrobcu 1 (3,62), za ním nasledoval výrobca 3 (3,56) a najnižšie pH dosahovali vína výrobcu 2 (3,27).

**Tabuľka 2** Overovanie rozdielov medzi úrovňami faktora „výrobca“ pomocou Scheffeho testu

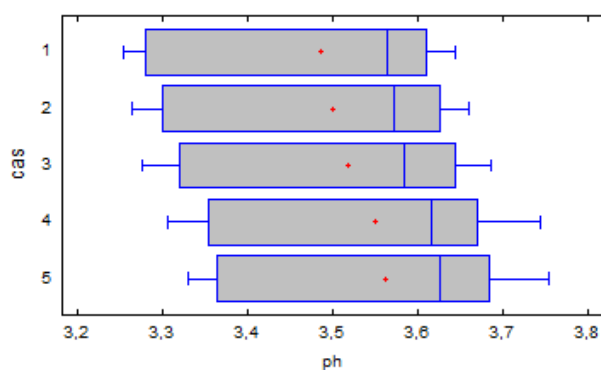
Výrobca	Počet vzoriek	Priemer	Homogénne skupiny
2	50	3,31027	X
3	50	3,59507	X
1	50	3,6624	X

Druhým faktorom, na základe ktorého sme posudzovali pH vín, boli podmienky uskladnenia. Vychádzajúc z výsledkov ANOVY ( $p$ -hodnota = 0,7480) môžeme konštatovať, že neboli potvrdené rozdiely v hodnotách pH medzi uskladnením vína pri izbovej teplote a pri uskladnení v chladničke (obrázok 5).



**Obrázok 5** Prezentovanie faktora „teplota uskladnenia“ pomocou krabicových grafov

V prípade tretieho faktora – doba uskladnenia – nebola  $H_0$  hypotéza o neexistencii rozdielov v hodnotách pH vína medzi 5 úrovňami faktora vyvrátená ( $p$ -hodnota = 0,2725). Môžeme teda konštatovať, že doba uskladnenia vína štatisticky významne nevplývala na hodnoty pH vo víne, čo dokumentuje aj obrázok 6.



Legenda: čas: 1 – hneď po otvorení, 2 – po 7 dňoch, 3 – po 14 dňoch, 4 – po 21 dňoch, 5 – po 28 dňoch.

**Obrázok 6** Prezentovanie faktora „doba uskladnenia“ pomocou krabicových grafov

### Analýza závislosti medzi hodnotami pH a obsahom kvasiniek vo víne

V ďalšej časti analýz sme overovali existenciu závislosti medzi skúmanými premennými. Závislosť bola posudzovaná na základe indexov korelácie (tabuľka 3), ktoré boli odhadované na základe exponenciálnej, resp. polynomickej závislosti. V danej tabuľke sa nachádzajú hodnoty indexov korelácie v členení podľa podmienok uchovávania, ako aj podľa doby skladovania. Výpočty sme robili spoločne pre výrobcu 1 a 3, pretože nebol zjavný rozdiel medzi nimi.

### ZÁVER

Jednou z najdôležitejších požiadaviek na kvalitu vína je jeho zdravotná bezpečnosť. Z vinársko-technologického hľadiska je mikrobiologická kvalita vína podmienená výsledkom vzájomného pôsobenia kvasiniek, vláknitých mikroskopických húb a baktérií. Negatívne mikrobiálne vplyvy možno eliminovať najmä dodržiavaním hygienických a technologických podmienok, pričom máme na mysli dostatočnú úpravu a ošetrovanie muštu pred kvasením, správne kvasenie, dokonalú stabilizáciu, filtráciu, fľašovanie a uskladnenie fľašovaných vín.

Cieľom analýz bolo skúmať vplyv vybraných faktorov (výrobca, teplota a dĺžka skladovania vína) na zmeny pH, ako aj na obsah kvasiniek vo fľašovaných vínach. Požiadavkám PK SR, ktorý stanovuje maximálne počty kvasiniek vo víne, nevyhovovalo 6 vzoriek prvého výrobcu a 3 vzorky tretieho výrobcu. Predpokladáme, že najpravdepodobnejšou príčinou kontaminácie bola nedokonalá filtrácia vína, prípadne jeho kontaminácia

### LITERATÚRA

- FUGELANG, K. C., EDWARDS, CH. G. 2007. *Wine microbiology*. New York : SPRINGER, 2007. 393 p.
- DÖRR, G., RÖDER, K., JOHN, F. 1999. *Čo nevíete o víne*. Bratislava: Ikar, 1999. 166 p.
- HRONSKÝ, Š. 2006. *Vinárstvo*. SPU: Nitra, 2006. 128 s. ISBN 80-8069-774-4.

Ako vyplýva z tabuľky 3, vyššie závislosti medzi pH a obsahom kvasiniek vo víne sa dosahovali pri izbovej teplote.

Zároveň možno konštatovať, že pri uskladnení vína v chladničke sa závislosť medzi pH a kvasinkami zvyšovala dlhšou dobou uskladnenia.

**Tabuľka 3** Indexy korelácie: pH – kvasinky v závislosti od doby uchovávania vína

Podmienky uchovávania	Doba skladovania (dni)				
	1 (0)	2 (7)	3 (14)	4 (21)	5 (28)
izbová teplota	0,94	0,91	0,86	0,96	0,96
chladnička	0,78	0,77	0,78	0,85	0,81

Ako vyplynulo z našich výsledkov, kvalitu a bezpečnosť vína ovplyvňuje celý rad faktorov. Problémy s kontamináciou vína môžu nastať v celom výrobnom procese. Častými zdrojmi kontaminácií v záverečnej fáze výroby vína býva proces filtrácie, plnenia a zatvárania fľaš. Cieľom filtrácie je dosiahnuť iskriú čírosť vína a zároveň neporušiť senzorické vlastnosti vína. Stálosť vína po filtrácii závisí od jeho vyzretia, chemického zloženia, spôsobu čírenia a vlastnej filtrácie. Filtrácia je zároveň poslednou manipuláciou pred fľašovaním vína. Častým zdrojom kontaminácie býva strojno-technologické zariadenie plniacej linky, či personál pracujúci na tejto linke. Medzi časté zdroje kvasinkových kontaminácií vín patria mechanické defekty na umývačke alebo sterilizátore fľaš, zátkovačka, plnička, prípadne nedostatočné opálenie ústia hrdla fľaše (Hronský, 2006).

počas plnenia do fľaš. Mikrobiologicky najkvalitnejšie bolo víno pochádzajúce z obchodnej siete (výrobca 2). Štatistickými analýzami sme zároveň zistili, že teplota uskladnenia nemala štatisticky významný vplyv na obsah kvasiniek vo víne (p-hodnota = 0,2080). Pokiaľ ide o dobu uskladnenia vína, závery sú identické s predchádzajúcim faktorom, tzn. aj doba uskladnenia štatisticky nevýznamne vplývala na obsah kvasiniek vo víne (p-hodnota = 0,5507).

Pre základ moderného vinárstva sú nevyhnutné teoretické i praktické poznatky z oblasti chémie a mikrobiológie vína, rozšírené a doplnené poznatky z chémie muštu a vína, z fyziológie alkoholového a jablčno-mliečného kvasenia, z problematiky stabilizácie, filtrácie a kontroly vína, ako aj oblasti biochémie najdôležitejších mikroorganizmov vína. Domnievame sa, že poznatky i výsledky, ktoré prezentujeme v tejto práci, zohľadňujú súčasný stav i perspektívy vinárskej vedy, výskumu a praxe.

- CHLEBO, R. 2009. Víno a antioxidanty. In KERESTEŠ, J. et al. 2009. *Biotechnológia, výživa a zdravie*. Považská Bystrica : Uniprint s.r.o., 2009. 347 p. ISBN 978-80-970205-9-0.

- LEJKOVÁ, L., JAVOREKOVÁ, S., KAČÁNIOVÁ, M., NOVÁKOVÁ, I., SELÉŠIOVÁ, Z., MAKOVÁ, J. 2011. Characteristic of microbiological community during fermentation of stum. In *Potravinárstvo*, special issue February 2011, p. 145 – 150. ISSN 1337-0960.

PAVLOUŠEK, P. 2006. *Výroba vína u malovinářů*. Praha: Grada Publishing a.s., 2006, 100 p.

SEDLO J., ŠEVČÍK J., LUDVÍKOVÁ I. 2004. *Přehled odrůd révy 2004*. 1st ed. Velké Bílovice : Svaz vinařů České republiky. ISBN 80-9035-343-6.

SLEZÁK, F. 2007. *Zachovanie antioxidačných prvkov vo vínach z Malokarpatskej oblasti* : výskumná správa. Modra : Biocentrum Modra a VÚP Bratislava, 2007. 19 p.

ŠAJBIDOROVÁ, V. 2010. *Vinič hroznorodý, hroznové víno*. Situačná a výhľadová správa k 31.7.2010. Bratislava : VÚEPP, 2010. 20 p. ISBN 978-80-8058-544-0.

TOFALO, R., SCHIRONE, M., TELERA, G. C., MANETTA, A. CH., CORSETTI, A., SUZZI, G. 2010. Influence of organic viticulture on non-*Saccharomyces* wine yeast populations In *Annals of Microbiology*, vol. 61, 2011. no. 1.

### Acknowledgments:

This work was supported by grant project KEGA 237-011SPU-4/2010.

### Contact address:

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

Ing. Eva Matejková, PhD. Department of Statistics and Operation Research, Faculty of Economics and Management, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic, E-mail: Eva.Matejkova@fem.uniag.sk

VAJCZIKOVÁ, I., BREIEROVÁ, E. 2003. Identifikácia a druhové zastúpenie kvasiniek pri fermentácii hroznového muštu. In *Nova Biotechnologica*, vol. 2, 2003, no. 3, p. 139 – 144. ISBN 80–89034–53–5.

VILELA-MOURA, A., SCHULLER, D., MENDES-FAIA, A., SILVA, R. D., CHAVES S. R., SOUSA M. J., CÔRTE-REAL, M. 2010. The impact of acetate metabolism on yeast fermentative performance and wine quality: reduction of volatile acidity of grape musts and wines. In *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 89, 2010, no. 2.

VOJTEKOVÁ, G. 2006. Prospešnosť vína pre zdravie ľudí. In *Výživa a zdravie*, 50, 2006, p. 20–21. ISSN 0042-9406.

MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD. Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agricultural in Nitra, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. Slovak Republic, E-mail: Lubomir.Lopasovsky@uniag.sk

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

Ing. Ladislav Mura, PhD. Department of Specialised Subjects, Dubnica Institute of Technology, Sládkovičova 533/20, 018 41 Dubnica nad Váhom. Slovak Republic, E-mail: ladislav.mura@gmail.com

**H A C C P**  

---

**C O N S U L T I N G**  

---

**PODPORUJEME VEDU A VÝSKUM**

[www.haccp.szm.sk](http://www.haccp.szm.sk)



**KATEDRA HYGIENY  
A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN**

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

<b>Predmet</b>	<b>Gestor</b>	<b>Vyučujúci</b>
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.



# Školenia pre potravínárske 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](http://www.haccp.szm.sk)**

<b>OPTIMALISATION OF SPECIES IDENTIFICATION OF COMMON CARP (<i>CYPRINUS CARPIO</i>) USING SYBR® GREEN I REAL-TIME PCR METHOD</b>	
<i>Pavol Bajzík, Radoslav Židek, Jozef Golian, Ľubomír Belej, Jozef Čapla, Lenka Maršáľková, Ondrej Revák</i> .....	1-5
<b>VÝŤAŽNOSŤ DNA V TEPELNE UPRAVOVANOM JELENOM MÄSE THE YIELD OF DNA IN THERMAL TREATED DEER MEAT</b>	
<i>Ľubomír Belej, Miroslava Barnová, Lenka Maršáľková, Jozef Golian</i> .....	6-10
<b>MORPHOLOGICAL AND ORGANOLEPTIC FRUIT PROPERTIES OF VARIOUS PERSIMMON SPECIES (<i>DIOSPYROS SPP.</i>)</b>	
<i>Oľga Grygorieva, Ján Brindza, Vladimír Vietoris, Lucia Kucelová, Dezider Tóth, Vlasta Abraham, Miroslava Hricová</i> .....	11-19
<b>ORGANIC PRODUCTS, CONSUMER BEHAVIOR ON MARKET AND EUROPEAN ORGANIC PRODUCT MARKET SITUATION</b>	
<i>Dagmar Kozelová, Ladislav Mura, Eva Matejková, Ľubomír Lopašovský, Vladimír Vietoris, Andrea Mendelová, Magdaléna Bezáková, Marcela Chreneková</i> .....	20-26
<b>NUTRITIONAL STATUS OF SUBJECTS WITH DOMINANT PLANT FOOD CONSUMPTION</b>	
<i>Marica Kudlackova, Martina Valachovičová, Katarína Babinská, Pavel Blažíček, Viera Spoustová, Viera Pauková</i> .....	27-32
<b>PRESENCE OF <i>S. AUREUS</i> AND <i>ENTEROCOCCUS SPP.</i> IN GOAT'S CHEESE AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE</b>	
<i>Lucia Poláková, Eva Dudrikova, Juraj Gallo</i> .....	33-37
<b>CONTRIBUTION TO THE DEBATE ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK FROM VENDING MACHINES</b>	
<i>Ľubomír Valík, Alžbeta Medved'ová, Lucia Bírošová, Denisa Liptáková, Ladislav Ondruš, Ján Šnelcer</i> .....	38-43
<b>EXAMINATION OF FACTORS INFLUENCING THE VARIABILITY OF YEAST AMOUNT IN THE CONTEXT OF PH CHANGES IN BOTTLED WINES</b>	
<i>Lucia Zeleňáková, Eva Matejková, Ľubomír Lopašovský, Dagmar Kozelová, Ladislav Mura</i> .....	44-49

**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**