

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

9

ROČNÍK 24 (LII)
PRAHA
ZÁŘÍ 1979
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Emanuel Král, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesar, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1979

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издаёт Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■
The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von der Tschechoslowakischen landwirtschaftlichen Akademie — Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

ÚČINEK HALOTHANOVÉ ANESTÉZIE NA FUNKCI KŮRY NALEDVIN A NĚKTERÉ METABOLITY V KREVNI PLAZMĚ PRASAT NECITLIVÝCH K MALIGNÍ HYPERTERMII

M. Dvořák

DVOŘÁK, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Účinek halothanové anestézie na funkci kůry nadledvin a některé metabolity v krevní plazmě prasat necitlivých k maligní hypertermii*. Vet. Med. Praha, 24, 1979 (9) : 513-523.

U prasat plemene bílé ušlechtilé, starých tři až čtyři měsíce, jsme zjišťovali účinky 25minutové inhalace halothanu s kyslíkem. Příznaky maligní hypertermie se neprojevaly. Samotná celková anestézie, působící mírnou hypoproteinemii, hypoglykemií a hypocholesterolemii bez průkazných změn hladiny neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) a močoviny, vyvolala jen nepatrné zvýšení cirkulujících 11-hydroxykortikosteroidů (11-OHCS). Ve spojení anestézie s kastrací prasniček nebo kanečků průkazně stoupla koncentrace 11-OHCS, ale nedosáhla výše zaznamenané po aplikaci ACTH. Vyšší hladiny 11-OHCS byly doprovázeny vyšší koncentrací NEMK a glukózy. Zjistili jsme vliv manipulace se zvířaty trvající půl hodiny před inhalací halothanu v maximálních dávkách, nebo hodinu u kontrolních prasat neanestezovaných, zejména na koncentraci 11-OHCS a aktivitu kreatinkinázy v plazmě. Výsledky ukazují, že adrenokortikální odpověď na působení halothanu není větší než na prostou manipulaci spojenou se vzrušením a svalovou aktivitou zvířat. Není proto důvod považovat halothanovou anestézii za faktor působící výrazný stres a prasata nereagující při ní maligní hypertermií za zvířata ke stresu necitlivá. Je diskutováno o výstižnosti označení klinických projevů geneticky defektní svaloviny prasat.

stres; halothan; myopatie; hypertermie; nadledvina; metabolismus; prase

Maligní hypertermie (MH) je genetická porucha energetického metabolismu svalů, zjišťovaná u člověka a z hospodářských zvířat nejčastěji u prasete při působení halothanu i jiných inhalačních anestetik a depolarizujícího myorelaxantu sukcinylcholinu. Projevuje se u prasat rychle vznikající tachykardií, tachypnoí, silnými svalovými kontrakcemi zadních končetin a hřbetu, vystřídanými brzy extrémní rigiditou svalů končetin, dále cyanózou kůže, zvýšením teploty až na 45 °C, srdeční arytmií a velmi častým rychlým úhynem (Williams, 1976; McLoughlin, 1977; Lucke aj., 1977).

Patogenetické principy MH nejsou dosud uspokojivě vysvětleny. Existují důkazy, že cílovou tkání jsou kosterní svaly, u kterých se projevují při působení halothanu výrazné kontrakce také *in vitro*. Biochemické alterace svaloviny nebyly definitivně stanoveny. Dochází k rychlému úbytku adenosintrifosfátu a k anaerobní glykolýze. Hypermetabolický stav, doprovázený mimo jiné tvorbou tepla,

je pravděpodobně spojen s perzistujícím zvýšením volného kalcia v myoplazmě při narušení jeho vazby na sarkoplazmatické retikulum (Anderson, 1977; Mc Loughlin, 1977). Svalový defekt by však mohl vznikat i sekundárně v důsledku neuroendokrinní nedokonalosti. Byl prokázán významně zvýšené hladiny cirkulujících katecholaminů s převahou noradrenalinu (Lucke aj., 1976; Hende aj., 1976). Vznikla tak hypotéza o hlavní roli nadměrné aktivity noradrenalinu, který uvádí do chodu série hormonálně vyvolaných metabolických změn predisponujících zvíře ke vnímavosti vůči halothanu a stresům (Williams, 1976). Naproti tomu však bylo ukázáno, že zvýšení norepinefrinu i epinefrinu a zapojení sympatického nervového systému je pouze sekundární odpovědí (Gronert aj., 1977). Relativně malá pozornost byla věnována hormonům kůry nadledvin.

MH se vyskytuje často u prasat plemene pietrain, Poland-China a u některých typů landrase, všeobecně se vyznačujících ve vztahu ke svalovině menším podílem tuku. Tato prasata jsou citlivá nejen vůči halothanu, ale projevuje se u nich i genetická dispozice ke vzniku zátěžové myopatie (Bickhardt aj., 1977); mohou uhynout během transportu, za vzájemných bojů, při páření i při vysokých vnějších teplotách (Lucke aj., 1977). Zátěžová myopatie, akutní nebo latentní, je totožná s klinickým stavem popsaným poprvé Topelem aj. (1968) jako akutní stresový syndrom a s bledou měkkou exsudativní svalovinou, zjišťovanou při zpracování prasat na jatkách, s tzv. PSE masem (Nelson aj., 1972). Společným rysem všech uvedených stavů je hypertermie, zvýšení laktátu a prudký pokles pH ve svalovině, jakož i rychle nastupující *rigor mortis* (Sybesma a Eikelenboom, 1969; Mc Loughlin, 1977).

Pro identitu těchto patologických stavů svědčí i skutečnost, že k eliminaci prasat disponovaných k zátěžovým myopatiím z chovů jsou v selekčních programech doporučovány totožné metody: halothanový test (Eikelenboom a Minikema, 1974; Webb a Jordan, 1978; Bulla aj., 1978) nebo kreatinkinázový test (Bickhardt aj., 1977). Přes nejednotnou terminologii akutní zátěžové myopatie (stresový syndrom, akutní stresový syndrom, náhlý hypertermický stresový syndrom, maligní hyperpyrexie, syndrom maligní hypertermie aj.) se v pracích věnovaných této problematice označuje dispozice k jejímu vzniku jako citlivost ke stresu a postižená prasata jako ke stresu málo odolná, citlivá, neschopná snést obvyklé stresory prostředí.

Ve smyslu Selyeho (1966) pojetí je termín stres vyhrazen pro stav, pomocí něhož se organismus vyrovnává s nepříznivými vlivy vnějšího prostředí. Jedním z dominujících znaků této univerzální obranné odpovědi organismu je zvýšení funkce systému hypotalamus–hypofýza–kůra nadledvin se vzestupem hladiny cirkulujících glukokortikoidů. Vzniká tedy otázka: je tento systém při halothanové anestezii stimulován a působí halothan u prasat ke stresu necitlivých, tj. pro chov žádoucích, jako stresor? Jestliže ne, pak by neměla hormonálně reagovat ani na jiné nepříznivé faktory vnějšího prostředí. Odpovědět a vysvětlit terminologii spojenou s uvedenou problematikou je jedním ze záměrů předložené práce.

MATERIÁL A METODY

Účinek inhalace halothanu na adrenokortikální funkci a na vybrané ukazatele látkového metabolismu jsme sledovali ve dvou pokusných sériích u mladých prasat plemene bílé ušlechtilé, chovaných ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v dobrých podmínkách vnějšího prostředí.

V první pokusné sérii byla narkotizována halothanem 23 prasata ve věku tři až čtyři měsíce bez operačního zákroku a 11 prasat téhož věku, a to pět prasníček a šest kanečků, při současně kastraci. Krev z V. cava cran. jsme odebírali na operačním stole těsně před začátkem inhalace trvajících 25 minut a krátce po jejím ukončení, tj. v intervalu 30 minut. U devíti prasat dva týdny před jejich vystavením působení halothanu bez operace bylo zjišťováno působení exogenního ACTH na tytéž parametry jako při narkóze. Krev jsme odebírali před intravenózní injekcí Cortrosynu (Organon) v jednotné dávce 0,25 mg a potom za půl hodiny a za hodinu.

Ve druhé pokusné sérii bylo narkotizováno halothanem v maximálních dávkách po dobu 25 minut sedm tříměsíčních prasat. Krev jsme poprvé odebírali ve stáji bezprostředně po vyjmutí zvířat z kotce. Druhý odběr následoval za půl hodiny na operačním stole před zahájením inhalace, třetí za pět minut potom a čtvrtý po přerušení inhalace, před usmrcením dekapitací. Současně bylo vždy

vyšetřováno prase kontrolní, pocházející z téhož vrhu, u něhož byla odebírána krev krátce po prvním, třetím a čtvrtém odběru u pokusného prasete. Místo narkózy bylo ponecháno před operačním sálem v bedně, ze které se zpravidla snažilo uniknout. I toto prase jsme usmrtili, abychom vyšetřili nadledviny.

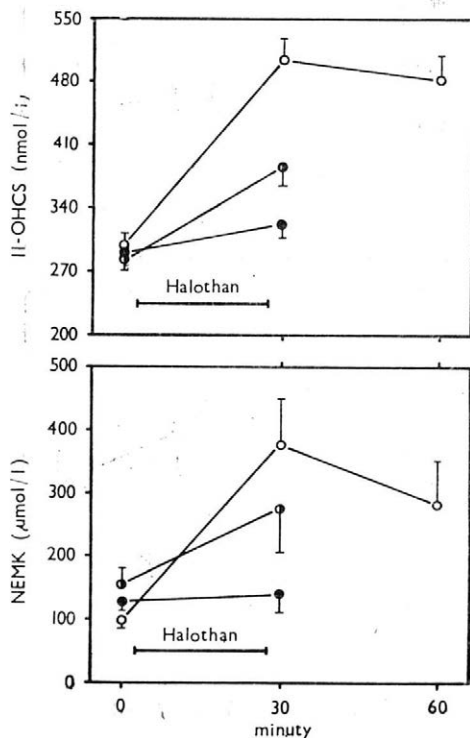
Všechny pokusy jsme dělali v ranních až dopoledních hodinách, prasata nebyla ráno krmena. Ve všech skupinách byla zastoupena obě pohlaví pokud možno ve stejném poměru. K narkóze jsme použili při polootevřeném způsobu inhalační anestézie s maskou Narcotan Spofa (halothan s thymolem v množství 1 mg g⁻¹) v kyslíku při zvýšené koncentraci během prvních a posledních pěti minut s průměrnou spotřebou 1,5 g halothanu za 25 minut na 1 kg hmotnosti prasat druhé pokusné série. Při takovém dávkování uhynula čtyři prasata za 7 až 25 minut s příznaky deprese a zástavy dýchání. U první pokusné série činila spotřeba halothanu v průměru 0,70 g za 25 minut na 1 kg hmotnosti. Při inhalační anestézii byl sledován klinický stav zvířat včetně rektální teploty.

V krevní plazmě jsme stanovili koncentraci celkového proteinu, glukózy, močoviny, celkového cholesterolu a neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) a 11-hydroxykortikosteroidů stejnými metodami jako v dřívější studii (Dvořák, 1979). U pěti prasat při stimulaci exogenním ACTH a v druhé pokusné sérii u pěti prasat pokusných a pěti kontrolních jsme stanovili aktivitu kreatinkinázy (CK) s použitím Biolatestu (Lachema Brno). U vykrvených prasat jsme zjišťovali absolutní a relativní hmotnost nadledvin a jater, produkci 17-hydroxykortikosteroidů (17-OHCS) *in vitro* po stimulaci řezů nadledvin v mediu s ACTH (Dvořák, 1972) a koncentrace celkové kyseliny askorbové (KA) v nadledvině a v játrech metodou popsanou dříve (Dvořák, 1972b). Výsledky jsou uváděny v aritmetických průměrech se směrodatnou odchylkou, v grafech se střední chybou průměru. Statistickou průkaznost rozdílů průměrů jsme stanovili za použití Studentova *t*-testu.

VÝSLEDKY

Při halothanové anestézii se ani u jednoho z použitých prasat neprojevyly příznaky maligní hypertermie. Rektální teplota se ve většině

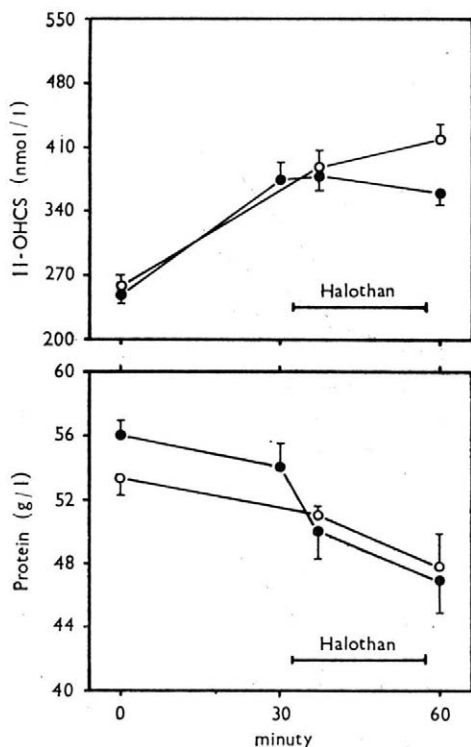
1. Koncentrace 11-hydroxykortikosteroidů a neesterifikovaných mastných kyselin v krevní plazmě po halothanové anestézii (značky vyplněné), po téže anestézii ve spojení s kastrací (půl značky vyplněné) a po aplikaci ACTH (značky prázdné) — Concentration of 11-hydroxycorticosteroids and non-esterified fatty acids in the blood plasma after halothane anesthesia (full marks), after the same anesthesia in combination with castration (half-filled marks) and after ACTH application (empty marks)



případů za 25 minut neměla nebo mírně snížila, výjimečně zvýšila — nejvíce o 0,6 °C.

V první pokusné sérii jsme po inhalaci halothanu zjistili zvýšení koncentrace 11-OHCS při současné kastraci ($P < 0,01$), ne však při narkóze bez operačního zákroku. Po stimulaci exogenním ACTH byl vzestup hladiny 11-OHCS dvakrát větší než při operaci. Podobný charakter měly i změny koncentrace NEMK (obr. 1). V krevní plazmě prasat pouze narkotizovaných se snížila za půl hodiny hladina celkového proteinu ($P < 0,01$), glukózy ($P < 0,05$) a cholesterolu ($P < 0,05$). Při narkóze spojené s kastrací se koncentrace celkového proteinu snížila ještě výrazněji (z $50,5 \pm 2,4$ na $45,8 \pm 2,9$ g l⁻¹), rovněž průkazně ($P < 0,05$) poklesla u cholesterolu (z $3,63 \pm 0,36$ na $3,27 \pm 0,38$ mmol l⁻¹), nezměnila se však u glukózy. Po aplikaci ACTH byl u hladiny celkového proteinu zaznamenán jen trend snižování, které však ani za hodinu nedosáhlo průkaznosti ($45,8 \pm 5,8$ a $43,7 \pm 6,4$ g l⁻¹), u cholesterolu byl pokles významný ($P < 0,05$). U hladiny glukózy jsme zjistili postupný neprůkazný vzestup ($4,19 \pm 0,88$, $4,37 \pm 0,87$ a $4,68 \pm 0,90$ mmol l⁻¹). Aktivita CK se za hodinu neprůkazně zvýšila ze 14 ± 12 na 24 ± 18 U/l. Koncentrace močoviny se ani v jednom případě zřetelně nezměnila, s rozdílem ve skupině nejvíce 0,16 mmol l⁻¹.

Ve druhé pokusné sérii byl zjištěn výrazný vliv manipulace se zvířaty, působící jejich vzrušení a zvýšenou svalovou aktivitu. Trvala u pokusných půl hodiny před inhalační anestézií, u kontrolních celou hodinu. Koncentrace plazmatických 11-OHCS se u obou skupin průkazně zvýšila ($P < 0,01$) během zneklidnění prasat a po inhalaci halothanu se na

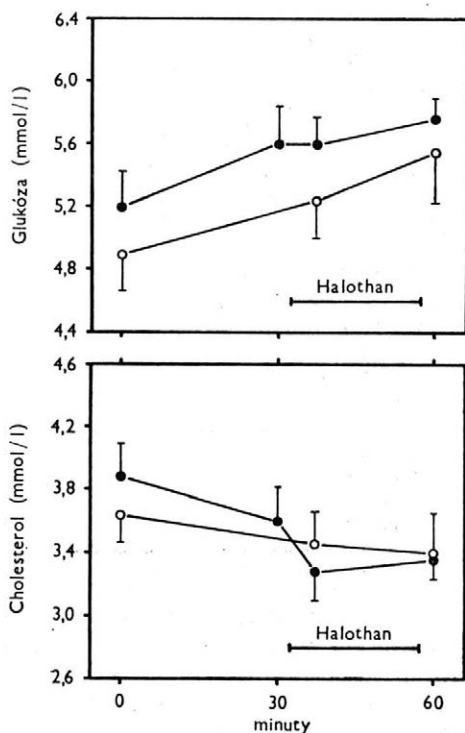


2. Koncentrace 11-hydroxykortikosteroidů a celkového proteinu v krevní plazmě prasat vystavených inhalaci halothanu po zneklidnění (vyplněné značky) a prasat pouze déle zneklidněných (prázdné značky) — druhý pokus — Concentration of 11-hydroxycorticosteroids and total protein in the blood plasma of pigs subjected to halothane inhalation after excitation (full marks) and of pigs only after longer excitation (empty marks) — second experiment

rozdíl od kontrol nepatrně snížila (obr. 2). U hladiny NEMK jsme zaznamenali zvýšení ze 116 na 120 $\mu\text{mol l}^{-1}$, které ani u kontrol nebylo průkazné (120 a 146 $\mu\text{mol l}^{-1}$).

Koncentrace celkového proteinu se u obou skupin snižovala, u pokusných průkazně ($P < 0,05$), nejvíce po začátku inhalace halothanu (obr. 2). Neprůkazné zvyšování jsme zjistili u koncentrace glukózy, zřetelně brzděné při narkóze. Naopak neprůkazné snižování, zvýrazněné při začátku narkózy, bylo zjištěno u hladiny cholesterolu (obr. 3). Ne-

3. Koncentrace glukózy a cholesterolu v krevní plazmě prasat vystavených inhalaci halothanu po zneklidnění (vyplněné značky) a prasat pouze déle zneklidněných (prázdné značky) – druhý pokus – Concentration of glucose and cholesterol in the blood plasma of pigs subjected to halothane inhalation after excitation (full marks) and of pigs only after longer excitation (empty marks) – second experiment



výrazné změny koncentrace byly zaznamenány u močoviny. Aktivita CK v krevní plazmě se u pokusných prasat mírně zvyšovala až do třetího odběru krve v době po zahájení inhalace, při ukončení narkózy byl zaznamenán opětový pokles. Naproti tomu u kontrol se aktivita CK plynule zvyšovala sice neprůkazně, přesto však za hodinu až na 238 % výchozí hodnoty (tab. I). Průkazný rozdíl mezi hodnotami uvedených ukazatelů pokusné a kontrolní skupiny byl pouze u plazmatických 11-OHCS 60. minutu trvání pokusu ($P < 0,05$).

Vyšetřením nadledvin a jater prasat vykrvených bezprostředně po 60. minutě sledování u druhé pokusné série nebyly prokázány statistické rozdíly mezi průměry sledovaných parametrů (tab. I). U prasat vystavených inhalaci halothanu ve vysokém dávkování byla produkce 17-OHCS *in vitro* menší a koncentrace KA v nadledvině větší než u kontrolní skupiny.

I. Výsledky dosažené u druhé série prasat vykrevných po halothanové anestézii a předcházejícím zneklidnění (pokusná), nebo po pouhém zneklidnění (kontrolní) — Results obtained from the second series of pigs which were blood drained after halothane anesthesia following prior excitation (experimental) or just after excitation (control)

	Pokusná	Kontrolní
Věk — dny	88,1 ± 9,7	88,1 ± 9,7
Hmotnost těla — kg	27,8 ± 3,1	28,1 ± 5,5
Hmotnost jater		
skutečná — g	748 ± 105	689 ± 158
relativní — g kg ⁻¹	26,8 ± 2,1	24,4 ± 1,5
Hmotnost nadledvin		
skutečná — mg	1568 ± 228	1607 ± 308
relativní — mg kg ⁻¹	56,4 ± 6,2	53,3 ± 5,2
Produkce 17-OHCS <i>in vitro</i> μg na 100 mg nadledvin	12,6 ± 1,9	14,3 ± 2,6
Kyselina askorbová		
v nadledvině — μmol g ⁻¹	14,2 ± 1,2	13,8 ± 1,2
v játrech — μmol g ⁻¹	3,00 ± 0,34	3,06 ± 0,17
Kreatinkináza v plazmě — U/l		
1. odběr	28,8 ± 21,8	24,8 ± 15,1
2. odběr	35,6 ± 20,1	
3. odběr	41,2 ± 21,9	43,0 ± 27,8
4. odběr	33,0 ± 22,5	59,6 ± 41,6
Močovina v plazmě — mmol l ⁻¹		
1. odběr	6,53 ± 0,68	6,18 ± 0,27
2. odběr	6,24 ± 0,37	
3. odběr	6,51 ± 0,48	6,40 ± 0,25
4. odběr	6,35 ± 0,52	6,51 ± 0,43

U prasat, která během halothanové narkózy uhynula, jsme u parametrů sledovaných v krevní plazmě nezjistili odchylky od prasat, která přežila. Koncentrace 11-OHCS, stanovená před začátkem inhalace a za 7 až 25 minut, tj. po zástavě dechu, se v průměrech nezměnila (314 a 311 nmol l⁻¹), v jednotlivých případech se jednou zvýšila a třikrát mírně snížila.

DISKUSE

Z dosažených výsledků vyplývá, že inhalace halothanu v dávkách postačujících k celkové anestézii i v maximálních dávkách hraničících s letálními působí v krevní plazmě prasat necitlivých k maligní hypertermii změny charakterizovatelné hypoproteinémií a sklonem k hypcholesterolémií, popřípadě k hypoglykémii. Změny byly relativně malé ve srovnání se stavem působeným halothanovou anestézií spojenou s chirurgickým zákrokem, nebo se stavem vyvolaným stimulací adrenokortikální funkce po aplikaci ACTH. Pro oba bylo příznačné zvýšení koncentrace 11-OHCS a NEMK. V druhé pokusné sérii byl nález při halothanové anestézii komplikován předcházejícím půlhodinovým zneklidněním

zvířat, spojeným se zvýšením cirkulujících kortikosteroidů, jejichž účinek se mohl projevit v hladině glukózy i NEMK.

Glukokortikoidy hrají významnou úlohu v regulaci metabolismu působením na enzymatickou aktivitu v různých tkáních. Jejich účinky na glykémii ovlivněním glukoneogeneze se projevují výrazněji za dobu delší než je jedna hodina. Naproti tomu se po aplikaci ACTH poměrně rychle zvyšuje koncentrace NEMK v plazmě také u starších prasat (Dvořák aj., 1979). Podobný účinek má adrenalin, jehož injekce vyvolává během půlhodiny rovněž hyperglykémii a snížení koncentrace celkového proteinu o více než 5 g l^{-1} (Dvořák, 1979).

Údaje o normálních účincích inhalace halothanu na metabolické, hormonální a další parametry byly získány převážně u jiných živočišných druhů než u prasat. Nebylo prokázáno zvýšení hladiny katecholaminů v krvi (Michenfelder a Theye, 1977), pokud celková anestézie nebyla spojena s chirurgickou operací (Halter aj., 1977). Pravidelnou změnou, zjištěnou v této studii po halothanové narkóze, bylo snížení koncentrace celkového proteinu o 5 až 7 g l^{-1} , tj. o 9,4 až 13 % jeho hodnoty před inhalací. Obdobný pokles i snížení hematokritové hodnoty byly zjištěny během 15 minut při nízkém dávkování halothanu spolu se shodným zvýšením plazmatického objemu (Steffey aj., 1976). Hypotenzivní účinek (Michenfelder a Theye, 1977) se organismus zřejmě snaží kompenzovat mírnou hypervolémií. V důsledku hemodiluze lze pak zaznamenat určité snížení koncentrace sledovaných látek, např. i glukózy (Michenfelder a Theye, 1977). Je třeba připustit, že tyto mechanismy mohly působit také u prasat, o nichž pojednává tato studie. Změny látkového metabolismu při samotné halothanové anestézii nelze vysvětlit působením glukokortikoidů. Avšak zejména v případech anestézie spojené s chirurgickým zákrokem, nebo s předcházející manipulací se zvířaty, mohly být výsledky ovlivněny nejen přímým působením halothanu na játra, svaly (Johnstone aj., 1976), nebo tukovou tkáň (Bennis aj., 1976), ale i neurohormonálními interferencemi. Aktivita CK, nejvíce zvýšená u kontrolních prasat druhé pokusné série, naznačuje větší účinek svalové aktivity než halothanové inhalace. Specifitu působení ACTH, popřípadě glukokortikoidů na uvolňování tohoto enzymu ze svaloviny bude žádoucí znovu ověřit.

Při respektování možnosti zvyšujícího se objemu krevní plazmy mohla být adrenokortikální funkce zvýšená i při neměníci se koncentraci plazmatických 11-OHCS, ovšem v ne příliš velké míře, neboť u člověka (Johnstone aj., 1976) a u ovce (Green a Moor, 1977) působí halothanová anestézie průkazné zvýšení cirkulujícího kortisolu. Ať by působení halothanu na organismus normálních prasat jakkoliv měnilo objem plazmy nebo stupeň metabolického rušení tohoto hormonu, výsledky získané při narkóze spojené s kastrací prasniček nebo kanečků zřetelně ukazují, že samotný halothan stimuluje osu hypothalamus-hypofýza-kůra nadledvin relativně slabě a nelze jej považovat za výrazný stresor. Potvrzují to i nálezy u vykrvených prasat druhé pokusné série s poněkud nižší produkcí 17-OHCS *in vitro* a s vyšší koncentrací KA v nadledvině po působení halothanu. Posledně uvedené nepřímé kritérium, ověřené také u selat (Dvořák, 1972b), svědčí pro vyšší sekreci kortikosteroidů u prasat kontrolních než u prasat anestetizovaných.

Z biochemických nálezů v krvi prasat s MH po inhalaci halothanu jsou popsány zejména těžká respirační a metabolická acidóza s několikačetným vzestupem laktátu, hyperkalémie, zvýšená aktivita některých enzymů, hyperglykémie a hyperproteinémie (Lucke aj., 1976, 1977; Hende aj., 1976; McLoughlin, 1977; Bulla aj., 1978). Nejsou však k dispozici poznatky o účasti glukokortikoidů při vzniku MH a v jejím průběhu. Ojedinelé jsou zprávy o jejich účinnosti v léčbě této poruchy u lidí (Cain a Ellis, 1977).

Ani funkce kůry nadledvin z hlediska podstaty „citlivosti prasat ke stresu“ není dosud spolehlivě vysvětlena; byly sice předloženy mnohé výsledky, ale většinou spíše nepřesvědčující. Původně převládal názor o adrenokortikální insuficienci. Později bylo zjištěno, že tato prasata mají v plazmě zvýšenou hladinu ACTH, ale s neodpovídající koncentrací kortisolu. To naznačovalo buď neschopnost sekrece kortisolu, nebo jeho rychlejší metabolizování (Marple aj., 1972). Byly však zjištěny i vyšší hladiny plazmatických glukokortikoidů u prasat „citlivých ke stresu“ a uvažovalo se o adrenokortikální hyperaktivitě. Konečně bylo ukázáno, že mezi prasaty negativními nebo pozitivními k halothanovému testu nejsou v koncentraci plazmatického kortisolu ani v jeho vazebné kapacitě rozdíly a že plemena nebo linie prasat se mohou v těchto ukazatelích lišit nezávisle na jejich „stresové citlivosti“ (Aberle aj., 1976). Nelze ani vyloučit podíl kortisolu v mechanismech „stresové citlivosti“, zejména pro jeho glukoneogenetické působení, zřejmě prvořadý význam však mají abnormality svalů (Marple a Cassens, 1973). Některé pokusy na izolovaných svalech prasat dokazují, že příznaky syndromu se vyvíjejí nezávisle na adrenální kontrole (Anderson, 1977). Roli geneticky defektní kosterní svaloviny při vzniku MH zdůrazňuje také zjištění, že tělesné cvičení prasat před inhalací halothanu zvyšuje, zvyšuje a urychluje vývoj klinických příznaků syndromu (Hende aj., 1976).

Na základě výsledků této studie, ukazující, že adrenokortikální odpověď na halothan je relativně malá a zřejmě menší než působí vzrušení a svalová aktivita prasat v důsledku manipulací s nimi, jakož i na základě výše uvedených literárních poznatků o nepravděpodobném zapojení kůry nadledvin do etiologie zátěžových myopatií, nelze souhlasit s termíny používajícími v této souvislosti pojem stres. Pozitivním halothanovým testem se nemůže prokázat malá odolnost prasat vůči stresu, jestliže inhalace halothanu nepůsobí jako výrazný stresor. Toto anestetikum lze považovat za činitele, který u dědičně disponovaných zvířat působí specificky na svalovinu a její energetický metabolismus. Uvedený test lze označit — tak jako mnohé jiné klinické testy používané k hodnocení funkce některých orgánů — za test zátěžový. V souladu s tím je žádoucí označovat svalové poruchy prasat s určitou dědičnou dispozicí, prokazatelnou halothanem, jako akutní nebo latentní zátěžové myopatie (exertional myopathy, Belastungsmyopathie — Bickhardt aj., 1977). Tento termín je výstižnější než „stresový syndrom“, je v souladu s etiopatogenezí poruchy a ani v české literatuře není cizí (Kursa aj., 1977), i když ne všeobecně užívaný. Již v prvních popisech náhlých úhynů prasat v Evropě, označených jako syndrom maligní hypertemie (Sybesma a Eikelenboom, 1969), byl jako vyvolávající moment udáván pohyb, intenzivní cvičení. Teprve rozšířením ame-

rické „stresové“ terminologie vzniká nesprávný dojem, že příčinou poruch může být stres způsobený jakýmkoliv mimořádným účinkem prostředí, zejména velkochovů. Vyvolávající okolnosti sice mohou být stresem v Selyeho pojetí, ale účast kosterní svaloviny je rozhodujícím momentem.

Výsledek halothanového testu a případný vznik MH nemůže ukázat, zda jedinci, linie, nebo některá plemena prasat jsou schopna odpovídat na působící stresory větším či menším zvýšením aktivity kůry nadledvin. Tato okolnost je významná z jiných hledisek, zejména pro nespecifickou obranu organismu, v genezi některých chorob, v inhibici růstu při neadekvátní reakci, jako předpoklad vývoje a adaptace. Je žádoucí, aby organismus v určitých situacích přiměřeně odpovídal stavem označeným jako stres. Proto by asi bylo správnější označovat prasata na halothan nereagující, tj. k chovu vhodná, spíše jako prasata k zátěžové myopatii nedisponovaná, než jako ke stresu necitlivá.

Literatura

- ABERLE, E. D. — RIGGS, B. L. — ALLISTON, C. W. — WILSON, S. P.: Effects of thermal stress, breed and stress susceptibility on corticosteroid binding globulin in swine. *J. Anim. Sci.*, 43, 1976, s. 816-820.
- ANDERSON, I. L.: Porcine malignant hyperthermia: studies on isolated muscle strips. Thesis, Oklahoma State University, Stillwater, 1977, s. 92.
- BENNIS, J. — OLSSON, J. — SMITH, U.: Effects of halothane on the metabolism of human adipose tissue. *Acta anaesth. scand.*, 20, 1976, s. 327-333.
- BICKHARDT, K. — FLOCK, D. K. — RICHTER, L.: Creatine-kinase test (CK test) as a selection criterion to estimate stress resistance and meat quality in pigs. *Vet. Sci. Commun.*, 1, 1977, s. 225-233.
- BULLA, J. — ZELNÍK, J. — GRANÁT, J.: Využití halothanového testu při detekci syndromu malignej hypertermie (MHS) u ošpaných. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978, s. 347-354.
- CAIN, P. A. — ELLIS, F. R.: Anaesthesia for patients susceptible to malignant hyperpyrexia. *Br. J. Anaesth.*, 49, 1977, s. 941-944.
- DVORÁK, M.: Der Einfluß des Alters und der vorangehenden erhöhten Nebennierenrindenaktivität bei Kälbern auf die Produktion von 17-Hydroxykortikosteroiden *in vitro*. *Endokrinologie*, 59, 1972, s. 161-168.
- DVORÁK, M.: Účinek ACTH na koncentraci kyseliny askorbové v nadledvinách a játrech během vývoje selat. *Vet. Med.*, Praha, 17, 1972b, s. 211-216.
- DVORÁK, M.: Účinky odlišného růstu odstavených selat, hladovění a hormonálního působení na některé metabolické parametry v krevní plazmě. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979, s. 301-310.
- DVORÁK, M. — RASZYK, J. — ČANDERLE, J. — TOULOVÁ, M. — MATOUŠKOVÁ, O.: Effect of oestradiol, progesterone or testosterone on adrenocortical activity and parameters of substance metabolism in ovariectomized gilts. *Zentbl. VetMed.*, 1979 — v tisku.
- EIKELNBOOM, G. — MINKEMA, D.: Prediction of pale, soft, exudative muscle with a non-lethal test for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 99, 1974, s. 421-426.
- GREEN, D. — MOOR, R. M.: The influence of anaesthesia on the concentrations of progesterone and cortisol in peripheral blood plasma of sheep. *Res. vet. Sci.*, 22, 1977, s. 122-123.
- GRONERT, G. A. — MILDE, J. H. — THEYE, R. A.: Role of sympathetic activity in porcine malignant hyperthermia. *Anesthesiology*, 47, 1977, s. 411-415.
- HALTER, J. B. — PFLUG, A. E. — PORTE, D.: Mechanism of plasma catecholamine increases during surgical stress in man. *J. clin. Endocr. Metab.*, 45, 1977, s. 936-944.
- HENDE, C. VAN DEN — LISTER, D. — MUYLLE, E. — OOMS, L. — OYAERT, W.: Malignant hyperthermia in belgian landrace pigs rested or exercised before exposure to halothane. *Br. J. Anaesth.*, 48, 1976, s. 821-829.
- JOHNSTONE, R. E. — KENNEL, E. M. — BRUMMUND, W. — SHAW, L. M. — EBERSOLE, R. C.: Effect of halothane anesthesia on muscle, liver, thyroid, and adrenal-function test in man. *Clin. Chem.*, 22, 1976, s. 217-220.

- KURSA, J. — ČOLLÁK, D. — TRNKA, F. — LÁVIČKA, M. — VÍTOVEC, J. — PAUR, J. — ČERMÁKOVÁ, J. — TLAPA, F. — VÍTEK, J.: Teréní výskyt zátěžových myopatií u prasat. *Veterinářství*, 27, 1977, s. 120-123.
- LUCKE, J. N. — HALL, G. M. — LISTER, D.: Porcine malignant hyperthermia. I: Metabolic and physiological changes. *Br. J. Anaesth.*, 48, 1976, s. 297-304.
- LUCKE, J. N. — HALL, G. M. — LISTER, D.: Anaesthesia of pigs sensitive to malignant hyperthermia. *Vet. Rec.*, 100, 1977, s. 45-48.
- MARPLE, D. N. — CASSENS, R. G.: A mechanism for stress-susceptibility in swine. *J. Anim. Sci.*, 37, 1973, s. 546-550.
- MARPLE, D. N. — JUDGE, M. D. — ABERLE, E. D.: Pituitary and adrenocortical function of stress-susceptible swine. *J. Anim. Sci.*, 35, 1972, s. 995-999.
- MCLOUGHLIN, J. V.: Malignant hyperthermia in the pig: aetiology, therapy and implications. *Vet. Sci. Commun.*, 1, 1977, s. 153-160.
- MICHENFELDER, J. D. — THEYE, R. A.: Canine systemic and cerebral effects of hypotension induced by hemorrhage, trimethaphan, halothane, or nitroprusside. *Anesthesiology*, 46, 1977, s. 188-195.
- NELSON, T. E. — JONES, E. W. — HENDRICKSON, R. L. — FALK, S. N. — KERR, D. D.: Porcine malignant hyperthermia: observations on the occurrence of pale, soft, exudative musculature among susceptible pigs. *Am. J. vet. Res.*, 35, 1972, s. 349-350.
- SELYE, H.: *Život a stress*. Martin, 1966. 454 s.
- STEFFEY, E. P. — GILLESPIE, J. R. — BERRY, J. D. — EGER, E. I. — SCHALM, O. W.: Effect of halothane and halothane-nitrous oxide on hematocrit and plasma protein concentration in dog and monkey. *Am. J. vet. Res.*, 37, 1976, s. 959-962.
- SYBESMA, W. — EIKELBOOM, G.: Malignant hyperthermia syndrome in pigs. *Neth. J. vet. Sci.*, 2, 1969, s. 155-160.
- TOPEL, D. G. — BICKNELL, E. J. — PRESTON, K. S. — CHRISTIAN, L. L. — MATSUSHIME, C. J.: Porcine stress syndrome. *Mod. vet. Pract.*, 49, 1968, s. 40-60.
- WEBB, A. J. — JORDAN, C. H. C.: Halothane sensitivity as a field test for stress-susceptibility in the pig. *Anim. Prod.*, 26, 1978, s. 157-168.
- WILLIAMS, CH. H.: Some observations on the etiology of the fulminant hyperthermia-stress syndrome. *Perspect. Biol. Med.*, 20, 1976, s. 120-130.

Došlo dne 12. 6. 1979

ДВОРЖАК, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Действие галотановой анестезии на функцию коры надпочечников и на некоторые метаболиты в кровяной плазме нечувствительных к злокачественной гипертермии свиней. *Vet. Med., Praha*, 24, 1979 (9): 513-523.

У свиней белой улучшенной породы в возрасте трех-четырех месяцев устанавливали действия 25-минутного вдыхания галотана с кислородом. Признаки злокачественной гипертермии не проявились. Сама общая анестезия, вызывающая слабые гипопроteinемию, гипогликемию и гипохолестеринемию без достоверных изменений уровня неэстерифицированных жирных кислот НЖК и мочевины, вызвала лишь незначительное повышение уровня циркулирующих 11-гидроксикортикостероидов (11-ОНКС). В сочетании анестезии с кастрацией свинов или хрячков достоверно поднялась концентрация 11-ОНКС, которая, однако, не достигла уровня, установленного после аппликации АСТН. Повышенные уровни 11-ОНКС сопровождалась увеличенной концентрацией НЖК и глюкозы. Установили также влияние манипуляции с животным, продолжающейся пол часа перед ингаляцией галотана в максимальных дозах, или час у контрольных неанестезированных свиней, особенно на концентрацию 11-ОНКС и активность креатинкиназы в плазме. Результаты показывают, что аденокортикальная реакция на воздействие галотана не выше, чем на простую манипуляцию с животными, сопровождаемую их возбуждением и мышечной активностью. Поэтому нет обоснования для того, чтобы считать галотановую анестезию фактором, вызывающим сильный стресс, а не реагирующих при ней злокачественной гипертермией свиней животными, не восприимчивыми к стрессу. Ведется дискуссия о меткости обозначения клинических проявлений генетически дефектной мускулатуры свиней.

стресс; галотан; миопатия; гипертермия; надпочечник; метаболизм; свинья

DVORÁK, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Effect of Halothane Anesthesia on the Function of the Suprarenal Cortex and on Some Metabolites in the Blood Plasma of Pigs Insensitive to Malignant Hyperthermia*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 513-523.

The effects were investigated of a 25-minute inhalation of halothane with oxygen on three to four months old pigs of the Large White breed. Symptoms of malignant hyperthermia did not occur. The actual total anesthesia, which causes slight hypoproteinemia, hypoglycemia and hypocholesterolemia without significant changes in the content of non-esterified fatty acids (NEFA) and urea, induced only a slight increase of circulating 11-hydroxycorticosteroids (11-OHCS). The combination of anesthesia with castration of gilts or barrows significantly increased the concentration of 11-OHCS but did not reach the level recorded after the application of ACTH. The higher levels of 11-OHCS were accompanied by higher concentrations of NEFA and glucose. The treatment of the animals lasting half an hour prior to inhalation of halothane at maximum doses or one hour in the control unanesthetized pigs produced an effect, mainly on the 11-OHCS concentration and on the activity of creatine kinase in the plasma. The results indicate that the adrenocortical response to the effect of halothane is not stronger than the response to simple handling connected with excitement and muscular activity of the animals. Therefore there is no reason of considering halothane anesthesia as a factor causing great stress and pigs which in its course do not respond with malignant hyperthermia as animals insensitive to stress. The aptness of denotation of clinical manifestations of genetically defective muscles in pigs is discussed.

stress; halothane; myopathy; hyperthermia; suprarenal gland; metabolism; pig

DVORÁK, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Wirkung der Halothananästhesie auf die Funktion der Nebennierenrinde und einige Metaboliten im Blutplasma der auf maligne Hyperthermie unsensible Schweine*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 513-523.

Bei drei bis vier Monate alten Weißen Edelschweinen ermittelten wir die Wirkungen einer 25 Minuten andauernden Inhalation von Halothan mit Sauerstoff. Symptome einer malignen Hyperthermie traten nicht in Erscheinung. Die Gesamtanästhesie selbst, die eine mäßige Hypoproteinämie, Hypoglykämie und Hypocholesterinämie ohne signifikante Veränderungen der Niveaus der nichtesterifizierten Fettsäuren (NEFS) und des Harnstoffs auslöste, verursachte eine nur geringe Erhöhung der zirkulierenden 11-Hydroxykortikosteroide (11-OHCS). Bei Verbindung der Anästhesie mit der Kastration der Jungsauen und Jungeber erhöhte sich signifikant die 11-OHCS-Konzentration, ohne aber die nach ACTH-Applikation verzeichnete Höhe zu erreichen. Die höheren 11-OHCS-Niveaus waren mit einer höheren NEFS- und Glukosekonzentration begleitet. Wir stellten einen Einfluß der Manipulation mit den Tieren, die eine halbe Stunde vor der Halothaninhalation in maximalen Dosen oder eine Stunde bei den nichtanästhesierten Kontrollschweinen andauerte, vor allem auf die 11-OHCS-Konzentration und die Kreatinkinaseaktivität im Plasma fest. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die adrenokortikale Reaktion auf die Wirkung des Halothans nicht größer ist als auf die bloße Manipulation, die mit der Erregung und der Muskelaktivität der Tiere verbunden ist. Es ist deshalb unbegründet, die Halothananästhesie als einen ausgeprägten Streß auslösenden Faktor, sowie die dabei durch maligne Hyperthermie nicht reagierenden Schweine als auf Streß nicht anfällige Tiere zu betrachten. Es wird über die Zutrefflichkeit der Bezeichnung klinischer Manifestationen der genetisch defekten Muskulatur bei Schweinen diskutiert.

Streß; Halothan; Myopathie; Hyperthermie; Nebennieren; Metabolismus; Schwein

Adresa autora:

MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

ÚČINEK APLIKACE LH-RELEASING HORMONU NA HLADINY TESTOSTERONU V KRVÍ KANCŮ S PORUCHAMI SEXUÁLNÍCH FUNKCÍ

S. Navrátil, P. Forejtek

NAVRÁTIL, S. — FOREJTEK, P. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): Účinek aplikace LH-releasing hormonu na hladiny testosteronu v krvi kanců s poruchami sexuálních funkcí. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 525-530.

U 57 kanců s poruchami pohlavních funkcí a u 43 kanců bez sexuálních dysfunkcí jsme hodnotili hladiny testosteronu v krevní plazmě před aplikací a za 90 minut po i. v. aplikaci 1 mg syntetického LH-releasing hormonu. Skupina zvířat se sexuálními poruchami zahrnovala kance s odchylkami kvality ejakulátu a nízkou plodností (24 zvířata) a případy s narušením sexuální potence (33 kanců). U zvířat se studovanými změnami pohlavních funkcí jsme ve srovnání s kancem bez sexuálních dysfunkcí nezjistili statisticky významný rozdíl bazální koncentrace testosteronu v krvi. Aplikace LH-releasing hormonu měla za následek signifikantní vzrůst hladiny testosteronu u skupiny kanců bez sexuálních poruch průměrně o 99,5 % a u celé skupiny zvířat se změnami pohlavních funkcí v průměru pouze o 65,8 %. Přitom u podskupiny závad kvality ejakulátu a nízké plodnosti dosáhl poaplikační vzestup testikulární inkrece 60,4 % a u poruch potence činil 61,6 % a nebyl v posledním případě statisticky významný. Na podkladě těchto nálezů bylo odvozeno, že u skupiny kanců s reprodukčními odchylkami existuje snížená inkreční rezerva systému hypofýza — varle a předpokládá se účast tohoto faktoru na vzniku sledovaných sexuálních poruch. O dosažených výsledcích se diskutuje z hlediska dřívějších poznatků o inkreční rezervě varlat u kanců se změnami pohlavních funkcí.

androgeny; kompetitivní vazba; kvalita ejakulátu; *impotentia coeundi*; testikulární inkrece; osa hypofýza — varle

Přiměřená funkční aktivita systému hypotalamus — hypofýza — varle je předpokladem správné spermiogenní i inkreční činnosti samčí gonády. Proto lze předpokládat, že u některých sexuálních poruch může etiologický moment spočívat v odchylkách funkční kapacity zmíněných center. Posouzení inkreční rezervy komplexu hypofýza — varle jako celku je v současné době umožněno syntézou a dostupností hypotalamického působku, LH-releasing hormonu (LH-RH), po jehož podání lze sledovat změny hladin plasmatického testosteronu, představující responzi inkreční složky varlat na poaplikační výdej hypofyzárního LH.

Vliv aplikace LH-RH na hladiny testosteronu v krvi byl ověřen v mnoha pracích především u mužů. Stimulační efekt podání LH-RH na hladiny plasmatického testosteronu byl v posledních letech potvrzen i u zvířat. König a Elsaesser (1974) zjistili u minikanců za 60 minut po i. v. podání LH-RH výrazný přírůstek

testosteronu v krvi. Obdobné výsledky byly zaznamenány i u býků (Hruška aj., 1975). Falvo aj. (1975) pozorovali po i.v. aplikaci LH-RH vzestup LH v krvi beranů, doprovázený zvýšením koncentrace plazmatického testosteronu. Bruni aj. (1977) konstatovali po opakovaných subkutánních injekcích LH-RH vzestup hladin LH, FSH a testosteronu v krevním séru krys. Ve výsledcích Schörnera aj. (1977) měla aplikace LH-RH u dospělých psů i u deset týdnů starých štěňat do 1 až 2,5 hodiny po podání za následek zvýšení koncentrace testosteronu v krevní plazmě. Posléze Chantaraprateep a Thibier (1978) zaznamenali po i.m. aplikaci LH-RH vzestup hladin testosteronu v krvi býků, jenž nebyl ovlivněn předchozí injekcí dexamethasonu.

V naší dřívější studii jsme nezjistili významný rozdíl funkční rezervy inkreční složky varlat po aplikaci choriového gonadotropinu u kanců s odchylkami sexuálních funkcí ve srovnání se zvířaty bez pohlavních dysfunkcí (Navrátil aj., 1975b). Proto jsme se na tomto úseku práce zaměřili na hodnocení endokrinní funkční rezervy systému hypofýza – varle sledováním změn hladin testosteronu v krvi po podání LH-releasing hormonu u kanců s poruchami sexuálních funkcí ve srovnání se zvířaty s normální pohlavní aktivitou a oplozovací schopností. Smyslem tohoto sledování je zjistit, zda u kanců s některými změnami pohlavních funkcí dochází k předpokládaným odchylkám inkreční rezervy systému hypofýza – varle a zda se tedy tyto poruchy mohou uplatnit jako etiologický moment sledovaných sexuálních dysfunkcí.

MATERIÁL A METODY

Pozorování bylo uskutečněno celkem u 100 plemenných kanců vyřazovaných z provozu inseminačních stanic a zemědělských závodů. Sledovaná zvířata patřila k plemeni landrase, bílé ušlechtilé, duroc a hampshire. Jejich věk se pohyboval v rozmezí od devíti měsíců do sedmi roků.

U 57 zvířat byly důvodem jejich eliminace z plemenitby poruchy sexuálních funkcí. Tuto skupinu sledovaných zvířat bylo možné na základě zjištěných nálezů rozčlenit na dvě subkategorie. První podskupinu (24 kanců) představovala zvířata s odchylkami kvality ejakulátu (vysoké procento patologických spermií, snížená motilita nebo koncentrace spermií) a dále plemeni se sníženou oplozovací schopností. Druhá subkategorie (33 kanců) zahrnovala případy poruch *potentiae coeundi*, představující především redukci až úplnou ztrátu *libida sexualis*, a dále poruchy erekce.

U zbývajících 43 kanců nebyly shledány klinicky zřejmé defekty sexuálních funkcí. Důvodem jejich vyřazování z plemenitby byly nejčastěji chovatelské a provozně-organizační důvody (26 případů) a dále vady pohybového aparátu (17 zvířat). Kanci z této kategorie s nenarušenou pohlavní aktivitou a oplozovací schopností umožňují srovnávat výsledky testikulární inkrece před aplikací a po aplikaci LH-RH s nálezy u zvířat postižených poruchami pohlavních funkcí.

Funkční aktivitu systému hypofýza – varle jsme posuzovali hodnocením testikulární inkrece sledovaných zvířat před aplikací LH-RH a po ní. Ve všech studovaných případech bylo použito shodné uspořádání aplikovaného funkčního testu, vycházející z výsledků předběžného orientačního pokusu. Po odběru krve z *v. cava cranialis* k analýze bazální koncentrace testosteronu byl bezprostředně i.v. injikován 1 mg syntetického LH-RH v podobě vývojového preparátu „Luliberin“ (Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii v Praze). Za 90 minut po aplikaci jsme odběr krve opakovali a v krevní plazmě jsme znovu stanovili koncentraci testosteronu, abychom zjistili odpověď inkreční složky varlat na podaný LH-RH, podmíněnou stimulací nadřazených center testikulární inkrece aplikovaným působkem.

Koncentraci testosteronu v krevní plazmě jsme stanovili kompetitivní vazbou na bílkovinu modifikovaným postupem podle Hortona aj. (1967) a Hampla aj. (1970).

Ke statistickému rozboru rozdílů hladin testosteronu mezi jednotlivými skupinami zvířat jsme použili Studentova *t*-testu.

VÝSLEDKY

Vyhodnocení bazálních hladin testosteronu u kanců bez sexuálních poruch, dále u celé skupiny zvířat se změnami pohlavních funkcí, jakož

I. Efekt aplikace LH-releasing hormonu (LH-RH) na hladiny testosteronu (T) v krevní plazmě kanců s poruchami sexuálními funkcí ve srovnání se zvířaty bez pohlavních dysfunkcí — The effect of LH-releasing hormone application (LH-RH) on the levels of testosterone (T) in the blood plasma of boars with the sexual dysfunctions in comparison with animals without any sexual dysfunctions

Kategorie a subkategorie zvířat	Počet zvířat	ngT na 100 ml plazmy před aplikací LH-RH		ngT na 100 ml plazmy po aplikaci LH-RH		Efekt LH-RH (v % předaplikačních hladin T)
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
Bez poruch sexuálními funkcí	43	452,52	522,33	902,59	824,57	+99,46
Celkově poruchy sexuálními funkcí	57	623,76	844,12	1034,46	1098,67	+65,84
Poruchy kvality ejakulátu, nízká plodnost	24	463,99	310,35	744,43	544,92	+60,44
Poruchy <i>potentiae coeundi</i>	33	753,62	1065,13	1218,12	1351,67	+61,64

i u podskupiny kanců s odchylkami kvality ejakulátu a plodnosti a u subkategorie zvířat se závadami *potentiae coeundi* shrnuje tab. I. Statistický rozbor ukázal, že rozdíly bazálních hladin testosteronu celé skupiny, resp. obou uvedených podskupin kanců s poruchami sexuálními funkcí a zvířat bez pohlavních dysfunkcí, nejsou signifikantní.

Aplikace LH-releasing hormonu měla za následek různou změnu koncentrace testosteronu u jednotlivých sledovaných skupin a podskupin zvířat (tab. I). U kanců bez poruch reprodukčních funkcí vzrostly za 90 minut po podání LH-RH bazální hladiny testosteronu v průměru o 99,46 %, přičemž tato změna hormonální koncentrace je statisticky vysoce signifikantní na 1% hladině významnosti. U celé skupiny kanců se závadami sexuálními funkcí činil průměrný přírůstek výchozích hormonálních hladin vcelku pouze 65,84 %, a tento vzrůst je statisticky signifikantní na 5% hladině významnosti. U jednotlivých subkategorií této skupiny zvířat se zvýšila předaplikační koncentrace plazmatického testosteronu u kanců s odchylkami kvality ejakulátu a nízkou plodností v průměru o 60,44 % (vzrůst hormonální koncentrace signifikantní na 5% hladině významnosti) a u zvířat s poruchami *potentiae coeundi* o 61,64 % (zvýšení statisticky nevýznamné).

DISKUSE

Z našich dřívějších výsledků je možné vyvodit, že hladina plazmatického testosteronu v krvi kanců je ukazatelem testikulární inkrece. Nasvědčuje tomu vysoký podíl varlat na celkové koncentraci cirkulujícího hormonu, vyplývající z výrazného poklesu hladiny testosteronu po bilaterální orchidektomií [Navrátil aj., 1975a; Navrátil a Hruška, 1978]. Proto jsme v tomto našem sledování při hodnocení

funkční kapacity osy hypofýza — varle rovněž použili uvedeného kritéria k vyjádření responze testikulární inkrece na aplikaci LH-RH.

Srovnáním bazálních hladin testosteronu před aplikací LH-RH u zvířat bez poruch sexuální funkcí a kanců s reprodukčními dysfunkcemi nebyly v tomto našem sledování zjištěny signifikantní rozdíly. V tomto směru můžeme dosažené výsledky plně srovnat s našimi dřívějšími nálezy (Navrátil aj., 1975b), kdy u kanců s odchylkami kvality ejakulátu a nízkou plodností, jakož i u plemeníků s poruchami sexuální potence nebyly ve srovnání s kanci bez defektů v sexuální oblasti zjištěny statisticky významné rozdíly bazální koncentrace testosteronu v periferní krvi. V citované práci rovněž rozvádíme i svůj názor na interpretaci tohoto poznatku a předkládáme rozbor údajů andrologické literatury. Tento přehled můžeme nověji doplnit výsledky Jackmana aj. (1977), kteří u mužů nenalezli vztahy mezi koncentrací spermií v ejakulátu a hladinami testosteronu v krevním séru. Na druhé straně však v poslední době Pierrepont aj. (1978) zjistili u infertilních mužů s poruchami kvality ejakulátu signifikantně nižší hladiny testosteronu a prolaktinu v krevní plazmě.

Při rozboru našich výsledků nepřihlížíme k otázce vlivu věku zvířat a efektu ročního období, jelikož tyto faktory v našem předchozím sledování u kanců nevykázaly za podobných podmínek signifikantní vliv na hladiny plazmatického testosteronu (Navrátil aj., 1975b). Obdobné nálezy jsme získali i při studiu exkrece neutrálních 17-ketosteroidů a estrogenů močí kanců (Navrátil a Matoušková, 1970).

Aplikace LH-RH měla v našem sledování za následek u skupiny kanců bez poruch sexuální funkcí vzestup předaplikačních hladin testosteronu v průměru téměř o 100 %, zatímco u celé skupiny a obou začleněných subkategorií zvířat s pohlavními dysfunkcemi se průměrný vzrůst hormonální hladiny pohyboval pouze od 60 do 65 %. U podskupiny kanců s poruchami potence nebylo navýš toto zvýšení statisticky významné. Vzrůst hladiny testosteronu po aplikaci LH-RH odpovídá nálezům početné řady prací u lidí, jakož i dosavadním poznatkům u zvířat, a to u minikanců (König a Elsaesser, 1974), beranů (Falvo aj., 1975), krys (Bruni aj., 1977), psů (Schörner aj., 1977), opic (Norman a Spies, 1977) a býků (Hruška aj., 1975; Chantaratapateep a Thibier, 1978). V případě sexuálních dysfunkcí byl sledován efekt LH-RH na hladiny testosteronu pouze u lidí, a to u Klinefelterova syndromu, opožděné puberty a tumorů hypofýzy (Wiegelmann aj., 1975; Smals aj., 1976; Roger aj., 1977), takže nemáme možnost srovnávat své nálezy s údaji jiných autorů. Nicméně však zjištění nižšího stimulačního efektu podaného LH-RH na hladinu plazmatického testosteronu u skupiny kanců s výskytem sexuálních dysfunkcí naznačuje, že u zvířat se změnami pohlavních funkcí, zvláště u narušené sexuální aktivity, existuje jako podřílející se etiologický moment snížená inkreční rezerva komplexu hypofýza — varle. Vzhledem ke skutečnosti, že v naší dřívější práci (Navrátil aj., 1975b) nebyly u zvířat se sexuálními poruchami nalezeny po stimulaci HCG odchylky inkreční rezervy intersticiálních buněk varlat, je možné předpokládat, že sníženou funkční kapacitu systému hypofýza — varle u sexuálních dysfunkcí kanců lze připsat především nadřazeným úsekům endokrinní složky samčí gonády. K potvrzení tohoto názoru by bylo

nutné vyšetřit hladiny gonadotropinů v rámci testu funkční rezervy hypofýzy po aplikaci LH-RH.

Autoři děkují ing. E. Kasafírkovi z Výzkumného ústavu pro farmaci a biochemii v Praze za přípravu a laskavé poskytnutí potřebného množství LH-releasing hormonu a Jasaně Paarové z VÚVeL v Brně za obětavou technickou spolupráci. Dále autoři děkují pracovníkům plemenářských a zemědělských podniků, jakož i příslušným veterinárním andrologům, kteří umožnili toto sledování.

Literatura

- BRUNI, J. F. — HUANG, H. — MARSHALL, S. — MEITES, J.: Effects of single and multiple injections of synthetic GnRH on serum LH, FSH and testosterone in young and old rats. *Biol. Reprod.*, 17, 1977, s. 309-312.
- FALVO, R. E. — BUHL, A. E. — REIMERS, T. J. — FOXCROFT, G. T. — DUNN, M. H. — DZIUK, P. J.: Diurnal fluctuations of testosterone and LH in the ram: effect of HCG and gonadotropin-releasing hormone. *J. Reprod. Fert.*, 42, 1975, s. 503-510.
- HAMPL, R. — RABOCH, J. — STÁRKA, L.: Stanovení testosteronu metodou vazby na protein a jeho hladina v mužské krevní plasmě. *Čas. Lék. čes.*, 109, 1970, s. 616-619.
- HORTON, R. — KATO, T. — SHERINS, R.: A rapid method for the estimation of testosterone in male plasma. *Steroids*, 10, 1967, s. 245-256.
- HRUŠKA, K. — FRÁNEK, M. — NAVRÁTIL, S. aj.: Funkce přídatných pohlavních žláz a biochemických vlastností semenné plasmy u býků. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975. 34 s.
- CHANTARAPRATEEP, P. — THIBIER, M.: Effects of dexamethasone on the responses of luteinizing hormone and testosterone to two injections of luteinizing hormone releasing hormone in young postpubertal bulls. *J. Endocr.*, 77, 1978, s. 389-395.
- JACKAMAN, R. — GHANADIAN, R. — ANSELL, I. D. — McLOUGHLIN, P. V. A.: Relationships between spermatogenesis and serum hormone levels in subfertile men. *Br. J. Obstet. Gynaec.*, 84, 1977, s. 692-696.
- KONIG, A. — ELSAESSER, F.: Neuere Erkenntnisse der Endokrinologie der Fortpflanzung und Laktation bei Haustieren-5. Folge: Endokrinologie der Sexualentwicklung. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 81, 1974, s. 273-296.
- NAVRÁTIL, S. — HRUŠKA, K.: Vliv bilaterální orchidektomie na hladiny testosteronu v krvi kanců. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978, s. 465-471.
- NAVRÁTIL, S. — HRUŠKA, K. — SCHLEGLOVÁ, J. aj.: Výzkum funkční testace testikulární inkrece k hodnocení androgenní aktivity u kanců. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975a. 56 s.
- NAVRÁTIL, S. — HRUŠKA, K. — SCHLEGLOVÁ, J. aj.: Testikulární inkrece u kanců s poruchami plodnosti. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975b. 25 s.
- NAVRÁTIL, S. — MATOUŠKOVÁ, O.: Výzkum vybraných biochemických kritérií androgenní aktivity u kanců k diagnostickým cílům. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1970. 78 s.
- NORMAN, R. L. — SPIES, H. G.: Serum LH, estradiol-17 β , and testosterone levels in fetal and infant monkeys after LHRH administration. In: Program and Abstracts 59th Annual Meeting Endocrine Society. Bethesda 1977, s. 132.
- PIERREPOINT, C. G. — JOHN, B. M. — GROOM, G. V. — WILSON, D. W. — GOW, J. G.: Prolactin and testosterone levels in the plasma of fertile and infertile men. *J. Endocr.*, 76, 1978, s. 171-172.
- ROGER, P. — DONNET, J. P. — MANCIET, G. — DUCASSOU, D. — RIVIERE, J.: Effects de la perfusion prolongée de LH-RH sur le taux de la testostérone chez l'homme normal et en pathologie. *Annls Endocr.*, 38, 1977, s. 387-388.
- SCHÖRNER, G. — CHOI, H. S. — BAMBERG, E.: Plasmatestosterongehalt beim Rüden nach Behandlung mit PMSG, HCG und LH-RH. *Wien. tierärztl. Mschr.*, 64, 1977, s. 153-156.

SMALS, A. G. H. — KLOPPENBORG, P. W. C. — LEQUIN, R. M. — BENRAAD, Th. J.: The effect of gonadotrophin releasing hormone on pituitary-gonadal function in Klinefelter's syndrome. Acta endocr., Copenh., 83, 1976, s. 829-838.
WIEGELMANN, W. — KLEY, H. K. — NIESCHLAG, E. — SOLBACH, H. G. — KRÜSKEMPER, H. L.: Diagnostic and therapeutic use of LH-RH in impaired gonadal function of males. Acta endocr., Copenh., 78, 1975, suppl. 193, s. 172-173.

Došlo dne 12. 6. 1979

НАВРАТИЛ, С. — ФОРЕЙТЕК, П. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Действие аппликации LH-releasing гормона на уровни тестостерона в крови хряков с расстройствами половых функций. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9): 525-530.

У 57 хряков с расстройством половых функций и у 43 хряков без половых дисфункций оценивали уровни тестостерона в кровяной плазме до и спустя 90 минут после внутривенного введения 1 мг синтетического LH-releasing гормона. Группа животных с половыми расстройствами охватывала хряков с отклонениями качества эякулята и с низкой плодовитостью (24 животных) и случаи с расстройствами половой потенции (33 хряка). У животных с изучаемыми изменениями половых функций мы по сравнению с хряками без сексуальных дисфункций не установили статистически значимых различий в базальной концентрации тестостерона в крови. Аппликация LH-releasing гормона вызывала достоверный подъем уровня тестостерона у группы хряков без расстройств половых функций в среднем на 99,5 %, а у всей группы животных с изменениями половых функций в среднем только на 65,8 %. Притом у подгруппы нарушения качества эякулята и низкой плодовитости послеаппликационный подъем тестикулярной инкреции достиг 60,4 %, в то время как у подгруппы с расстройством потенции он составлял 61,6 % и не был в последнем случае статистически значимым. На основе этих данных было выведено, что у группы хряков с воспроизводимыми отклонениями понижен внутрисекреторный резерв системы гипофиза — семенник и очевидно этот фактор и участвует в возникновении изучаемых половых расстройств. О достигнутых результатах ведется дискуссия с точки зрения прежних данных о внутрисекреторном резерве семенников у хряков с изменениями половых функций.

андрогены; конкуритивная связь; качество эякулята; *impotentia coeundi*; внутренняя секреция семенников; ось гипофиза — семенник

NAVRÁTIL, S. — FOREJTEK, P. (Veterinary Research Institute, Brno): The Effect of LH-releasing Hormone Application on Testosterone Levels in the Blood of Boars with Sexual Dysfunctions. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9): 525-530.

The levels were assessed of testosterone in the blood plasma before and 90 minutes after i. v. application of 1 mg of synthetic LH-releasing hormone to 57 boars with disorders of sexual functions and to 43 boars without sexual dysfunctions. The group of animals with sexual disorders included boars with inferior ejaculate quality and low fertility (24 animals) and cases with disturbed sexual potency (33 boars). In animals with the studied changes of sexual functions, compared with boars without sexual dysfunctions, no statistically significant difference was found in the basal concentration of testosterone in the blood. LH-releasing hormone application increased significantly the testosterone levels in the group of boars without sexual disorders by 99.5 % on an average and in the whole group of animals with changes in sexual functions approximately by only 65.8 %. At the same time in the subgroup of inferior ejaculate quality and low fertility the post-application increase of testicular incretion reached 60.4 % and in potency disorders 61.6 % and was statistically insignificant in the latter. On the basis of these findings it was derived that in boars with reproduction deviations there existed a decreased incretion reserve of the system hypophysis — testicle and the involvement of this factor in the formation of the studied sexual disorders is assumed. The obtained results are discussed in view of the earlier findings about the incretion reserve of the testicles in boars with changes in sexual functions.

androgens; competitive binding; ejaculate quality; *impotentia coeundi*; testicular incretion; hypophysis — testicle axis

Adresa autorů:

MVDr. Stanislav Navrátil, CSc., MVDr. Pavel Forejtek,
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

ÚČINEK VYSOKÝCH DÁVEK AFLATOXINU NA ORGANISMUS PRASAT

J. Drábek, R. Halouzka, A. Piskač

DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — PISKAČ, A. (Vysoká škola veterinární, Brno): Účinek vysokých dávek aflatoxinu na organismus prasat. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 531-542.

Ve dvou pokusech jsme 18 prasatům podali krmivo kontaminované aflatoxinem, který byl připravený extrakcí kultur toxinogenních kmenů plísní *Aspergillus flavus*. Po příjmu aflatoxinu (AFB₁) v dávce 5,4 až 10,5 mg kg⁻¹ živé hmotnosti prasat došlo k perakutní aflatoxikóze a k úhynu prasat za 12 až 20 hodin. Po příjmu AFB₁ v dávce 1,4, resp. 3,1 mg kg⁻¹ živé hmotnosti byla vyvolána akutní aflatoxikóza a prasata hynula za 3 až 26 dní po podání kontaminovaného krmiva. Při těchto experimentálních aflatoxikózách byly popsány klinické příznaky, hematologické a biochemické změny v krvi i patologicko-anatomické a histologické nálezy v organismu prasat.

prasata; experimentální aflatoxikóza, perakutní a akutní průběh; diagnostika klinická a laboratorní

Jednou ze závažných příčin snižování efektivnosti živočišné výroby mohou být ztráty způsobené zkrmováním krmiv, která obsahují toxické metabolity plísní. Zvláštní pozornost je věnována skupině toxických metabolitů plísní z rodu *Aspergillus*, které byly označeny jako aflatoxiny.

Aflatoxiny jsou metabolickými produkty některých kmenů plísní *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Chemicky jsou to deriváty difuroyl-kumarinu a v současné době již známe celkem třináct typů — B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂, P₁, B_{2a}, G_{2a}, B₃, R₀, GM₁ a Q₁, jejíž strukturní vzorce uvádí Ciegler (1975). Všechny známé typy aflatoxinů jsou nízkomolekulárními látkami (mol. hmotnost 312–346) a nemají vlastnosti antigenů (Bösenberg, 1973). Jsou rozpustné v organických rozpouštědlech, zejména pak v chloroformu, metanolu a acetonu (Butler a Cliford, 1965; Wogan, 1966; Frank, 1966 a jiní).

Mezi základní plísňové metabolity patří aflatoxiny B₁, které jsou vysoce toxické, dále pak G₁ a B₂. Nejméně biologicky aktivní je aflatoxin G₂ (Adam, 1974). Cysewski aj. (1968) prokázali, že celkový toxický účinek chloroformového extraktu plísně *Aspergillus flavus* je stejně biologicky účinný jako odpovídající množství purifikovaného aflatoxinu B₁.

Aflatoxiny jsou pro všechna zvířata vysoce hepatotoxickou a pro některé druhy také hepatokarcinogenní látkou. Známý je také účinek imunosupresivní (Pier aj., 1971; Pier, 1973), teratogenní a mutagenní (Bösenberg, 1970; Friedman a Staub, 1977).

K metabolické přeměně aflatoxinu dochází primárně v jaterních buňkách, ve kterých bylo prokázáno, že vzniklé metabolity aflatoxinu reagují s nukleovými kyselinami a ovlivňují všechny stupně proteosyntézy, vážou se na proteiny a vy-

volávají i morfologické změny některých buněčných organel (Swenson aj., 1976).

Prasata jsou považována za zvířata středně citlivá k účinkům aflatoxinů, a to v pořadí: sající selata, odstavená selata, březí prasnice a prasata ve výkrmu. Aflatoxikózu u prasat experimentálně studovali například Newberne (1973), Piskač aj. (1971), Edds (1973).

Bylo prokázáno, že aflatoxiny v krmivu vyvolaly v několika případech hromadné onemocnění a hynutí prasat v našich velkochovech (Piskač aj., 1976). Proto jsme věnovali této problematice pozornost, abychom mohli vymezit podíl těchto toxických plísňových metabolitů na zhoršování zdravotního stavu prasat a na snižování efektivnosti výroby vepřového masa. Závažnost této problematiky vystává také ze zjištění, že při vyšetření krmiv pro prasata byla ve 26,8 % vzorků prokázána přítomnost aflatoxinů (Piskač a Drábek, 1978). Zjištěné koncentrace aflatoxinů dosahovaly ve vyšetřených vzorcích hodnot až 2,7 a až 3,5 mg kg⁻¹ krmiva. Vzorky s nejvyšší koncentrací pocházely z kovových zásobníků kompletních krmných směsí, umístěných před halami pro chov a výkrm prasat.

MATERIÁL A METODY

AFLATOXIN

Aflatoxin byl připraven extrakcí kultur plísní *Aspergillus flavus*, a to z laboratorních standardních toxinogenních kmenů ATTC 15517, IMI 89417, IMI 89717, IMI 91019 a z kmene izolovaného z krmiva pro prasata (Zapletal aj., 1976). Abychom plísně pomnožili a získali co největší množství aflatoxinu, kultivovali jsme na sterilních, destilovanou vodou zvlhčených (v poměru 1:1) Karlovarských sucharech při laboratorní teplotě 18 až 20 °C po dobu 10 dní. Narostlé plísňové kultury byly extrahovány chloroformem. Množství aflatoxinů v hrubém chloroformovém extraktu jsme přepočítali na biologicky neaktivnější aflatoxin (AFB₁). Získané údaje o fyzikálně-chemické charakteristice byly v plné shodě s klasickou charakteristikou AFB₁. Toxicitu jsme ověřili biologickým pokusem na jednodenních kachňatech. Ke studiu biologického účinku aflatoxinu na organismus prasat jsme použili hrubý chloroformový extrakt, který obsahoval AFB₁ v množství 4,0 mg ml⁻¹ a ostatní deriváty aflatoxinů v množství 1,5 mg ml⁻¹. Kvantitativně jsme aflatoxiny stanovili metodou podle Velasca (Velasco, 1970).

POKUSNÁ PRASATA

Cílem pokusů bylo studium účinku aflatoxinu na organismus prasat a zjištění možnosti vzniku a průběhu klinického onemocnění po příjmu kontaminovaného krmiva.

V prvním pokusu jsme použili osmi prasat plemene landrase o živé hmotnosti 19,0 až 37,0 kg, z nichž každému bylo jednorázově podáno do 0,5 kg kompletní krmné směsi pro selata (ČOS II) 200,0 mg AFB₁. Tato krmná dávka byla všemi prasaty spontánně přijata. V přepočtu na živou hmotnost prasat jsme v tomto pokuse použili dávky AFB₁ v rozmezí 5,4 až 10,5 mg kg⁻¹.

Ve druhém pokusu jsme použili 14 prasat plemene landrase o průměrné hmotnosti 22,3 ± 2,0 kg. Aflatoxin jsme pokusné skupině deseti prasat podali jednorázově do krmiva (ČOS II) v průměrné dávce AFB₁ 1,4 mg kg⁻¹ živé hmotnosti. Čtyři prasata byla kontrolní. Prasatům, která po této dávce kontaminovaného krmiva neuhynula, byl aflatoxin opakovaně podán 12. den pokusu v dávce AFB₁ 3,1 mg kg⁻¹ jejich hmotnosti.

POUŽITÉ METODY VYŠETŘENÍ PRASAT

Zdravotní stav prasat jsme sledovali klinickým, hematologickým a biochemickým vyšetřováním, zjišťováním živé hmotnosti a spotřeby krmiva. V krevní plazmě jsme určovali aktivitu alkalické fosfatázy (AF), transaminázy glutamoxalacetové (GOT) a glutamopyrohroznové (GPT), fotometricky s použitím soupravy BioLA Test, fy. Lachema, Brno. Aktivita celkové laktátdehydrogenázy (LDH) jsme stanovili fotometricky testem fy. Imuna, Šarišské Michaľany. Aktivitu všech enzymů

jsou vyjádřeny v I. U. 1-1. Současné jsme v krevní plazmě sledovali hladinu celkového bilirubinu, celkové bílkoviny (CB) a močoviny s použitím soupravy BioLA Test. Hladinu glukózy v krevní plazmě jsme stanovili enzymatickou metodou na přístroji Beckman-Glukose-Analyser.

Prasata, která v průběhu pokusů uhynula nebo byla po skončení pokusů utrácena, jsme vyšetřili patologicko-anatomicky. Vzorky tkání jater, ledvin, CNS, žaludku, střev, sleziny, srdce a mízních uzlin mezenterálních jsme fixovali 10% formalinem, zpracovali histologickou technikou zaléváním do parafinu a barvili HE.

VÝSLEDKY

POKUS I

Po příjmu aflatoxinů krmivem jsme u prasat za jednu až tři hodiny pozorovali ospalost až úplnou apatii. Za 12 až 20 hodin po podání aflatoxinu uhynula všechna pokusná prasata. Při tomto perakutním průběhu nebyla prasata klinicky vyšetřena a nebyly zjišťovány klinicko-biochemické hodnoty v krevní plazmě.

Při pitvě však jsme sledovali makroskopické změny v játrech, která byla barevně změněná s ložisky červené až žluté barvy, a to jak na povrchu, tak také na řezu. Játra měla tuhou konzistenci. Stěna žlučového měchýře a celý jaterní hilus byl edematózně prosáklý. Různě rozsáhlé krváceniny byly zjišťovány na endokardu a epikardu. Na řezu nezvětšenými ledvinami jsme zjistili dystrofické změny. V dutině břišní jsme nacházeli zvýšené množství žlutě zbarvené tekutiny s příměsí fibrinu. V trávicím ústrojí jsme zjišťovali akutní katarální a částečně až krvavý zánět žaludku, tenkého a zejména tlustého střeva. Mízní uzliny mezenterální byly zvětšené a silně překrvené.

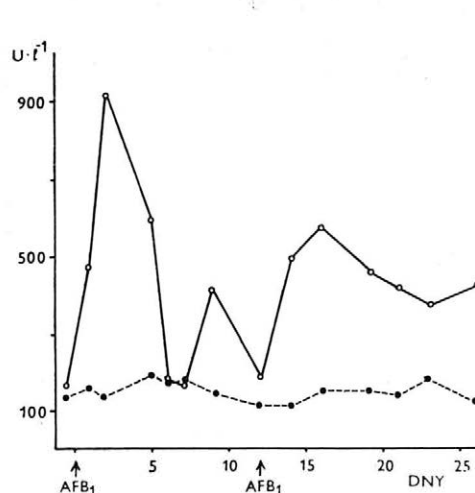
Histologickým vyšetřením jsme v jaterním parenchymu zjišťovali těžké toxické poškození jaterních lalůček. Mezibuněčné spoje byly narušeny a jaterní trámce byly značně disociovány. V histologickém obraze převyšovaly nekrotické změny jaterních buněk v rozsahu celých jaterních lalůček s pyknotickými změnami jader. Centrum lalůček, ze kterého zcela vymizely jaterní buňky, bylo vyplněno krví. Na periferii lalůček jsme nalézali zbytky nekroticky změněných jaterních buněk a ojediněle buňky se dvěma jádry. V zachovalých jaterních buňkách se ukládaly neutrální tuky. V ledvinách kanálkách byla výrazná vakuolizace epiteliálních buněk, jádra byla pyknotická a v některých buňkách došlo až k úplné karyolýze. V mozku bylo zjišťováno zduření endotelií a perivaskulární krváceniny s výrazným edémem.

POKUS II

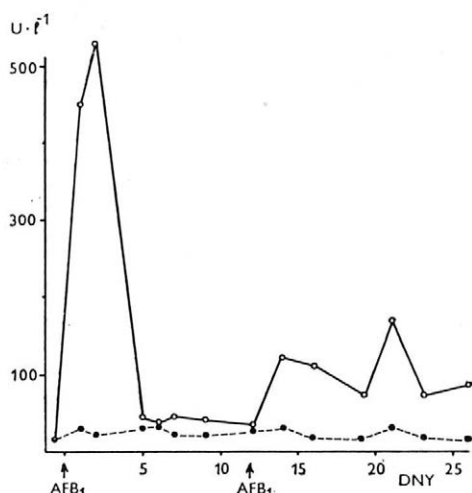
Již do 24 hodin po podání aflatoxinu jsme u všech pokusných prasat pozorovali výrazné nechutenství. Šest prasat za čtyři až osm hodin po příjmu kontaminovaného krmiva zvracelo. Od druhého dne měly výkaly prasat tuhou konzistenci, byly tmavě hnědé až černé. Tělesná teplota byla ve fyziologických hranicích. Dvě pokusná prasata uhynula třetí den a jedno čtvrtý den pokusu. Zbývajících sedm prasat zcela odmítalo příjem krmiva do pátého dne po podání aflatoxinů. Postupně začala přijímat krmiva (1/3 denní dávky) a chuť k příjmu potravy se v následujících dnech nadále zlepšovala. Za sedm dnů po podání AFB₁ jsme zjistili mírné ikterické zabarvení sliznice spojivek. Dvanáctý den pokusu byla

přežívajícím prasatům podána druhá dávka aflatoxinů. Již za dvě až tři hodiny po podání AFB₁ byla u všech prasat pozorována apatie a později nechutenství. Šest prasat uhynulo do 26 dnů od zahájení pokusu a jedno prase bylo při ukončení pokusu utraceno. Dva dny před uhynutím prasat byly pozorovány poruchy CNS a nekoordinovaná chůze s ataxií pánevních končetin. U pokusných prasat po příjmu aflatoxinu docházelo nejenom k zástavě růstu, ale i k poklesu jejich hmotnosti celkem o 9,8 kg. Průměrná denní spotřeba krmiva činila 0,57 kg. Kontrolní prasata dosáhla za sledované období průměrné živé hmotnosti 43,2 kg při denním přírůstku 0,609 kg a denní spotřebě 1,66 kg krmné směsi.

Hematologickým vyšetřením jsme zjistili leukocytózu, která trvala až do úhynu prasat. V diferenciálním rozpočtu leukocytů jsme konstatovali výraznou neutrofilií se současnou lymfopenií. Změny v počtu erytrocytů jsme nenalezli.



1. Aktivita AF v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a prasat kontrolních — AF activities in the blood plasma of the pigs after the administration of aflatoxin (AFB₁) and in the plasma of control pigs



2. Aktivita enzymu GOT v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a prasat kontrolních — The GOT enzyme activity in the blood plasma of pigs given aflatoxin (AFB₁) and control pigs

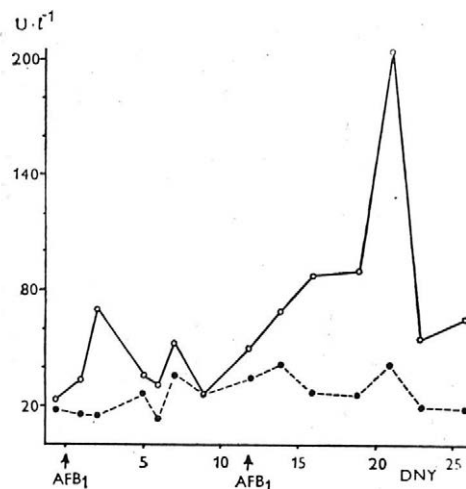
Poznámka k obr. 1–6:

pokusná skupina — — — — —

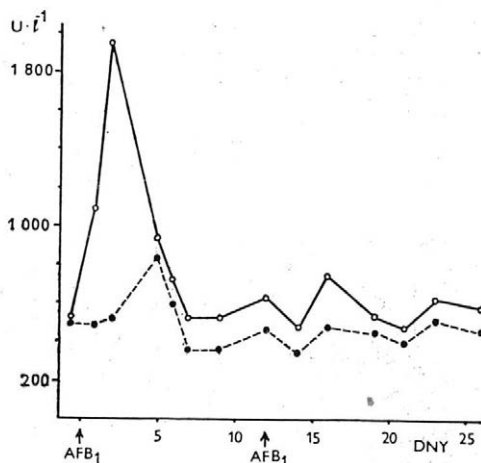
kontrolní skupina — — — — —

Počáteční hodnoty byly stanoveny 1.–5. den před aplikací aflatoxinů

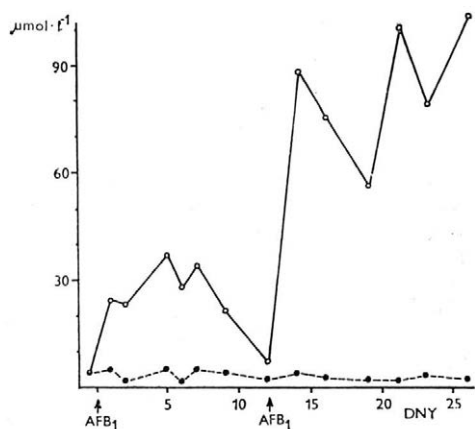
Výsledky klinicko-biochemických vyšetření jsou uvedeny v průměrných hodnotách v obr. 1 až 6. Ze srovnání hodnot v předpokusném a pokusném období vyplývá, že již za 24 hodiny po podání aflatoxinů se výrazně zvýšila aktivita sledovaných enzymů a celkového bilirubinu v krevní plazmě. Celková bílkovina krevní plazmy poklesla. Hladina glukózy kolísala v rozmezí fyziologických hodnot a hladina močoviny v krevní plazmě byla zvýšená pouze druhý až pátý den pokusu.



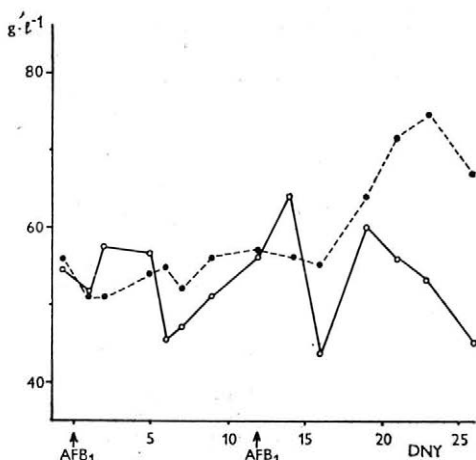
3. Aktivita enzymu GPT v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a prasat kontrolních — The GPT enzyme activity in the blood plasma of pigs given aflatoxin (AFB₁) and control pigs



4. Aktivita celkové LDH v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a kontrolních prasat — The total LDH activity in the blood plasma of pigs given aflatoxin (AFB₁) and control pigs



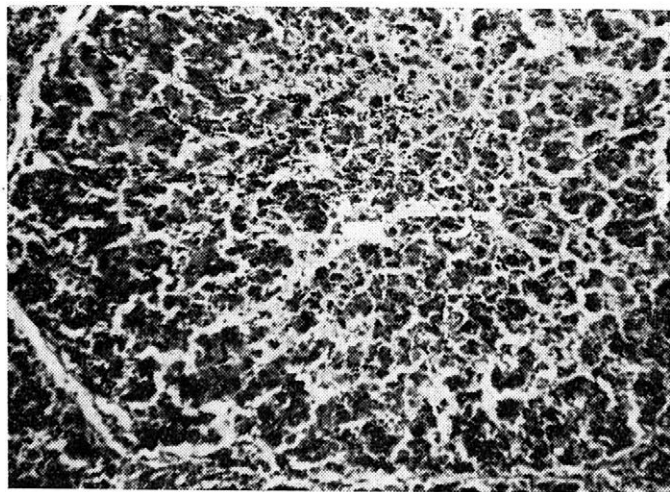
5. Průměrné hodnoty celkového bilirubinu v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a kontrolních prasat — The average values of total bilirubin in the blood plasma of pigs given aflatoxin (AFB₁) and control pigs



6. Průměrné hodnoty celkové bílkoviny v krevní plazmě prasat po podávání aflatoxinu (AFB₁) a kontrolních prasat — The average values of total protein in the blood plasma of pigs given aflatoxin (AFB₁) and control pigs

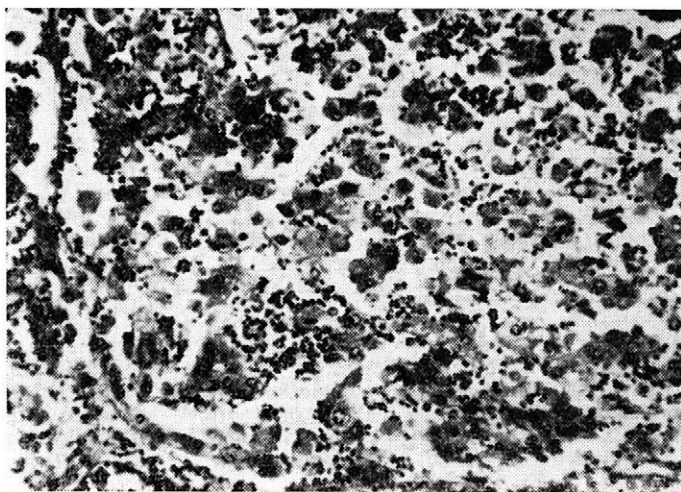
Patologicko-anatomický obraz akutní aflatoxikózy u prasat je vyjádřením změn vyplývajících z těžkého toxického poškození jaterního parenchymu a ledvin. Játra byla zmenšená, měla tuhou konzistenci v některých případech ložiskově nebo difúzně žlutooranžové barvy, kresba jaterních lalůčků byla zvýrazněná, s červenými centry a žlutou periferií. Nález byl také charakterizován rozsáhlou hemorrhagickou diaté-

zou, zejména na srdci v okolí koronárních cév, na pleuře, na seróze střev, ve svalovině a v mízních uzlinách mezenterálních. Podle rozsahu poškození jater jsme zjišťovali ve tkáních různý stupeň ikteru. Charakteristickým nálezem byl také edém stěny žlučového měchýře, perirektálního vaziva, mezenterálních mízních uzlin a mozgových plen. Ledviny byly v různém stupni dystroficky změněné. V trávicím ústrojí jsme našli hemorragický zánět s různě rozsáhlou melaenou.



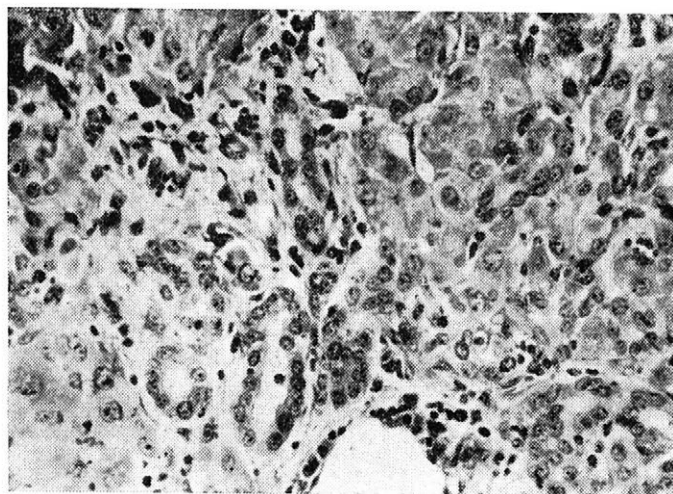
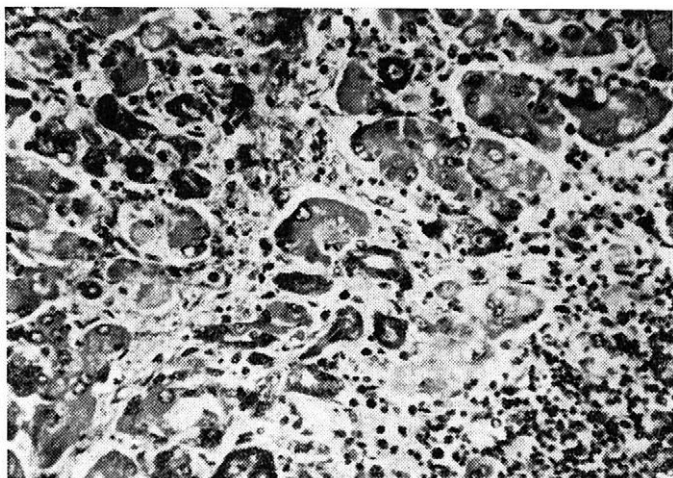
7. Jaterní lalůček s centrální nekrózou jaterních buněk. Barveno HE, zvětšení 200× — A liver lobe with central necrosis of hepatic cells. Stained with HE, magnified 200 times

8. Detail obr. 7. Buněčná drť a zbytky jaterních buněk v centru lalůčku, jaterní sinusoidy přeplněné krví. Barveno HE, zvětšení 350× — A detail of Fig. 7. Crushed cells and remains of hepatic cells in the centre of the lobe, hepatic sinusoids congested. Stained with HE, magnified 350 times



Histologickým vyšetřením jater jsme zjistili centrolobulární nekrózy vyplněné krví (obr. 7). V centru lalůčků byla buněčná drť z jaterních buněk v síti krevních sinusoid. Jaterní trámce byly rozpadlé a sinusoidy byly přeplněny krví (obr. 8). Na okraji nekrózou postižených částí lalůčků jsme zjistili kulatojadernou zánětlivou infiltraci. Při protrahova-

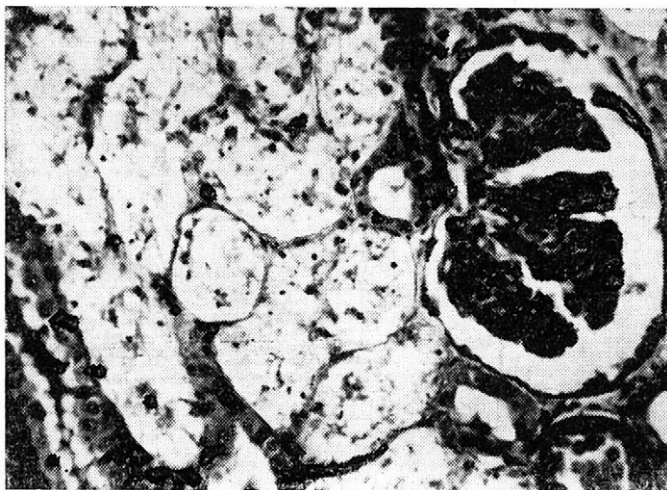
9. Počínající proliferace epiteliálních elementů, tvořící rudimentární žlázová lumina. Vpravo dole zánětlivá celulizace lymfoidními buňkami. Barveno HE, zvětšení 350× — Starting proliferation of epithelial elements forming rudimentary glandular lumina. Right below: inflammatory cellulization with lymphoid cells. Stained with HE, magnified 350 times



10. Formované žlučové pakanálky v centru jaterního lalůčku. Barveno HE, zvětšení 450× — The formed bile pseudocanals in the centre of the liver lobe. Stained with HE, magnified 450 times

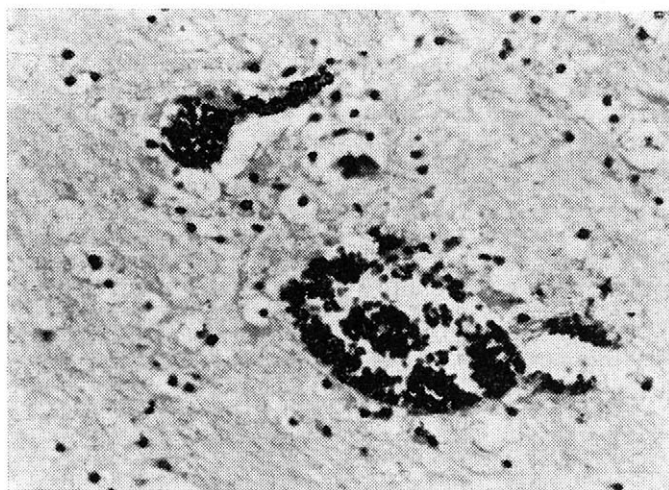
nějším průběhu jsme zjišťovali již výraznější zánětlivé reakce (obr. 9) a počínající proliferaci vazivových elementů v interlobulární tkáni. Souběžně s těmito změnami jsme pozorovali na periférii i v centru lalůček proliferaci epiteliálních elementů, zjevně se lišících od jaterních buněk barvitelností plazmy a jádra. V některých lalůčcích tvořily tyto elementy rudimentární žlázová lumina, jinde byly uspořádány v solidních pružích (obr. 10). V subakutních případech převažovaly tyto epiteliální buňky tvořící tzv. pakanálky nad jaterními buňkami.

Na epiteliálních buňkách ledvinových kanálků prvního řádu byla nápadná vakuolizace cytoplazmy (obr. 11). V některých kanálcích byl pozorován až obraz cystické dilatace. V mozkové tkáni byly zjištěny známky narušené permeability cév, spočívající v perivaskulárních krváceninách a v mozkovém edému (obr. 12).



11. Vakuolizace plazmy výstelky ledvinných kanálků, místy až nekróza epitelu. Barveno HE, zvětšení 400 $\times$ — Vacuolization of epithelial plasma of renal canals, sometimes necrosis of the epithelium. Stained with HE, magnified 400 times

12. Edém mozkové tkáně s perivaskulárními krváceninami. Barveno HE, zvětšení 400 $\times$ — Oedema of the cerebral tissue with perivascular haemorrhages. Stained with HE, magnified 400 times



DISKUSE

V práci jsou popsány symptomy perakutní a akutní aflatoxikózy prasat. Byly použity poměrně vysoké dávky aflatoxinů v krmivu, které vyvolaly úhyn prasat za různě dlouhou dobu po příjmu kontaminovaného krmiva. Klinické příznaky umožňují vyslovit podezření na aflatoxikózu, kterou je třeba potvrdit toxikologickým vyšetřením krmiva a u uhynulých prasat zhodnocením patologicko-anatomického a histologického nálezu, resp. průkazem aflatoxinu B₁ nebo jeho metabolitů v parenchymatozních orgánech, zejména však v játrech. V jaterní tkáni byla v některých případech stanovena rezidua aflatoxinů; výsledky budou zveřejněny v jiné práci.

Lze předpokládat, že hrubý chloroformový extrakt aflatoxinu, použitý v pokusech, obsahoval kromě aflatoxinu B₁ i další typy aflatoxinů,

produkovaných plísní *Aspergillus flavus*, jako je typ B₂, G₁ a G₂ (Wogan, 1966; Ciegler, 1975), které však mají nižší biologickou aktivitu a jsou zpravidla produkovány v menším množství než aflatoxin B₁ (Goldblatt, 1969; Bösenberg, 1970).

Průběh onemocnění aflatoxikózou u prasat je pravděpodobně závislý na množství a zejména na délce přisunu aflatoxinů do organismu. Při aflatoxikóze prasat nejsou zjišťovány specifické klinické příznaky, na jejichž základě by bylo možné spolehlivě stanovit diagnózu. V našich pokusech jsme nezjistili u prasat při akutní aflatoxikóze zvýšení tělesné teploty, tak jak např. uvádějí Cysewski aj. (1968) a Piskač aj. (1976).

Při perakutních a akutních intoxikacích dochází k velmi závažným změnám jater, které mají za následek narušení jejich normální funkce. Významnou pomocnou diagnostickou metodou může být stanovení aktivit profilových enzymů v krevní plazmě, a to zejména z hlediska možného poškození jater. V literatuře není mnoho údajů o aktivitě enzymů a jejich dynamice v krvi při akutní aflatoxikóze u prasat. Zvýšené aktivity zjišťovali při aflatoxikózách u domácích zvířat Harding aj. (1963), Annau aj. (1964), Cysewski aj. (1968), Gumbmann a Williams (1969) a Bouda aj. (1977). V našich pokusech byly velmi významně zvýšeny při akutní až subakutní aflatoxikóze enzymy AF (5,8×), GOT (30×), GPT (9×) a LDH (3,7×). Za kritérium pro posouzení zvýšených aktivit enzymů byly v práci brány výchozí hodnoty před aplikací, hodnoty kontrolních prasat a hodnoty (včetně jejich rozmezí) udávané autory Hyldgaard — Jensen (1971), Flückiger (1977), Kaneko a Cornelius (1970).

Zvýšené hodnoty enzymů v krevní plazmě nemusí svědčit jenom o narušené funkci jaterního parenchymu, neboť mnohé enzymy mohou být do krve uvolňovány i z jiných tkání. Platí to zejména o enzymu AF a celkové LDH, u nichž by stanovení izoenzymů poskytlo přesnější obraz o intenzitě poškození jednotlivých tkání organismu. Z výsledků pokusů však vyplývá, že při akutních aflatoxikózách má v diagnostice význam i stanovení aktivit uvedených enzymů a celkového bilirubinu v krevní plazmě.

Hematologický nález zjištěný při akutní aflatoxikóze prasat je v soulase s výsledky Cysewského aj. (1968).

Výsledky patologicko-anatomického a histologického vyšetření, zejména jater a ledvin pokusných prasat, odpovídají v literatuře uváděným charakteristikám změn těchto orgánů při aflatoxikóze laboratorních a některých domácích zvířat (Kraybill, 1969; Goldblatt, 1969; Cysewski aj., 1968; Bösenberg, 1970, 1973; Newberne, 1973; Edds, 1973; Piskač aj., 1975, 1976). To se týká zejména nálezu nekrotických změn, infiltrátů a především nálezu proliferace žlučových duktů. Při působení aflatoxinů se s postupem toxického vlivu a zřejmě poruchy dýchání buněk ukládají také neutrální tuky v jaterních buňkách. Přitom se zvláště centra jaterních lalůček, se ztrátou jaterních trámců, vyplňují krví a postupně reaktivně celulizují lymfoidními buňkami a makrofágy. Poškození ledvin odpovídá rovněž změnám, které zjišťujeme u nefrotoxického působení, kdy dochází k nefróze v důsledku tukové dystrofie epiteliálních buněk a k dalším nekrobiotickým změnám.

Hemorrhagická diatéza je pravděpodobně způsobena tím, že těžce poškozená játra nejsou schopna produkovat protrombin. Příznakem poškození mozkové tkáně je silný edém a petechiální krváceniny, způsobené povšechnou poruchou vnitrobuněčných enzymatických reakcí spojenou zřejmě také s retencí amoniaku ve tkáních, který poškozená játra nestačí detoxikovat.

Závěrem je však třeba poznamenat, že patologicko-anatomické změny při aflatoxikóze prasat nejsou specifické a je možné se s nimi setkat při všech otravách způsobených převážně hepatotoxickými látkami. Změny způsobené na jiných orgánech jsou pak více nebo méně důsledkem těžkého poškození jater. Diagnostický význam má průkaz aflatoxinu v jaterní tkáni, v obsahu trávicího ústrojí a v krmivu.

Poděkování: Za technickou pomoc při biochemickém vyšetřování děkujeme pracovníkům katedry diagnostiky, terapie a prevence.

Literatura

- ADAM, S. E. I.: Hepatotoxic activity of plant poisons and mycotoxins in domestic animals. *Vet. Bull.*, 44, 1974, s. 767-776.
- ANNAU, E. — CONNER, A. H. — MAGWOOD, S. E. — JERICHO, K.: Electrophoretic and chemical studies on sera of swine following the feeding of toxic groundnut meal. *Can. J. comp. Med.*, 28, 1964, s. 264-270.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — PISKAČ, A. — ONDROVÁ, J. — ZAPLETAL, O.: Změny v aktivitě enzymů při experimentální aflatoxikóze dojníc. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977, č. 3, s. 137-142.
- BOSENBERG, H.: Effect and importance of mycotoxins. *Zentbl. Bakt. ParasitKde.*, 212, 1970, s. 222-224.
- BOSENBERG, H.: Aflatoxinwirkung bei Tier und Mensch. *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 151, 1973, s. 245-249.
- BUTLER, W. H. — CLIFFORD, J. J.: Extraction of aflatoxin rat liver. *Nature*, 206, 1965, s. 1045-1046.
- CIEGLER, A.: Mycotoxins: Occurrence, chemistry, biological activity. *Lloydia*, 38, 1975, č. 1, s. 21-35.
- CYSEWSKI, S. J. — PIER, A. C. — ENGSTROM, G. W. — RICHARD, J. L. — DOUGHERTY, R. W. — THURSTON, J. R.: Clinical pathologic features of acute aflatoxicosis of swine. *Am. J. vet. Res.*, 29, 1968, č. 8, s. 1577-1590.
- EDDS, G. T.: Acute aflatoxicosis. A review. *J. Am. vet. med. Ass.*, 162, 1973, č. 4, s. 304-309.
- FLUCKIGER, M.: Enzymaktivitäten in Serum und Organen des jungen Schweines. *Zentbl. VetMed.*, A, 24, 1977, č. 3, s. 195-204.
- FRANK, H. K.: Aflatoxins in Lebensmitteln. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 17, 1966, s. 237-242.
- FRIEDMAN, M. A. — STAUB, J.: Induction of micronuclei in mouse and hamster bone-marrow by chemical carcinogens. *Mut. Res.*, 43, 1977, č. 2, s. 255-262.
- GOLDBLATT, L. A.: Aflatoxin. Scientific background, control and implications. New York, London, Academic Press 1969. 472 s.
- GUMBMANN, M. R. — WILLIAMS, S. N.: Biochemical effects of aflatoxin in pigs. *Toxic. appl. Pharmac.*, 15, 1969, s. 393-404.
- HARDING, J. D. — aj.: Experimental groundnut poisoning in pigs. *Res. vet. Sci.*, 4, 1963, s. 217-229.
- HYLDGAARD-JENSEN, J. F.: Lactate dehydrogenase in pigs. *Kopenhagen, Munksgaard* 1971. 220 s.
- KANEKO, J. J. — CORNELIUS, C. E.: Clinical biochemistry of domestic animals. New York, Academic Press 1970, vol. I. 440 s.
- KRAYBILL, H. F.: Review of the toxicology and epidemiology of mycotoxins. *Trop. geogr. Med.*, 21, 1969, s. 1-18.
- NEWBERNE, P. M.: Chronic aflatoxicosis. *J. Am. vet. med. Ass.*, 163, 1973, s. 1262-1267.
- PIER, A. C. — HEDDLESTON, K. L. — BONEY, W. A. — LUKERT, P. D.: The

effect of aflatoxin on immunity. In: Proceedings 19th World Vet. Congress, Mexico City, 1, 1971, 216-219 s.

PIER, A. C.: Effects of aflatoxin on immunity. J. Am. vet. med. Ass., 163, 1973, č. 11, s. 1268-1269.

PISKAC, A. — ZAPLETAL, O. — ZIMA, S. — KRÍŽ, H.: Chemický průkaz aflatoxinu a sledování jeho účinku na metabolismus zvířat. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární. 1971. 63 s.

PISKAC, A. — ZAPLETAL, O. — MALÁ, J.: Sledování účinku a toxicity metabolitů některých plísní na organismus zvířat a jejich metabolické funkce a využití poznatků v diagnostice a prevenci. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975.

PISKAC, A. — ZAPLETAL, O. — DRAŽAN, J., ml. — DRAŽAN, J. — DRÁBEK, J. — JERÁBEK, J. — ČERNÝ, L. — GROCH, L. — ROŽEK, J.: Záchyt a průkaz aflatoxikózy prasnic ve velkochovu. Veterinářství, 26, 1976, s. 120-122.

PISKAC, A. — DRÁBEK, J.: Výskyt aflatoxinů v krmivech pro prasata. Vet. Med., Praha, 23, 1978, č. 7, s. 437-446.

SWENSON, D. — MILLER, J. — MILLER, E.: The reactivity and carcinogenicity of aflatoxin B₁ — 2,3-dichloride a model for the putative 2,3 oxid metabolite of aflatoxin B₁. Cancer Res., 35, 1976, s. 3811-3823.

VELASCO, J.: Determination of aflatoxin in cottonseed by ferric hydroxide gel cleanup. J. Ass. off. analyt. Chem., 53, 1970, č. 3, s. 611-616.

WOGAN, G. N.: Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. Bact. Rev., 30, 1966, č. 2, s. 460-470.

ZAPLETAL, O. — PISKAC, A. — MALÁ, J. — DRAŽAN, J. ml.: Izolace toxigenního kmene plísně *Aspergillus flavus* a charakteristika produkovaných aflatoxinů. Vet. Med., Praha, 21, 1976, č. 6, s. 321-330.

—: Návod k použití přístroje Velasco Flurotoxin-meter, Neotec Instruments, INC, Linden Lane, Silver Spring, Maryland, USA.

Došlo dne 12. 3. 1979

DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — PISKAC, A. (Veterinářský institut, Brno): **Действие высоких доз афлатоксинов на организм свиней.** Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 531-542.

V dvouh опытах 18 свиням подавался корм, зараженный афлатоксином, приготовленным экстрагированием культур токсигенных штаммов плесени *Aspergillus flavus*. После получения афлатоксина (AFB₁) в дозе 5,4—10,5 мг/кг живой массы свиней был вызван очень острый афлатоксикоз; свињи погибли через 12—20 часов. После получения AFB₁ в дозе 1,4 или же 3,1 мг/кг живой массы был вызван острый афлатоксикоз и свињи погибли через 3—26 дней после подачи зараженного корма. При этих экспериментальных афлатоксикозах были описаны клинические признаки, гематологические и биохимические изменения в крови, а также патологоанатомические и гистологические диагнозы в организме свиней.

свињи; экспериментальный афлатоксикоз; очень острый и острый ход болезни; клиническая и лабораторная диагностика

DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — PISKAC, A. (University of Veterinary Medicine, Brno): **The Effect of High Aflatoxin Doses on the Swine Organism.** Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 531-542.

In two experiments, 18 pigs were given feed contaminated with aflatoxin which had been prepared by the extraction of the cultures of toxinogenic strains of the fungus *Aspergillus flavus*. After the ingestion of aflatoxin (AFB₁) at a dose of 5.4 to 10.5 mg per kg of live weight, the pigs showed symptoms of peracute aflatoxicosis and died within 12—20 hours. After ingestion of AFB₁ at a dose of 1.4 or 3.1 mg per kg live weight, the pigs suffered from acute aflatoxicosis and died within 3 to 26 days from the administration of the contaminated feed. In the cases of these experimental aflatoxicoses, clinical symptoms, haematological and biochemical changes in the blood and the patho-anatomical and histological findings in the swine organism were described.

swine; experimental aflatoxicosis; peracute and acute course; clinical and laboratory diagnostics

DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — PISKAČ, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Wirkung hoher Aflatoxingaben auf den Organismus der Schweine*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 531-542.

In zwei Versuchen mit 18 Schweinen wurde den Tieren ein mit Aflatoxin kontaminiertes Futter verabreicht. Das Aflatoxin wurde durch Extraktion von Kulturen toxischer *Aspergillus-flavus*-Stämme gewonnen. Nach Aufnahme des Aflatoxins (AFB₁) in Dosen von 5,4 bis 10,5 mg kg⁻¹ Lebendmasse der Schweine trat eine perakute Aflatoxikose auf und die Schweine verendeten innerhalb von 12 bis 20 Stunden. Nach Aufnahme von AFB₁ in Dosen von 1,4 bzw. 3,1 mg kg⁻¹ Lebendmasse wurde eine akute Aflatoxikose ausgelöst und die Schweine verendeten in 3 bis 26 Tagen nach Verabreichung des kontaminierten Futters. Bei diesen experimentellen Aflatoxikosen wurden die klinischen Symptome, die hämatologischen und biochemischen Veränderungen im Blut und die pathologisch-anatomischen und histologischen Befunde im Organismus der Schweine beschrieben.

Schweine; experimentelle Aflatoxikose; perakuter und akuter Verlauf; klinische und Labordiagnostik

Adresa autorů:

MVDr. Josef Drábek, CSc., MVDr. Roman Halouzka, doc. MVDr. Alois Piskač, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1–3, 612 42 Brno

ORGANOLEPTICKÉ A MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ ZADUŠENÝCH KAPRŮ SKLADOVANÝCH ZA RŮZNÝCH PODMÍNEK

J. Habrda, Z. Matyáš, J. Palásek, J. Gilka

HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — PALÁSEK, J. — GILKA, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Organoleptické a mikrobiologické vyšetření zadušených kaprů skladovaných za různých podmínek*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 543-550.

Proces kažení leklých tržních kaprů jsme sledovali v závislosti na podmínkách prostředí a úpravě ryb organoleptickými a mikrobiologickými metodami. Uvádíme schéma posouzení ryby podle příznaků a stanovujeme hranice údržnosti kaprů při skladování. Výsledky mikrobiologického vyšetření nebyly v souladu se stupněm zkázy ryb.

ryby; dynamika kažení; smyslové změny; skladovací medium; údržnost; mikrobiální počty

Čerstvá tržní sladkovodní ryba je konečný potravní produkt a současně i výchozí produkt pro další technologické zpracování. V našich podmínkách stále zůstávají živé sladkovodní ryby — především kapři — spíše sezóním produktem, což vede k tomu, že určité procento ryb, i při snaze dodržovat všechny zásady při výlovu, manipulaci a dopravě, hyne, nejčastěji zadušením. Tyto ryby je možné zpracovat pouze po předchozím veterinárním vyšetření (ČSN 46 6802, ON 57 5110), i když při správném ošetření a bezodkladném zpracování je leklá ryba považována z konzumního hlediska za stejně hodnotnou jako čerstvě zabitá (Dyka a Svoboda, 1952).

Při veterinárním vyšetření upotřebitelnosti leklých ryb je základem smyslové vyšetření. Laboratorní zkoušky chemické a mikrobiologické mají pouze pomocný význam, přestože u některých ukazatelů rozkladných procesů jsou uváděny závislosti, popřípadě hraniční hodnoty v souvislosti s procesem kažení ryby. Obecně lze metody použitelné pro stanovení čerstvosti ryb rozdělit na senzorické, fyzikální a chemické (Mills, 1975).

Při smyslovém vyšetření se užívá různých schemat, pomocí nichž se hodnotí vzhled, barva, konzistence a zápach celého těla ryby a jednotlivých částí, a podle dosažených výsledků se ryba zařazuje do jakostní třídy. Příkladem může být dlouhé a zkrácené bodové schéma posouzení používané v NSR (Ludorff a Meyer, 1973). V USA preferují instrumentální metody měření textury — Torry Fish Freshness Meter a Intelectron Fish Fester V. (Burt aj., 1976a, b). Angličané mají vypracované metody hodnotící celkový vzhled a pach.

V rámci komplexního výzkumu jakosti sladkovodních ryb jsme kromě vlivů životního prostředí na jakost masa sledovali dynamiku kažení tržních kaprů za

I. Obecná kritéria k posouzení čerstvosti ryb smyslově a jejich číselné ohodnocení – General criteria for assessing the freshness of the fish with the senses and their numerical evaluation

Sledované vlastnosti		A. Nález a jeho číselné ohodnocení					
		0	1	2	3	4	5
Kůže	hlen	průhledný	mléčný	neprůsvitný	chuchvalcovitý		nažloutlý a hustý 5
	pigmentace	duhová měnivá	výrazná barva	ztemnělá barva	matná	odbarvená	našedlá
Oko	odstín barev	zornička černě se lesknoucí, rohovka průhledná	zornička více matná, rohovka průhledná	rohovka opaleskující	zornice šedá, rohovka mléčná	bělavá barva	5
	ochabování	bulbus přiměřeně vyklenutý	trochu ochablé	ploché	v centru vpadlé	velmi vpadlé	5
Žábry	odstín barev	jasně zbarvené	matné	vybledlé	nažloutlé	našedlé	5
	pach	specifický neutrální	nasládlý	slabě žluklý	lehce hnilobný	hnilobný po sirovodíku a amoniaku	smrdutý (mrtvolný)
Rigidita těla		pevné 1 to odpovídá pevné a elastické svalovině, otisk prstu mizí	elastické	poddajné to odpovídá měkce ochablé svalovině, po stisku prstu zůstává dolík	měkké		chabé 5 to odpovídá svalovině změkklé, rozbředlé až kašovitě
Orgány a vzhled břišní dutiny		pevné, typicky zbarvené podle druhu, bez porušení závěsů, krev červená, lesklá	zřetelné, na okrajích změkklé, neostře ohraničené, krev matně červená		změkklé, krev bledě červená	těžko od sebe rozeznatelné, kašovitě až roztekklé, krev nahnědlá	
Pach		specifický neutrální	slabě nepříjemný	kyselý	zkyslý, více nebo méně po sirovodíku	amoniakální	hnilobný
Chuť (po tepelném opracování)		specifická zesíleně specifická	oslabeně specifická	papírovina	nasládlá, trochu natrpklá	hořká	odporná

B. Hodnocení výsledků	
Třída jakosti ryb	Průměrný počet bodů
AA	1,3 ($\pm 0,1$) nebo méně
A	více než 1,3 ($\pm 0,1$) až 2,0 ($\pm 0,1$)
B	více než 2,0 ($\pm 0,1$) až 3,0 ($\pm 0,2$)
C	více než 3,0 ($\pm 0,2$)

Poznámka:

Podle prostředí, v němž jsou ryby uchovávány, mají některé vlastnosti odlišný charakter. U ryb uchovávaných na vzduchu dochází ke ztrátě hleny, ztemnění a zmatnění pigmentace. Leklé ryby ponechané ve vodě jsou charakteristické větší produkcí hleny, nedochází ke ztemnění, pouze k matnutí a odbarvení.

Předpokladem správného posouzení a ohodnocení je dokonalá znalost sledovaných znaků a jejich variabilita nejen u různých druhů ryb, ale i u téhož druhu v souvislosti s fyziologickým stavem v době exitu.

různých podmínek. V této práci popisujeme výsledky smyslového a mikrobiologického vyšetření, zatímco výsledky chemického vyšetření jsou náplní jiné práce (Gilka aj., 1979).

MATERIÁL A METODY

K pokusům byli použiti tržní sádkovaní kapři, pocházející ze Státního rybářství, České Budějovice, odstěpný závod Pohořelice, nebo tržní kapři nakoupení v předvánočním období přímo z maloobchodní sítě. Ryby byly ponechány přes noc v nádrži s vodou. Pokud přes noc nelekly, byly zabity úderem do hlavy, ale nevykrveny. Část ryb byla po leknutí ponechána ve vodě, část byla ponechána na vzduchu bez úpravy nebo po úpravě. Úprava těl spočívala v odstranění těch částí, u nichž se předpokládá, že přispívají k rychlejšímu kažení. Rybám byly: 1. odstraněny žábry, 2. byly vykuchány, 3. byly odstraněny žábry, vykuchány a oškrabány. Proces kažení jsme sledovali při teplotě 15 až 20 °C do 48 hodin, při teplotě 6 až 10 °C po dobu 96 hodin, při teplotě +2 °C (± 1 °C) za 144 až 168 hodin. K organoleptickému posouzení byla modifikována dvě bodová schemata, popisovaná Goussetem aj. (1971), z nichž lépe se osvědčilo schéma uvedené v tab. I. Mikrobiologicky byly vyšetřovány ryby čerstvé, skladované při pokojové teplotě po dobu 48 hodin a skladované při chladírenské teplotě čtyři až šest dnů. Celkový počet mikrobů a počet koliformních mikrobů na povrchu a ve svalovině jsme zjišťovali podle ČSN 56 0100.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získané výsledky (tab. II) je možné shrnout do závěrů, které jsou platné pro zdravé, nezraněné ryby tržní hmotnosti, sádkované, pocházející z podzimních výlovů. Proces kažení se mnohem markantněji projevoval změnami na povrchu ryby než změnami vnitřních orgánů a částí. Rychlost kažení je téměř výhradně ovlivňována teplotou zevního prostředí, bakteriální kontaminace svaloviny přestupem ze střevního traktu je zřejmě pro údržnost ryby bezvýznamná. Zevní prostředí (vzduch nebo voda) neovlivňují významně výsledky smyslového hodnocení, i když po-

II. Průměrné výsledky smyslového hodnocení leklých kaprů při různých podmínkách skladování — Average results of sensory assessment of dead carp under different storing conditions

Teplota a skladovací médium	Čas v hodinách											
	4	8	12	24	36	48	60	72	96	120	144	168
15–20 °C - vzduch	1,0	1,1	1,5	2,0	2,4	2,9	3,4	—	—	—	—	—
15–20 °C - voda	0,9	1,2	1,6	2,1	2,6	3,1	3,7	—	—	—	—	—
6–10 °C - vzduch	0,9	1,1	1,3	1,8	2,0	2,3	2,7	2,9	3,2	—	—	—
6–10 °C - voda	1,0	1,3	1,5	2,1	2,3	2,6	2,8	3,1	3,4	—	—	—
2 °C - vzduch	0,6	0,8	1,2	1,3	1,3	1,4	1,6	2,0	2,2	2,6	2,8	3,0
2 °C - voda	0,6	0,7	1,0	1,1	1,3	1,6	1,8	2,0	2,4	2,7	2,9	3,2

sun hodnocených znaků (tab. I) je podle podmínek prostředí poněkud odlišný. Úpravy neprodlužují prokazatelně údržnost ryby a jeví se tedy z provozního hlediska jako neúčelné. Hmotnost ryby není podstatným faktorem pro rychlost kažení, i když ryby s větší tělesnou hmotností se zdají být v průměru údržnější.

Naše poznatky v podstatě souhlasí se sdělením Naira aj. (1974), kteří pro obchodně důležité druhy indických sladkovodních ryb uvádějí, že změny při skladování nejsou rozdílné v závislosti na druhu a stavu ryby. Použitelnost chladného vzduchu jako skladovacího média je ve vztahu k relativní vlhkosti: příliš nízká relativní vlhkost vede k dehydrataci, naopak vysoká je příčinou bakteriálního růstu na povrchu. Skladování v chlazené vodě nebo mletém ledu předchází sice dehydrataci, ale vede ke ztrátě barvy a k vyluhování.

Průměrné dosažené výsledky byly u kaprů skladovaných na vzduchu i ve vodě obdobné. Při pokojové teplotě (15–20 °C) byly do šesti až osmi hodin po exitu ryby zařazeny do extratřídy, do 20 až 24 hodin do třídy A, kolem 30 hodin po exitu již do třídy B, po 45 až 48 hodinách skladování byly ryby na hranici požitelnosti. Při teplotě 6 až 10 °C: do 10 až 12 hodin extratřída, do 36 hodin třída A, do 60 hodin třída B, úplná zkáza nastává po třech až čtyřech dnech. Při chladírenské teplotě (+2 °): do 24 hodin zařazení do extratřídy, po dvou až čtyřech dnech do třídy A, v dalších dnech do jakostní třídy B. Hranice požitelnosti se při této teplotě posunuje až na šest až sedm dní. Zatímco v předchozích dvou případech nebylo provozně možné zajistit stálou teplotu zevního prostředí, v poslední sérii pokusů se jednalo o velmi dobře fungující chladírnu, v níž byly teplotní výkyvy minimální.

Výsledky mikrobiologického vyšetření byly při obou použitých způsobech uchovávání téměř shodné (tab. III). Celkový počet mikroorganismů na povrchu čerstvých ryb byl 10^2 až 10^4 na cm^2 a počet koliformních mikrobů 50 až 10^3 na 1 cm^2 . Ve svalovině čerstvých ryb nebyli koliformní mikrobi zjištěni a celkový počet mikrobů byl zanedbatelný (max. 10^2 v 1 g). Po 48 hodinách skladování při pokojové teplotě se celkový počet mikrobů a počet koliformních mikrobů zvýšil v průměru o tři až pět řádů. Celkový počet mikrobů ve svalovině dosahoval hodnot 10^5 až

III. Hodnoty celkového počtu mikrobů (CPM) a počtu koliformních mikrobů (KF) na povrchu a ve svalovině ryb — Values of the total number of microbes (CPM) and the number of coliform microbes (KF) on the surface and in the muscles of the fish

Stáří vzorku a způsob uložení	Místo odběru vzorků			
	svalovina		povrch těla	
	CPM	KF	CPM	KF
Čerstvé	$30 - 10^2 \cdot g^{-1}$	$< 50 \cdot g^{-1}$	$10^2 - 10^4 \cdot cm^2$	$< 50 - 10^3 \cdot cm^2$
2 dny (20 °C) vzduch	$10^5 - 10^7 \cdot g^{-1}$	$10^4 - 10^5 \cdot g^{-1}$	$10^7 \cdot cm^2$	$10^4 \cdot cm^2$
2 dny (20 °C) voda	$10^5 - 10^7 \cdot g^{-1}$	$10^4 - 10^5 \cdot g^{-1}$	$10^8 \cdot cm^2$	$10^5 \cdot cm^2$
4 dny (2 °C) vzduch	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^7 \cdot cm^2$	$10^6 \cdot cm^2$
4 dny (2 °C) voda	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^4 \cdot cm^2$	$10^4 \cdot cm^2$
6 dní (2 °C) vzduch	$10^4 \cdot g^{-1}$	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^7 \cdot cm^2$	$10^6 \cdot cm^2$
6 dní (2 °C) voda	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^6 \cdot cm^2$	$10^5 \cdot cm^2$
16 dní (2 °C) vzduch	$10^4 \cdot g^{-1}$	$10^4 \cdot g^{-1}$	—	—
16 dní (2 °C) voda	$10^3 \cdot g^{-1}$	$10^4 \cdot g^{-1}$	—	—

10^7 v 1 g, počet koliformních 10^4 až 10^5 v 1 g, a to u ryb uložených na vzduchu i ve vodě. Ve svalovině ryb skladovaných čtyři dny v chladírně se celkový počet mikrobů mírně zvýšil (na 10^5 v 1 g) a výrazně se zvýšil počet koliformních mikrobů (až na 10^5 v 1 g). Po šesti dnech došlo k dalšímu mírnému vzestupu v celkovém počtu mikrobů (10^4 v 1 g), počet koliformních mikrobů byl beze změny. V průběhu dalšího skladování se již počet mikrobů ve svalovině nezvýšil (pokus byl ukončen 16. den po exitu). Na povrchu ryb se během chladírenského skladování rovněž pomnožili mikroorganismy, i když ne tak intenzivně jako při pokojové teplotě (10^4 po čtyřech dnech, 10^5 až 10^6 po šesti dnech).

Údaje velmi podobné našim uveřejnili P i n e g a r aj. (1974), kteří sledovali mikrobiologické změny ledovaných tropických sladkovodních ryb. Bakteriální počty na kůži se zvýšily z 10^3 až 10^4 až na 10^8 na $1 cm^2$, ale během 14 dnů nedošlo k penetraci do svaloviny.

Údržnost ryb zůstává problémem, o kterém se diskutuje na celém světě. U tresek byla zjištěna variabilita z různých lokalit a sezónních období (B u r t aj., 1975; L o v e aj., 1974). U tuňáků byly popsány nejen rozdíly v údržnosti bílého a červeného masa, ale i vyšší hodnoty organoleptického vyšetření středních partií těla v porovnání s kraniálními a kaudálními partiemi (G e o r g e, 1975).

U nás se hygienickým posouzením leklých kaprů zabývali D a r e b n ý (1955), Z e m á n e k (1955), S o m o r a (1956) a především S m e t a n a (1966, 1969). Posledně jmenovaný autor uvádí i podrobnou tabulku jednotlivých organoleptických změn v průběhu kažení, v mnohých rysech obdobnou s námi užitým schematem. Největší důraz je kladen na stupeň posmrtné ztuhlosti svaloviny. Na stejném principu je postaven systém organoleptického posouzení pro některé mořské druhy, které uvádí P o l j a k o v a (1974). Spočívá v měření úhlu ohybu těla, který se

s narůstáním posmrtné ztuhlosti snižuje a v počátku autolýzy opět zvyšuje. Rozhodující roli v rychlosti procesu hraje v tomto případě teplota skladovacího média, jak prokázali Christians a Leinemann (1975) experimentem u tresek skvrnitých.

Darebný (1955), Zemánek (1955) a Somora (1956) formulují závěry o údržnosti leklých kaprů při různých teplotách téměř shodně s našimi výsledky. Při teplotě 10 až 20 °C nastává postupně zkáza ryb za 1,5 až 2,5 dne, při chladírenských teplotách se údržnost prodlužuje na šest i více dní. Rovněž Chung aj. (1976) stanovují údržnost filetu z kapra při 0 °C a 5 °C na jeden týden a zpráva FAO (1973) uvádí pro mražené mleté kapří maso údržnost 15 dní.

Způsoby užívané k zachování čerstvosti vylovených ryb — ať již fyzikálního nebo chemického charakteru — nejsou v ČSSR veterinárně-hygienickou službou povoleny.

Literatura

BURT, J. R. — GIBSON, D. M. — JASON, A. C. — SANDERS, H. R.: Comparison of methods of freshness assessment of wet fish. I. Sensory assessments of boxed experimental fish. *J. Fd Technol.*, 10, 1975, č. 6, s. 654-656.

BURT, J. R. — GIBSON, D. M. — JASON, A. C. — SANDERS, H. R.: Comparison of methods of freshness assessment of wet fish. II. Instrumental and chemical assessment of boxed experimental fish. *J. Fd Technol.*, 11, 1976a, č. 1, s. 73-89.

BURT, J. R. — GIBSON, D. M. — JASON, A. C. — SANDERS, H. R.: Comparison of methods of freshness assessment of wet fish. III. Laboratory assessment of commercial fish. *J. Fd Technol.*, 11, 1976b, č. 2, s. 117-127.

ČSN 46 6802: Sladkovodní tržní ryby. 1974.

ČSN 56 0100: Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. 1968.

DAREBNÝ, K.: Příspěvek k poznání hygienických rozdílů mezi rybami vykrvenými a leklými. Část chemická. [Dizertační práce.] Brno 1955. 46 s. — Vysoká škola veterinární.

DYK, V. — SVOBODA, J.: Leklé ryby z hlediska tržního a konzumního. *Veterinářství*, 11, 1952, č. 6, s. 58-59.

GEORGE, C.: Biochemical differences between the red and white meat of tuna and changes in quality during freezing and storage. *Fish. Technol.*, 12, 1975, č. 1, s. 70-74.

GILKA, J. — HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — JANKOVÁ, B.: Vhodnost některých chemických metod k hodnocení čerstvosti skladovaných zadušených kaprů. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979, č. 9, s. 551-562.

GOUSSET, J. — TIXERANT, G. — ROBLOT, M.: Inspection des produits de la pêche. *Informations Techniques des Direction des Services Vétérinaires*, 34, 1971, s. 141-192.

CHRISTIANS, O. — LEINEMANN, M.: Einfluß der Temperatur auf den Ablauf der Totenstarre und die sensorischen Eigenschaften von Schellfisch. *Inform. Fischwirtschaft*, 22, 1975, č. 6, s. 138-185.

CHUNG, J. R. — KIM, S. I. — LEE, M. C.: Irradiation preservation of Korean fishes. II. Radurization of freshwater species. *J. Fd Sci. Technol.*, Korean, 8, 1976, č. 3, s. 161-171.

Information relating to the wholesomeness of irradiated foods: effect of γ -irradiation on the extension of storage life of chilled fresh-water fish. Food and Agriculture Organisation, Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture. Food Irradiation Information No. 2, 1973, XII-XIII.

LOVE, R. M. — ROBERTSON, I. — SMITH, G. L. — WHITTLE, K. J.: The texture of cod muscle. *J. Text. Stud.*, 5, 1974, č. 2, s. 201-212.

LUDORFF, W. — MEYER, V.: Fische und Fischerzeugnisse. Berlin und Hamburg 1973, 309 s.

MILLS, A.: Measuring changes that occur during frozen storage of fish: a review. J. Fd Technol., 10, 1975, č. 5, s. 483-496.

NAIR, R. B. — THARAMANI, P. K. — LAHIRY, N. L.: Studies on chilled storage of fresh water fish. II. Factors affecting quality. J. Fd Sci. Technol., India, 11, 1974, s. 118-122.

ON 57 5110: Opracované sladkovodní tržní ryby. Jakost. 1969.

PINEGAR, J. A. — COLE, R. C. — CLUCAS, I. J. — HOFFMAN, A.: Microbiology and biochemistry of tropical fish preservation. Conference proceedings. IV. International Congress of Fd Sci., Technol. 4b, 1974, s. 38-40.

POLJAKOVA, L. K.: Prodávateľnosť stadij posmertnych izmenenij u nekotorych ryb. Rybnoe Chozjajstvo, 1974, s. 62-63.

SMETANA, M.: Konzumní sladkovodní ryby z hlediska hygieny potravin. Živočišná Výroba, 11, 1966, č. 4, s. 249-259.

SMETANA, M.: Studie změn ovlivňujících poživatelnost leklých kaprů. [Kandidátská disertace.] Brno 1969. 263 s. — Vysoká škola veterinární.

SOMORA, J.: Spolehlivost některých objektivních metod používaných při posuzování kaprů. [Disertační práce.] Brno 1956. 74 s. — Vysoká škola veterinární.

ZEMANEK, J.: Příspěvek k poznání hygienických vlastností ryb vykrvených a leklých. Část II. Bakteriologická. [Disertační práce.] Brno 1955. 44 s. — Vysoká škola veterinární.

Došlo dne 12. 6. 1979

ГАБРДА, Й. — МАТИАШ, З. — ПАЛАСЕК, Й. — ГИЛКА, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Органолептические и микробиологические исследования задохнувшихся карпов, хранимых при разных условиях. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 543-550.

Процесс порчи снулых товарных карпов в зависимости от условий среды и от обработки рыб мы изучали органолептическими и микробиологическими методами. Приведена схема оценки рыбы по признакам порчи и определен предел сохраняемости карпов в условиях их хранения. Результаты микробиологического обследования не соответствовали степени порчи рыб.

рыбы; динамика порчи; органолептические изменения; среда хранения; сохраняемость; микробные числа

HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — PALÁSEK, J. — GILKA, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *Organoleptic and Microbiological Examinations of Suffocated Carp Stored under Different Conditions*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 543-550.

A process of dead market carp deterioration was studied in relation to conditions of the environment and the fish treatment by organoleptic and microbiological methods. A scheme is presented for fish assessment according to the symptoms of deterioration and the limits of carp storability under the given conditions of storing are determined. The results of the microbiological examination were not in keeping with the degree of deterioration of the fish.

fish; dynamics of deterioration; sensory changes; storing medium; storability; microbial counts

HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — PALÁSEK, J. — GILKA, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Organoleptische und mikrobiologische Untersuchung der unter verschiedenen Lagerungsbedingungen erstickten Karpfen*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 543-550.

In Abhängigkeit von Umweltsbedingungen und Lagerung untersuchten wir das Verderben abgestandener Marktkarpfen mit Hilfe organoleptischer und mikrobiologischer Methoden. Es wird ein Schema der Fischbeurteilung aufgrund der Ver-

derbenssymptome angeführt und unter Lagerungsbedingungen die Erhaltungsgrenze bestimmt. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung waren nicht im Einklang mit dem Grad des Verderbens der Fische.

Fische; Verderbensdynamik; organoleptische Veränderungen; Lagerungsmedium; Erhaltungsfähigkeit; mikrobielle Berechnungen

Adresa autorů:

MVDr. Jan Habrda, prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., MVDr. Jaroslav Palásek, MVDr. ing. Jaroslav Gilka, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VHODNOST NĚKTERÝCH CHEMICKÝCH METOD K HODNOCENÍ ČERSTVOSTI SKLADOVANÝCH ZADUŠENÝCH KAPRŮ

J. Gilka, J. Habrda, Z. Matyáš, B. Janková

GILKA, J. — HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — JANKOVÁ, B. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vhodnost některých chemických metod k hodnocení čerstvosti skladovaných zadušených kaprů*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 551-562.

K hodnocení stupně čerstvosti skladovaných nevykrvených kaprů jsme vyzkoušeli některé jednoduché chemické metody jako pomocná kritéria pro veterinární rozhodnutí o požitelnosti. V podmínkách pokusu, při kterých byli zadušení kapři skladováni při chladírenské a pokojové teplotě, a to buď ve vodě nebo na vzduchu, jsme zjistili rozdíly sledovaných kritérií statisticky nevýznamné mezi čerstvými a kazícími se rybami pro většinu indikátorů. Z hlediska požadavků na chemické indikátory se ukázalo jako vhodné pouze stanovení hladiny ribózy. Změna hladiny ribózy korelovala významně se smyslovými změnami čerstvosti masa skladovaných kaprů.

kapři; skladování; čerstvost; chemické metody

Metodika a kritéria k posuzování zadušených kaprů dostatečně neodpovídají současným hygienickým zájmům (Smetana, 1969). Nejčastěji používanou metodou hodnocení čerstvosti ryb je smyslové vyšetření. Je nejvhodnější z hlediska spotřebitelské přijatelnosti a velkého množství posuzovaných ryb; je však značně variabilní vzhledem k různě citlivosti posuzovatelů, zejména tehdy, má-li být rozhodnuto mezi rybami čerstvými, na začátku zkázy a nepoživatelnými (Reay a Shewan, 1949). Bakteriologické vyšetření je rovněž vhodné jen částečně, neboť je časově náročné, mnohdy s nevýrazným výsledkem a v rozporu se smyslovým vyšetřením (Thymian, 1957; Smetana, 1969; Habrda aj., 1979).

Vzhledem k tomu, že během stárnutí rybího masa se tvoří mnoho metabolitů (Tomyiasu a Zenitani, 1957), hledali jsme testy, které by objektivně hodnotily kvalitu ryb. Takové testy musí být rychlé, relativně jednoduché, dobře korelující se smyslovým hodnocením (Reay a Shewan, 1949), dostatečně citlivé, aby indikovaly zkázu v počátečním stadiu (Pearson, 1962). Produkty zkázy nesmí být přítomny v nezkažené rybě a jejich hladina musí pravidelně vzrůstat s postupem zkázy (Reay a Shewan, 1949).

Čerstvost ryb se mění do stavu zkázy činností enzymů buď vlastních tkání (autolýzy) nebo bakteriálních (Reay a Shewan, 1949). První změnou je nástup rigor mortis (Tomyiasu a Zenitani, 1957) doprovázený glykogenolýzou a hromaděním kyseliny mléčné a pyrohroznové (Spinelli, 1971). Nukleotidy jsou odbourávány až na inosin, hypoxanthin a ribózu (Pearson, 1962). Když

vymizí rigor, rozkládají se dusíkaté látky, nejprve hlavně extraktivní, ale i komplexní bílkoviny rybího svalu na jednodušší bílkoviny, polypeptidy a aminokyseliny. Také změny v tuku jsou — zejména při nízkých teplotách — významným faktorem zkázy hlavně u tučných ryb (Reay a Shewan, 1949). Hromadění degradačních produktů (amoniaku, sirovodíku, aj.) vede k nežádoucím změnám vzhledu, vůně a chuti a k nepoživatelnosti.

Jak korelují některé produkty chemických změn v masě zadušených a nevykrvených kaprů se smyslovými změnami a zda by se daly využít jako pomocný index čerstvosti k veterinárnímu rozhodnutí o použitelnosti, bylo předmětem této práce.

MATERIÁL A METODA

K pokusu jsme použili kapry z tržní sítě v předvánočním období (sádkování). Nechali jsme je v nádrži s vodou přes noc leknout a ráno jsme je zpracovávali; pokud ještě někteří kapři jeví známky života, usmrtili jsme je úderem na hlavu. Všechny ryby byly nevykrvené. Maso kaprů jsme smyslově vyšetřili jednak krátce po smrti (kontrola), jednak v době hraniční použitelnosti podle bodového schématu, tj. třída C (Habrda aj., 1979), a to po 45 až 48hodinovém skladování za pokojové teploty a po šesti až sedmi dnech za chladírenské teploty. Abychom mohli dělat všechna chemická vyšetření ze stejného vzorku masa (svaly jedné ryby by na ně nestačily), zpracovali jsme vždy svalovinu ze tří kaprů na jeden směsný vzorek; po stažení kůže a vykostění jsme svalovinu dvakrát pomleli a masovou měl dobře promíchali.

Měl byla navazována na stanovení glykogenu (anthronovým reagens) — (Keil a Sormová, 1959), obsahu vody (Janíček aj., 1962), volné vody (kompresní metodou po zatížení 2 kg) — (Grau a Hamm, 1957), kyslíčniku uhlíkatého (difúzí s navažkou 2 g) — (Charnley, 1945), látek redukujících jód (Pearson, 1968), redukční kapacity (Thompson aj., 1962), těkavých redukujících látek (difúzí na Conwayových miskách) — (Taneko, 1959), těkavých mastných kyselin (Kyzlink aj., 1974), těkavých dusíkatých bazí (Pearson, 1968, destilací s MgO). Z připraveného vodného extraktu (1:3 w/v) jsme měřili pH, pufovací kapacitu (Lawrie, 1953), amoniak (difúzí na Conwayových miskách) — (Dvořák, 1958) a sirovodík (Delwiche, 1960). V extraktu masa, připraveném homogenizací na mixeru s 0,6N HClO₄ (1:9 w/v) a filtrací, jsme stanovili nebílkovinný dusík (kjeldahlizací — Janíček aj., 1962), ninhydrinpozitivní látky (tj. převážně volné aminokyseliny) — (Homolka, 1971) a anorganický fosfát (jako fosfor) — (Hořejší, 1964). Z alkalického extraktu ZnSO₄ (1:9 w/v) byla stanovena glukóza, kyselina mléčná (Henry, 1964) a ribóza (Pawar a Magar, 1965). Ke stanovení tyrosinu (Pearson, 1968) jsme použili extrakt s 5% (1:20 w/v), ke stanovení histaminu s 10% kyselinou trichloroctovou (1:3 w/v) (Sborník veterinárních předpisů, 1962). Ke sledování změn tukového podílu jsme maso extrahovali směsí chloroform:metanol (2:1) a po odpaření rozpustidel jsme stanovili v tuku číslo kyselosti, peroxidové číslo (podle Wheelera — Janíček aj., 1962) a thiobarbiturový test (Davídek aj., 1974).

Každý pokus jsme opakovali šestkrát vždy se třemi kapry, pro danou teplotu a způsob skladování buď ve vodě nebo na vzduchu, celkem s 90 kapry. Výsledky jsme vyhodnotili *t*-testem a u statisticky významného rozdílu jsme dělali korelaci chemické charakteristiky se smyslovým hodnocením.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V prvních fázích skladování ztrácejí ryby následkem autolytických pochodů původní čerstvost, chybí zcela vůně a chuť (Shewan, 1962) a maso měkne; to odpovídalo smyslově bodovému hodnocení kaprů námi sledovaných pro třídu A až B (Habrda aj., 1979). Podobně jako zjistil Metana [1969], bylo problematické podle konzistence svalu smyslově exaktně odhadnout fáze rigoru mortis. Patrně proto, že v bílém svalu jsou změny méně vyjádřeny (Buttkus a Tomlinson,

1966) — a kapří maso je převážně bílé. U kaprů, pstruhů a línů nemá čas k dosažení maxima rigor mortis podstatný vliv na kvalitu např. zmraženého produktu (Partmann, 1960). Také Pohl (cit. Smetana, 1969) dospěl po řadě vyšetření sladkovodních ryb k závěru, že u ryb zadušených a zabitých nejsou podstatné rozdíly v rychlosti pochodu rigor mortis.

O určitém vyčerpání ryb svědčilo počáteční pH masa, které se uvádí pro sladkovodní ryby 6,9 až 7,3 (podle obsahu glykogenu a pufrovací kapacity svalů) — (Tomiyasu a Zenitani, 1957). Krátce po exitu jsme naměřili nižší pH (6,45), jiní naměřili vyšší (6,9—7,2 — Somora, 1956; 6,6—6,7 — Darebný, 1955), ale i nižší (6,3—6,7 — Smetana, 1969). U skladovaných kaprů při pokojové teplotě zůstalo pH téměř stejné po celou pokusnou dobu, při chladírenském skladování se mírně zvýšilo na cca 6,7 bez významného rozdílu. Podle toho není měření pH masa u kaprů vhodným kritériem čerstvosti, jak konstatovali i jiní pracovníci (Somora, 1956; Smetana, 1969). Bradley a Bailly (1940) popsali u kaprů skladovaných při teplotě 0,6 až 2,8 °C pokles pH z hodnoty 6,8 na 5,6, ale ta zůstala téměř beze změn až do 19. dne skladování.

Jako slibný ukazatel mikrobiální jakosti ryb se uvádí stanovení redox potenciálu E_h , zvláště měřili se více hodin (Munsey aj., 1973). Takové měření však není vhodné pro praktické účely; při použití jednoduchých titračních metod, jako doporučeného stanovení spotřeby jódu (Truttwin, 1953) či celkové redukční kapacity manganistanem draselným v kyselém prostředí, jsme zjistili statisticky zcela neurčitě a nevýznamné rozdíly.

Sladkovodní ryby po smrti absorbují určité množství vody s následnými nepříznivými důsledky (Smetana, 1966). U kaprů skladovaných ve vodě, zvláště po několika dnech v chladírně, jsme zjistili mírně a nevýznamně zvýšený celkový obsah vody (o 0,2—0,7 %). Obsah volně vázané vody v mase byl u kaprů skladovaných za pokojové teploty po

I. Průměrné hodnoty některých charakteristik masa skladovaných kaprů čerstvých a na začátku zkázy — Average values of some meat characteristics of stored carp fresh and at the onset of deterioration

	Způsob skladování	pH	Redukce jódu gekv. J ⁻ . .10 ⁻³ .kg ⁻¹	CRK	TRL	Celková voda %	Volná voda cm ²
				gekv. KMnO ₁ . .10 ⁻² .kg ⁻¹			
Čerství kapři (kontroly)		6,45	2,77	6,40	2,50	77,51	9,67
Pokojevá teplota	na vzduchu ve vodě	6,44	2,54	6,36	2,04	77,92	7,96
		6,42	2,68	6,65	3,07	77,94	8,06
Chladírna	na vzduchu ve vodě	6,70	2,81	6,17	1,39	77,31	5,75
		6,68	2,79	6,11	1,57	78,20	6,39

CRK — celková redukční kapacita

TRL — též redukující látky

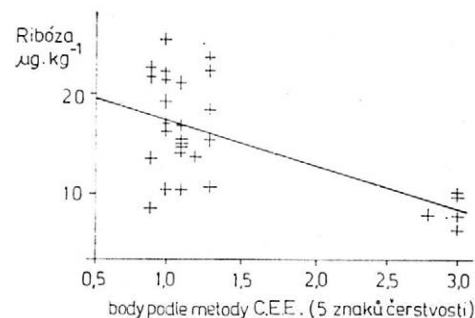
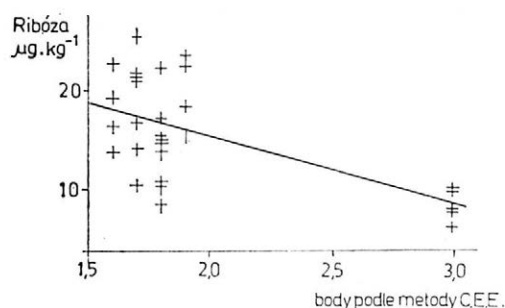
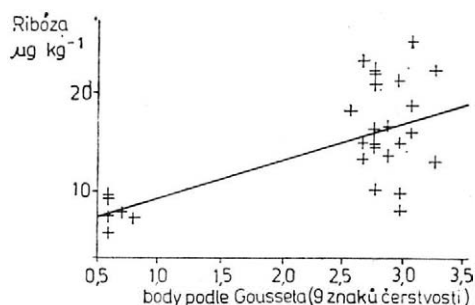
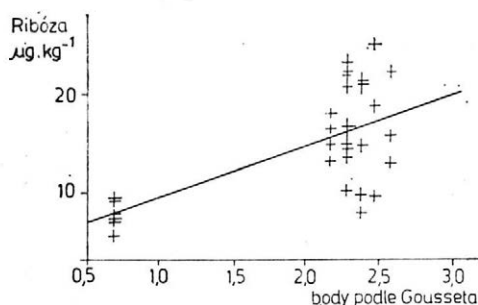
dvou dnech nevýznamně nižší, naproti tomu u ryb z chladírny téměř významně nižší ($P < 0,08$, cca o 40 % pro ryby na vzduchu; $P < 0,15$, cca o 34 % pro ryby ve vodě). Přes statistickou nevýznamnost rozdílů je patrné, že stanovení volně vázané vody v mase do určité míry indikuje ztrátu čerstvosti chladírensky skladovaných kaprů (tab. I).

V mase tržních ryb je obsah glykogenu obvykle nízký (Tarr, 1966). To souhlasilo s nálezem u čerstvě zadušených kaprů (cca 20 g kg⁻¹). Obsah glykogenu se sice skladováním snížil (při pokojové teplotě asi o 30 %, v chladírny o 29 %), ale statisticky nevýznamně, a proto jej nelze považovat za vhodný ukazatel ztráty čerstvosti.

Glukóza jako volný cukr značně kolísá v koncentraci ve skladovaném rybím svalu (Nazir a Magar, 1963); proto zřejmě, i když jsme našli vzrůst glukózy při skladování (při pokojové teplotě asi o 23 % a při chladírenské o 50 %), nebyl statisticky rozdílný proti čerstvým rybám.

Podle Bilinského a Jonase (1975) je možné jako potenciálně vhodného testu k posouzení stupně čerstvosti u ledovaných pstruhů a jiných lososovitých ryb využít nálezu kyseliny mléčné ve svalu, neboť mezi čerstvými a skladovanými rybami byl v obsahu této kyseliny významný rozdíl. Podobně u druhu velkého kapra *Cirrhina mrigala* rychle vzrostl obsah kyseliny mléčné od začátku rigoru mortis do jeho uvolnění na hladinu téměř 77,7 mmol kg⁻¹ (Pawar a Magar, 1965). Naproti tomu byly u našich kontrolních kaprů hodnoty cca 111 mmol kg⁻¹; v průběhu skladování se tyto hodnoty buď snižovaly nebo zůstaly téměř na stejné úrovni. Rozdíl byl statisticky nevýznamný a stanovení není proto využitelné jako index. Vysoká hladina kyseliny mléčné pro čerstvě zadušené ryby svědčí o určitém vyčerpání ryb, jak se to u leklých kaprů předpokládá (Smetana, 1966).

Se ztrátou čerstvého vzhledu a vůně ryb souvisí odbourávání svalového adenosintrifosfátu na inosinmonofosfát, který se dále odbourává na inosin a fosfát (Spinelli, 1971). O inosinmonofosfátu je známo, že přispívá k příjemné vůni čerstvé ryby; jeho degradace na hypoxanthin je faktorem progresivní ztráty vůně i chuti a vývoje hořké pachuti (Jones a Murray, 1964), což bylo možné pozorovat při smyslovém vyšetření skladovaných kaprů (Habřda aj., 1979). Jako dobrý index jakosti se ukázalo stanovení nukleotidů a hypoxanthinu; toto stanovení je však náročné na čas i chemikálie a nepovažuje se za příliš vhodné pro rutinní práci (Jones a Murray, 1964; Spinelli, 1971). Z inosinu se současně odbourává i ribóza (Tarr, 1966) a její obsah rovnoměrně vzrůstá během skladování až do určitého maxima (Shewan a Jones, 1957; Nazir a Magar, 1963). Její stanovení jako pentózy s orcinem je poměrně jednoduché (Mejbaur, 1939). Při všech způsobech skladování zadušených kaprů jsme prokázali statisticky významné zvýšení hladiny ribózy proti kontrolám. Stanovení volné ribózy (frakcionace kyselých extraktů svalu octanem barnatým) (Shewan a Jones, 1957) zjednoduší vhodná extrakce masa alkalickým síranem zinečnatým podle Somogyiho (Henry, 1964). Toto stanovení ribózy je jednoduché a vhodné k hodnocení čerstvosti zadušených kaprů bez ohledu na způsob skladování. O tom svědčí vysoce významná ($\alpha = 0,1$ %, $r = +0,6$ nebo $-0,6$; obr. 1) korelace se smyslovými změnami podle bodovacích postupů (Habřda aj., 1979).



1. Vztah mezi množstvím ribózy a smyslovým posouzením u ryb čerstvých a skladovaných — The relation between the quantity of ribose and the sensory assessment in fresh and stored fish

Po vymizení labilního fosforu ve svazech byl pozorován odpovídající vzrůst anorganického fosforu (největší byl během prvních 25 hodin a pak jen pomalý) při skladování duhového pstruha [4 °C 16 dnů] — [Kuusi a Aalto, 1968]; ve svazech našich pokusných kaprů se obsah anorganického fosforu naopak snížil, ale nevýznamně. Není proto uvedené stanovení vhodným ukazatelem jakosti [tab. II].

II. Průměrné hodnoty některých charakteristik sacharidů, kyseliny mléčné a rozkladných produktů nukleotidů v masě skladovaných kaprů čerstvých a na začátku zkázy — Average values of some characteristics of saccharides, lactic acid and decomposing products of nucleotids in the meat of stored carp fresh and at the onset of deterioration

	Způsob skladování	Glykogen mg kg ⁻¹	Glukóza mmol kg ⁻¹	Kyselina mléčná mmol kg ⁻¹	Ribóza mmol kg ⁻¹	Anorganický fosfát P mmol kg ⁻¹
Čerství kapři (kontroly)		1,94	7,39	110,88	7,94	41,68
Pokožová teplota	na vzduchu	1,25	8,51	67,82	16,33 ↑	44,13
	ve vodě	1,14	9,75	85,07	17,30 ↑	41,05
Chladárna	na vzduchu	1,37	11,43	52,92	17,61 ↑	40,16
	ve vodě	1,40	10,71	49,61	15,89 ↑	38,79

Významnost rozdílů ↑ ($P < 0,05$)

I když existuje vazba mezi změnami celkové pufovací kapacity a stupněm postmortálních pochodů ve svalové tkáni ryb (Lalov a Avramov, 1972), a i když byl při jejím měření (elektrometricky) vůči kyselině i louhu v mase našich skladovaných kaprů zaznamenán pokles průměrných hodnot, byly tyto změny statisticky nevýznamné. Titračním testem pomocí indikátoru nebyla rovněž zjištěna konstantní korelace (cit. Reay a Shewan, 1949). Příčinou by mohly být poměrně malé změny v naměřených hodnotách i variabilita u jednotlivých ryb.

Mikrobiální činností vznikají organické kyseliny (Reay a Shewan, 1949), jejichž hladina stoupá s kažením, a mohla by proto sloužit jako index čerstvosti (Tomyiasu a Zenitani, 1957). Ve skladovaných kaprech v podmínkách pokusu se však rozdíly neprojevovaly, podobně jako při skladování velkého kapra *Cirrhina mrigala* (Balakrishnan aj., 1971) či mořských ryb (Deckert, 1960).

Konečným produktem aerobní oxidace ve tkáních je kromě vody i kysličník uhličitý. Vzniká rovněž při oxidaci kyseliny mléčné na octovou (Reay a Shewan, 1949), hlavně v pozdějších stádiích kažení ryb mikrobiálními dekarboxylázami z aminokyselin za vzniku aminů (Tomyiasu a Zenitani, 1957). Přestože bylo stanovení kysličníku uhličitýho vhodné ke stanovení zkázy masa v rybích konzervách (Charnley, 1945), nebylo tomu v mase námi sledovaných zadržovaných kaprů. Naměřené koncentrace byly u skladovaných ryb proti čerstvým asi o polovinu nižší, nicméně zkáza je charakterizována jejím zvýšením. Výsledek svědčí o tom, že v mase skladovaných kaprů na začátku smyslové zkázy nedošlo ještě k rozkladným mikrobiologickým pochodům (tab. III).

Hladiny nebílkovinného dusíku se v mase skladovaných kaprů zvýšily, a to zejména na vzduchu, ale statisticky nevýznamně. To souhlasí s názorem, že změna nebílkovinného dusíku není příliš vhodným kritériem k hodnocení zkázy rybího svalu (Bradley a Bailey, 1940;

III. Průměrné hodnoty některých charakteristik následkem změn v bílkovinách masa skladovaných kaprů čerstvých a na začátku zkázy — Average values of some characteristics as a result of changes in the proteins of meat of stored carp fresh and at the onset of deterioration

	Způsob skladování	Pufovací kapacita gekv. (H^+). $\cdot 10^{-2} \cdot kg^{-1}$		Těkavé kyseliny ml 0,1 N NaOH. g^{-1} tuku	CO_2 $mmol \cdot kg^{-1}$
		H^+	OH^-		
Čerství kapři (kontroly)		2,60	2,99	0,026	6,75
Pokožová teplota	na vzduchu	2,47	2,92	0,026	2,31
	ve vodě	2,12	2,57	0,026	3,10
Chladárna	na vzduchu	2,07	2,47	0,026	3,90
	ve vodě	2,30	2,23	0,026	3,60

Balakrishnan aj., 1971). Partmann (1965/1966) zjistil jen nepatrné zvýšení extraktivního dusíku ve sterilních svalech kaprů skladovaných při teplotě 0 °C jeden měsíc a při teplotě 20 °C týden (o 1 %), ale i u infikovaných svalů (jen o 10 %). Podobně se v pokusu jen nepatrně zvýšily ninhydrinpozitivní látky, a proto není ani toto stanovení vhodným ukazatelem zkázy. Častěji se místo toho doporučuje stanovení tyrosinu (Tomiyasu a Zenitani, 1957), protože ten se odštěpuje ze svalových bílkovin rychleji než ostatní aminokyseliny (Jones, 1962) a „tyrosinová hodnota“ je považována za dobrý test (Bradley a Bailey, 1940). Přestože v podmínkách našeho pokusu bylo zjištěno zvýšení hladiny tyrosinu (o cca 19 %), bylo to statisticky nevýznamné. Z histidinu se nebakteriální dekarboxylázou nebo činností bakterií vytváří histamin (Shewan, 1962; Dabrowski aj., 1968 a jiní). U pstruhů a dalších druhů ryb byl pozorován při skladování při teplotě 4 °C slabý, ale významný vzrůst histaminu (Edmunds a Eitenmüller, 1975). V mase našich pokusných kaprů došlo rovněž k určitému a poměrně značnému zvýšení (při pokojové teplotě cca o 37 %, v chladírně dokonce o 186 %), přesto byl rozdíl statisticky nevýznamný, zřejmě pro velký rozptyl hodnot. Je zajímavé, že byly značné rozdíly (více než 100 %) v obsahu histaminu masa kaprů skladovaných při pokojové teplotě a kaprů skladovaných v chladírně; při pokojové teplotě se patrně ryby zkazily smyslově dříve, než mohl být histidin dekarboxylován.

Decarboxylace aminokyselin je provázena produkcí těkavých bází, jejichž koncentrace vzrůstá ve skladovaných rybách s bakteriální populací (Reay a Shewan, 1949). Někteří autoři zdůraznili, že je užitečné je stanovit destilací s kysličníkem hořečnatým (MgO) a za kritickou hranici považují 20 mg na 100 g (Thymian, 1957 a jiní). Destilací s uhličitánem draselným (K₂CO₃) u zadušených kaprů byly výsledky neurčitě (Smetana, 1966, 1969). U kaprů v našem pokusu byl sice zjištěn významný rozdíl v hodnotách ryb skladovaných proti hodnotám ryb čerstvě zadušených, ale se snížením těkavých bází. Tato nespolečná změna svědčí o tom, že ve svalovině nenastoupil ještě bakteriální rozklad. Totéž platí o stanovení amoniaku, které se považuje za nejspolehlivější ukazatel přibližného počátku bakteriální proteolýzy u ryb (Reay a Shewan, 1949; Schönberg, 1961; Tomiyasu a Zenitani, 1957 a jiní). Přestože sejevila metoda stanovení amoniaku mikrodifúzí na Conwayových miskách jako užitečná u skladovaných kaprů (Somora, 1956) či u skladovaného filé různých sladkovodních ryb (Moorjani a Iyongar, 1958), v mase kaprů z našeho pokusu se počáteční hodnota 12 mg na 100 g snížila jako u destilační metody. Metody nelze proto považovat vzhledem k smyslovým příznakům zkázy za vhodné (tab. IV).

Stanovení sirovodíku dávalo průkazné výsledky jen u zcela zkažených kaprů (Somora, 1956), nebo bylo negativní (Smetana, 1966, 1969) a nebylo použito k hodnocení. Použitou metodou byly v mase pokusných kaprů rovněž nalezeny již na první pohled tak neurčitě a kolísavě hodnoty, že nebyly statisticky hodnoceny. Nevhodnost stanovení sirovodíku v mase kaprů plyne patrně z toho, že se různé druhy ryb liší intenzitou jeho akumulace a kapr patří do skupiny s jeho nepravidelnou a pomalou akumulací (Jankov, 1964).

IV. Průměrné hodnoty některých dusíkatých látek následkem rozkladu bílkovin masa skladovaných kaprů čerstvých a na začátku zkázy — Average values of some nitrogenous substances as a result of decomposition of meat proteins of stored carp fresh and at the onset of deterioration

	Způsob skladování	NPN mmol kg ⁻¹	α -amino N mmol kg ⁻¹	Tyrosin mmol kg ⁻¹	Histamin mmol kg ⁻¹	Těkavé báze	
						destilací	difúzí
						mmol . NH ₃ . kg ⁻¹	
Čerství kapři (kontroly)		255,29	219,04	1,12	0,061	7,62	7,17
Pokožová teplota	na vzduchu	275,07	219,87	1,34	0,086	5,66 ↓↓	7,16
	ve vodě	260,11	234,24	1,37	0,081	5,74 ↓	6,53
Chladárna	na vzduchu	316,27	232,09	1,33	0,188	5,12 ↓↓	5,25
	ve vodě	266,16	223,30	1,26	0,161	5,48 ↓↓	6,90

NPN — neproteinový dusík

Významnost rozdílů ↓ ($P < 0,05$), ↓↓ ($P < 0,01$)

Při kažení tučných ryb dochází ke značné hydrolýze tuků [Reay a Shewan, 1949] a ztráta čerstvosti souvisí — dříve než dojde k mikrobiálním změnám — mj. i s akumulací volných mastných kyselin a oxidovaných lipidů [Spinelli, 1971]. Přestože byli v našem pokusu použiti kapři většinou relativně tuční (průměrně 4,8 % tuku ve svaluvině), číslo kyselosti, peroxidové číslo i thiobarbiturový test k sledování hydrolytických a oxidačních změn tuku byly nevýznamně rozdílné v tučích masa čerstvých a skladovaných kaprů; proto nemají tyto ukazatele praktický význam pro sledování čerstvosti skladovaných kaprů. Ačkoliv nelze využít indikátorů oxidačních změn v tučích k hodnocení zkázy, z tab. V je patrné, že hodnoty pro číslo peroxidové jsou pro tuk

V. Průměrné hodnoty některých charakteristik následkem změn tuků v masě skladovaných kaprů čerstvých a na začátku zkázy — Average values of some characteristics as a result of changes in fats in the meat of stored carp fresh and at the onset of deterioration

	Způsob skladování	Číslo		TBA test extinkce . g ⁻¹ tuku
		kyselosti μg . KOH . g ⁻¹ tuku	peroxidové μg . O ₂ . g ⁻¹ tuku	
Čerství kapři (kontroly)		2,88	27,60	0,47
Pokožová teplota	na vzduchu	3,87	38,32	0,84
	ve vodě	3,09	19,28	0,57
Chladárna	na vzduchu	2,95	51,52	0,84
	ve vodě	2,78	19,44	0,54

kaprů skladovaných na vzduchu dvakrát až třikrát vyšší za skladování zejména v chladárně; u TBA testu je rozdíl rovněž patrný, i když ne tak výrazně. Nález svědčí o tom, že ryby jsou z hlediska stability tuku údržnější, jsou-li skladovány ve vodě.

Shrňme-li výsledky chemických metod použitých ke sledování čerstvosti zadušených kaprů za různých skladovacích podmínek, vidíme, že stanovení volně vázané vody indikovalo určitou ztrátu čerstvosti, nicméně pouze stanovení ribózy se ukázalo jako prakticky použitelné. Stanovení je jednoduché, rychlé a koreluje se smyslovými změnami. Chemické indikátory glykolytických, proteolytických a lipidických změn složek kapřího masa při skladování v podmínkách pokusu ukázaly, že k nepoživatelnosti celých ryb dochází následkem zevních smyslových příznaků zkázy, zatímco v mase nenastává ještě bakteriální rozklad.

Literatura

- BALAKRISHNAN NAIR, R. — THARAMANI, P. K. — LAHIRY, N. L.: Entreposage à température de réfrigération du poisson d'eau douce. I. Transformations se produisant au cours de l'entreposage dans la glace. *J. Fd Sci. Technol.*, 8, 1971, č. 2, s. 53-56. In: *Bull. Inst. int. Froid*, 52, 1972, č. 2, s. 379.
- BILINSKI, E. — JONAS, R. E. E.: Correlation between the freshness of iced salmonids and lactic acid formation in muscle extracts. *J. Fd Sci.*, 40, 1975, s. 53-57.
- BRADLEY, H. C. — BAILEY, B. E.: Estimation of decomposition of fish muscle. *Fd Res.*, 5, 1940, s. 487-493.
- BUTTKUS, H. — TOMLINSON, N.: Some aspects of postmortem changes in fish muscle. In: *The physiology and biochemistry of muscle as food*. Madison, Milwaukee and London 1966. 479 s.
- DABROWSKI, T. — KOLAKOWSKI, E. — MARKIEWICZ, K.: Histamin als Kennzeichen des Frischgrades der Fische. 1. Die Veränderungen der Imidazolverbindungen im Fleischgewebe des bei 0 bis 2°C gelagerten Ostseeherings. *Nahrung*, 12, 1968, s. 631-637.
- DAREBNÝ, K.: Příspěvek k poznání hygienických rozdílů mezi rybami vykrvenými a leklými. Část chemická. [Diplomová práce.] Brno 1955. 46 s. — Vysoká škola veterinární. Katedra hygieny a technologie potravin.
- DAVÍDEK, J. — HRDLÍČKA, J. — KARVÁNEK, M. — POKORNÝ, J.: Návod k laboratornímu cvičení z všeobecné analýzy potravin. Praha, SNTL 1974. 405 s.
- DECKERT, W.: Feststellung über die Art und Menge der bei der Vergammelung von Rotfischen freiwerdenden Geruchstoffe. *Arch. Fischereiwiss.*, 11, 1960, č. 2, s. 187-202.
- DELWICHE, E. A.: A micromethod for the determination of hydrogen sulfide. *Analyt. Biochem.*, 1, 1960, s. 397-401.
- DVOŘÁK, Z.: Použití mikrodifuzních metod v potravinářské analýze. *Prům. Potravin*, 8, 1958, č. 6, s. 1-3.
- EDMUNDS, W. J. — EITENMÜLLER, R. R.: Effect of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species. *J. Fd Sci.*, 40, 1975, s. 516-519.
- FARBER, L.: A comparison of various methods for the determination of spoilage in fish. *Fd Technol.*, 6, 1952, s. 319-324.
- GRAU, R. — HAMM, R.: Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels. II. Über die Bestimmung der Wasserbindung des Muskels. *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 105, 1957, s. 446-458.
- HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — PALÁSEK, J. — GILKA, J.: Organoleptické a mikrobiologické vyšetření zadušených kaprů skladovaných za různých podmínek. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979, č. 9, s. 543-550.
- HENRY, R. J.: *Clinical chemistry*. New York 1964. 1128 s.
- HOMOLKA, J.: *Klinické biochemické vyšetřovací metody*. Avicenum, Praha 1971. 506 s.
- HOREJŠÍ, J.: *Základy chemického vyšetřování v lékařství*. Praha 1964. 693 s.
- CHARNLEY, F.: Estimation of the freshness of canned salmon by means of the carbon dioxide value of the drained muscle tissue. *Analyst*, 70, 1945, s. 14-16.

- JANÍČEK, G. — ŠANDERA, K. — HAMPL, B.: Rukověť potravinářské analytiky. Praha, SNTL 1962. 741 s.
- JANKOV, G.: Serovodnorodnata proba kato pokazatel ta preценка godnossta na ribata za konsumacija. VetMed. Nauki, Sofia, 1, 1964, č. 7, s. 47-51.
- JONES, N. R.: Fish muscle enzymes and their technological significance. In: Res. Adv. in Fd Sci., vol. I., Butterworths, London 1962. s. 151-166.
- JONES, N. R. — MURRAY, J.: Rapid measures of nucleotide dephosphorylation in iced fish muscle, their value as indices of freshness and of inosine 5-monophosphate concentration. J. Sci. Fd Agric., 15, 1964, s. 684-690.
- JONES, N. R. — MURRAY, J. — LIVINGSTON, E. I. — MURRAY, C. K.: Rapid estimations of hypoxanthine concentrations as indices of the freshness of chill-stored fish. J. Sci. Fd Agric., 15, 1964, s. 763-774.
- KEIL, B. — ŠORMOVA, Z.: Laboratorní technika biochemie. Praha 1959. 872 s.
- KUUSI, T. — AALTO, M.: On post-mortem changes in the nucleotides of fresh-water fish muscle. J. Fd Technol., 3, 1968, s. 107-114.
- KYZLINK, V. — BRENDL, J. — ČURDA, D. — ČURDOVÁ, M. — KLEIN, S.: Laboratorní cvičení z technologie neúdržných potravin. Praha, SNTL 1964. 329 s.
- LALOV, M. — AVRAMOV, A.: Changes in the buffering capacity of muscle tissue during refrigerated storage of freshwater fish. Naučni Trudove, Visš Institut po Chranitelná i Vkusova Promyšlenost, 19, 1972, č. 1, s. 51-58. In: Fd Sci. Technol. Abstr., 6, 1974, 9R480.
- LAWRIE, R. A.: The onset of rigor mortis in various muscles of the draught horse. J. Physiol., Lond., 121, 1953, s. 275-288.
- MEJBAUM, W.: Über die Bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in Derivation der Adenylsäure. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 258, 1939, s. 117-120.
- MOORJANI, M. N. — IYENGAR, J. R. — VISWESWARIAL, K. — BHATIA, D. S. — SUBRAHMANYAN, V.: Changes in the total volatile base, volatile reducing substances and bacterial count as indices of fresh water fish spoilage. Fd Technol., 12, 1958, č. 8, s. 385-386.
- MUNSEY, D. T. — BOUCHER, B. — SILVERMAN, G. J.: Microbial alternation of redox potential in food and model systems. Abstracts of the Annual Meeting of the American Society for Microbiology, 73, 1973, s. 19.
- NAZIR, D. J. — MAGAR, N. G.: Biochemical changes in fish muscle during *rigor mortis*. J. Fd Sci., 28, 1963, s. 1-7.
- PARTMANN, W.: Rigor- und Gefrieränderungen bei Süswasserfischen in Abhängigkeit von der Zeit *post mortem*. Arch. Fisch. Wiss., 11, 1960, s. 81-216.
- PARTMANN, W.: Untersuchungen zur Beurteilung autolytischer und bakterieller Einflüsse auf den Fischverderb. Z. Lebensmittelunters. Forsch., 129, 1965-1966, s. 205.
- PAWAR, S. S. — MAGAR, N. Q.: Biochemical changes in catfish, Tilapia and Mrigal fish during *rigor mortis*. J. Fd Sci., 30, 1965, s. 121-125.
- PEARSON, D.: Food analysis-techniques, interpretation and legal aspects. XVI. The assessment of spoilage of fish and meat by chemical methods. Lab. Pract., 11, 1962, č. 7, s. 538-540.
- PEARSON, D.: Application of chemical method for the assessment of beef quality. IV. Physicochemical and miscellaneous methods. J. Sci. Fd Agric., 19, 1968, č. 10, s. 556-559.
- REAY, G. A. — SHEWAN, J. M.: The spoilage of fish and its preservation by chilling. Adv. Fd Res., 2, 1949, s. 343.
- Sborník veterinárních předpisů. Praha, MZLVH 1962. 1037 s.
- SHEWAN, J. M.: The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: Adv. in Fd Sci., Butterworths, London 1962. s. 167-193.
- SHEWAN, J. M. — JONES, N. R.: Chemical changes occurring in cod muscle during chill storage and their possible use as objective indices of quality. J. Sci. Fd Agric., 8, 1957, s. 491-497.
- SMETANA, M.: Konzumní sladkovodní ryby z hlediska hygieny potravin. Živočišná Výroba, 11, 1966, s. 249-259.
- SMETANA, M.: Studie změn ovlivňujících požitelnost leklých kaprů. [Kandidátská disertace.] Brno 1969. 236 s. — Vysoká škola veterinární. Katedra hygieny a technologie potravin.
- SOMORA, J.: Spolehlivost některých objektivních metod používaných při posuzování kaprů. [Diplomová práce.] Brno 1956. 69 s. — Vysoká škola veterinární. Katedra hygieny a technologie potravin.
- SPINELLI, J.: Biochemical basis of fish freshness. Process. Biochem., 6, 1971, č. 5, s. 36-37, 54.

- SCHÖNBERG, F.: Zum Wert des Ammoniaknachweise in Fischfleisch mit Nessler's Reagens für die Beurteilung von Fischen, insbesondere Seefischen. Arch. Lebensmittelhyg., 12, 1961, č. 7, s. 166-168.
- TANEKO, S.: Novýj metod opredělení letuščego vosstanavlivajuščego vėščestva i ego priměnenie. Bull. Tokai, Reg. Fish. Res. Lab. 1959, č. 26, s. 89-98. In: Ref. Ž. Chimija 1961, 9H192.
- TARR, H. L.: Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar phosphates and sugars in fish muscles a review. J. Fd Sci., 31, 1966, s. 846-854.
- THOMPSON, A. F. — FOX, L. C. — LANDMANN, R. E.: The effect of water and temperature and the deterioration of freeze-dried beef during storage. Fd Technol., 16, 1962, č. 9, s. 131-133.
- THYMIAN, E.: Welche Möglichkeiten stehen den Lebensmittelchemiker zur Verfügung und den tierärztlichen Sachverständigen bei der Fischbeurteilungen. Mh. VetMed., 12, 1957, s. 647-648.
- TOMIYASU, Y. — ZENITANI, B.: Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. Adv. Fd Res., 7, 1957, s. 41.
- TRUTTWIN, H.: Bestimmung der Alterung des Fisches mittels jodometrischer Titration. Z. Lebensmittelunters. Forsch., 97, 1953, s. 275-281.

Došlo dne 12. 6. 1979

ГИЛКА, Й. — ГАБРДА, Й. — МАТИАШ, З. — ЯНКОВА, Б. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Годность некоторых химических методов для оценки свежести хранимых задохнувшихся карпов. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 551-562.

Для оценки степени свежести хранимых необескровленных карпов испытывали некоторые простые химические методы в качестве вспомогательных критериев для ветеринарного решения относительно съедобности. В экспериментальных условиях, в которых задохнувшиеся карпы хранились при холодильной и комнатной температурах, а именно или в воде, или на воздухе, установлены статистически незначимые различия у изучаемых критериев между свежими и портящимися рыбами для большинства индикаторов. С точки зрения требований к химическим индикаторам пригодным оказалось только определение уровня рибозы. Изменения уровня рибозы были в достоверной корреляции с органолептическими изменениями свежести мяса хранившихся карпов.

карпы; хранение; свежесть; химические методы

GILKA, J. — HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — JANKOVÁ, B. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Suitability of Some Chemical Methods for Evaluating the Meat Freshness of Stored Suffocated Carp*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 551-562.

For the assessment of the degree of meat freshness of stored unbleeded carp some simple chemical methods were tested to be used as auxiliary criteria for veterinary decisions regarding the edibility. Under the experimental conditions where the suffocated carp were stored at cooling and room temperatures in water or in the air, differences were determined in the followed criteria between fresh and deteriorating fish which were statistically insignificant for most indicators. In view of requirements regarding chemical indicators only the determination of ribose content was found to be expedient. Changes in the levels of ribose were significantly correlated with the sense-detected changes in meat freshness of the stored carp.

carp; storage; freshness; chemical methods

GILKA, J. — HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — JANKOVÁ, B. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Eignung einiger chemischen Methoden zur Bewertung des Frischegrads gelagerter erstickter Karpfen*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 551-562.

Zur Bewertung des Frischegrads der gelagerten nichtentbluteten erstickten Karpfen überprüfen wir einige einfache Methoden als Hilfskriterien für die veterinäre Entscheidung über die Genießbarkeit dieser Fische. Unter Versuchsbedingungen, bei denen die erstickten Karpfen bei Kühlraum- und Zimmertemperaturen gelagert

wurden, und zwar entweder im Wasser oder auf der Luft, stellten wir statistisch unsignifikante Unterschiede in den untersuchten Kriterien zwischen frischen und verderbenden Fischen bei der Mehrzahl der Kennziffern fest. Vom Gesichtspunkt der Anforderungen an die chemischen Indikatoren erwies sich nur die Bestimmung des Riboseniveaus als geeignet. Die Veränderung dieses Indikators korrelierte signifikant mit den organoleptischen Veränderungen der Frische des Fleisches der gelagerten Fische.

Karpfen; Lagerung; Frischezustand; chemische Methoden

Adresa autorů:

MVDr. ing. Jaroslav Gilka, MVDr. Jan Habrda, prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., MVDr. Blanka Janková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

ZMĚNA HLADIN RIBÓZY V MASE SKLADOVANÝCH KAPRŮ

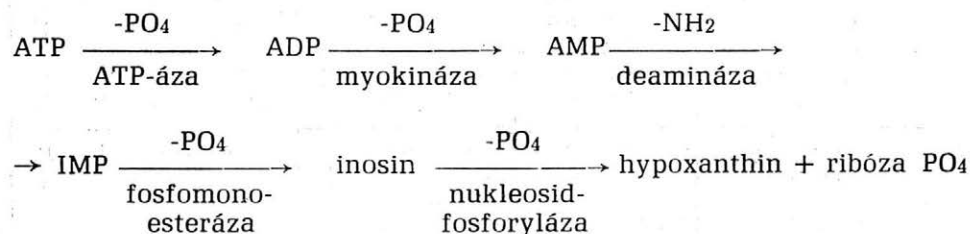
J. Gilka, J. Habrda, A. Kliková, Z. Matyáš

GILKA, J. — HABRDA, J. — KLIKOVÁ, A. — MATYÁŠ, Z. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Změna hladin ribózy v mase skladovaných kaprů*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 563-571.

Ke sledování změn ribózy v mase kaprů během skladování jsme využili stanovení celkové ribózy rozpustné v kyselinách, ribózy precipitující hydroxidem barnatým (volná ribóza), poměru těchto dvou hodnot a stanovení z alkalického extraktu síranu zinečnatého. Již u čerstvě zdušených kaprů jsme našli poměrně vysoké hladiny ribózy rozpustné v kyselinách i ribózu volnou. Rovnoměrné zvyšování pentózy v alkalickém extraktu síranu zinečnatého dovoluje využít postupu k hodnocení ztráty čerstvosti masa kaprů při skladování; jako hraniční hodnotu pro nepoživatelné kapry lze považovat hladinu $> 10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ kapři; skladování; ribóza v mase

Při sledování změn některých chemických charakteristik masa skladovaných kaprů jsme zjistili, že se zevními smyslovými příznaky čerstvosti koreluje hladina ribózy v mase, a může být proto indexem zkázy [Gilka aj., 1979]. Tento vztah byl již dříve zjištěn ve svalu tresky [Shewan a Jones, 1957]. V čerstvé tresce nebyla ribóza přítomna a její hladina stoupala až při ledování a po 12 dnech klesla [Jones, 1956].

Původ volné ribózy v rybím mase se vysvětluje tím, že se téměř úplně uvolňuje ze svalového adenosintrifosfátu v podstatě podle rovnice [Spinelli, 1971]:



Při tom mohou vznikat ještě další intermediární sloučeniny [Shewan a Jones, 1957]. Při štěpení ATP vzniká tak vedle hypoxanthinu, jehož hladina se užívá k hodnocení zkázy ryb, i ribóza. Její stanovení je

jednoduché a nevyžaduje speciálních chemikálií [např. enzymatické testy s omezenou údržností]. Rychlost, se kterou degradují nukleotidy, široce kolísá a musí se proto určit pro jednotlivé species ryb, má-li být tohoto jevu využito ke stanovení čerstvosti (Spinelli, 1971). Účelem práce bylo podrobně sledovat biologickou variabilitu v uvolňování ribózy v mase jednotlivých tržních kaprů podle již popsáné zjednodušené metody (Gilka aj., 1979) a srovnat ji se starší metodou, využívající srážení octanem barnatým.

MATERIÁL A METODA

K pokusu jsme použili kapry z obchodní sítě v předvánočním období (sádkování). Ryby o průměrné hmotnosti 1,54 kg (v rozsahu 1,42–1,77 kg) jsme ponechali v nádrži s vodou přes noc, aby se zadusily (lekly). Druhý den ráno, pokud ještě některé ryby jevíly příznaky života, byly zabity úderem na hlavu, ale nevykrveny. Potom jsme je náhodným výběrem rozdělili do čtyř skupin po osmi kusech tak, že šestnáct kaprů bylo skladováno za chladírenské teploty, šestnáct za pokojové teploty. Polovina z každých šestnácti kaprů byla pak přechovávána ve vodě a druhá

I. Průměrné hodnoty smyslového vyšetření a chemických charakteristik (mmol kg⁻¹) ($P < 0,05 \uparrow$; $P < 0,01 \uparrow\uparrow$) — Average values of sensory examination and chemical and the significance of differences ($P < 0.05 \uparrow$; $P < 0.01 \uparrow\uparrow$)

Charakteristika		Čerstvě uhynulé (kontroly)	3 dny	t-test mezi dny	5 dnů	t-test mezi dny		
		$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	0 a 3	$\bar{x} \pm s$	0 a 5	3 a 5	
Smyslové vyšetření (body)	na vzduchu ve vodě	0,74 ± 0,05	1,69 ± 0,12	↑↑	2,41 ± 0,08	↑↑	↑↑	
		0,79 ± 0,04	1,90 ± 0,08	↑↑	2,65 ± 0,11	↑↑	↑↑	
Ribóza ky- selinoroz- pustná (B)	na vzduchu ve vodě	56,93 ± 4,64	69,61 ± 3,06	↑↑	71,04 ± 5,76	↑↑		
		58,72 ± 2,52	68,49 ± 3,63	↑↑	62,56 ± 5,53			↓
Ribóza volná (A)	na vzduchu ve vodě	0,40 ± 0,04	1,36 ± 0,33	↑↑	1,92 ± 0,26	↑↑		↑
		0,44 ± 0,05	1,32 ± 0,40	↑↑	2,12 ± 0,34	↑↑		↑↑
A B · 100	na vzduchu ve vodě	0,72 ± 0,10	1,96 ± 0,51	↑↑	2,72 ± 0,44	↑↑		↑
		0,75 ± 0,07	1,94 ± 0,61	↑↑	3,42 ± 0,66	↑↑		↑↑
V alkalickém 10% ZnSO ₄	na vzduchu ve vodě	4,23 ± 0,43	5,96 ± 1,23	↑↑	9,51 ± 1,07	↑↑		↑↑
		4,25 ± 0,63	5,99 ± 1,05	↑↑	9,56 ± 2,03	↑↑		↑↑
Glukóza	na vzduchu ve vodě	2,51 ± 0,42	3,49 ± 0,42	↑↑	5,31 ± 1,56	↑↑		↑↑
		2,78 ± 0,57	3,18 ± 1,00		5,31 ± 1,21	↑↑		↑↑
pH	na vzduchu ve vodě	6,55 ± 0,09	6,51 ± 0,03		6,47 ± 0,05	↓		↓↓
		6,61 ± 0,10	6,51 ± 0,06	↓	6,46 ± 0,07	↓		↓
α-amino-N	na vzduchu ve vodě	661,4 ± 210,6	660,5 ± 73,80		542,30 ± 81,0			
		616,9 ± 58,7	628,9 ± 67,70		563,20 ± 87,8			
Amoniak	na vzduchu ve vodě	6,25 ± 0,80	4,90 ± 0,47	↓↓	4,84 ± 0,52	↓↓		
		5,78 ± 0,97	4,84 ± 0,45	↓↓	5,34 ± 0,59	↓		↑

polovina na vzduchu. Jako kontrolní hodnoty byly použity hodnoty čerstvě zadušených kaprů. Každou rybu jsme nejprve smyslově vyšetřili na zevní znaky čerstvosti, které byly bodovány podle určitého schématu (H a b r d a aj., 1979). Pak jsme z každé ryby vyřízli na boku proužek o šířce asi 3 cm směrem dorzoventrálním tak, aby byla zachycena průměrná svalovina. Po stažení kůže byla svalovina co nejrychleji posekána na jemno, promíchána a z ní navažováno. Extrakt s vychlazenou pětiprocentní kyselinou trichloroctovou nebo alkalickým síranem zinečnatým (10% ZnSO_4 v 0,5 N NaOH) — (H e n r y, 1964) byl připraven v poměru 1:9 (w/v) po rozmixování s příslušným roztokem a filtrací. V roztoku s kyselinou trichloroctovou jsme stanovili celkový obsah ribózy rozpustné v kyselině (A), ribózy nevysrážené a hydroxidem barnatým (ribóza volná B) — (S h e w a n a J o n e s, 1957; P a w a r a M a g a r, 1965) a z nich jsme vypočítali procentuální poměr A/B. V extraktu alkalického síranu zinečnatého byla stanovena hladina rozpustné ribózy (P a w a r a M a g a r, 1966) a glukózy (H e n r y, 1964). V extraktu s kyselinou trichloroctovou byl dále stanoven obsah ninhydrinpozitivních látek (H o m o l k a, 1971), ve vodním extraktu 1:3 bylo stanoveno pH a obsah amoniaku difúzní metodou na Conwayových miskách (D v o ř á k, 1958) ke kontrole zračního a rozkladného pochodu v mase.

Mezi hodnotami u čerstvě zadušených ryb (kontroly) a hodnotami nalezenými v průběhu vyšetření v jednotlivých časových periodách (u masa v chladírně po třech, pěti, sedmi, deseti a dvanácti dnech, u masa při pokojové teplotě po prvním, druhém a třetím dnu) jsme porovnávali statistickou významnost párovým t -testem.

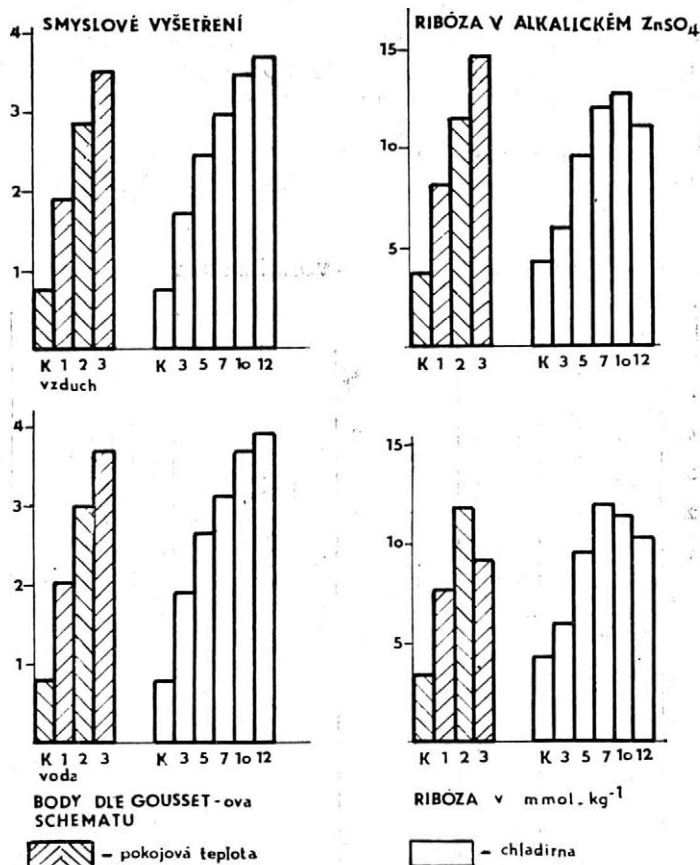
masa kaprů ($n = 8$) skladovaných v chladírně (-2°C) a významnost rozdílů characteristics (mmol per kg) of carp meat ($n = 8$) stored in a cooling room (-2°C)

7 dnů		t -test mezi dny		10 dnů		t -test mezi dny		12 dnů		t -test mezi dny	
$\bar{x} \pm s$		0 a 7	5 a 7	$\bar{x} \pm s$		0 a 10	7 a 10	$\bar{x} \pm s$		0 a 12	10 a 12
2,93 ± 0,07		↑↑	↑↑	3,41 ± 0,08		↑↑	↑↑	3,65 ± 0,11		↑↑	↑↑
3,11 ± 0,06		↑↑	↑↑	3,68 ± 0,05		↑↑	↑↑	3,90 ± 0,05		↑↑	↑↑
57,07 ± 6,73			↓↓	9,49 ± 1,12		↓↓	↓↓	9,13 ± 1,02		↓↓	
56,13 ± 6,07			↓↓	8,35 ± 1,15		↓↓	↓↓	7,60 ± 1,05		↓↓	↓
2,45 ± 0,13	↑↑	↑↑		2,12 ± 0,20	↑↑	↑↑	↓↓	2,08 ± 0,19	↑↑		
2,37 ± 0,16	↑↑			2,02 ± 0,26	↑↑	↑↑	↓↓	1,77 ± 0,23	↑↑		↓
4,37 ± 0,73	↑↑	↑↑		22,44 ± 1,97	↑↑	↑↑		22,97 ± 2,48	↑↑		
4,27 ± 0,48	↑↑	↑↑		24,53 ± 4,23	↑↑	↑↑		23,45 ± 2,94	↑↑		
11,91 ± 0,97	↑↑	↑↑		12,60 ± 1,53	↑↑	↑		11,00 ± 1,41	↑↑		↓↓
11,94 ± 2,18	↑↑	↑		11,40 ± 0,85	↑↑			10,25 ± 2,56	↑↑		
10,56 ± 3,85	↑↑	↑↑		14,59 ± 4,01	↑↑	↑↑		13,07 ± 2,45	↑↑		↓
9,43 ± 3,79	↑↑	↑↑		12,09 ± 4,20	↑↑	↑↑		10,13 ± 3,25	↑↑		↓↓
6,52 ± 0,04				6,17 ± 0,15	↓↓	↓↓		6,61 ± 0,04		↑↑	
6,51 ± 0,06	↑	↑		6,18 ± 0,12	↓↓	↓↓		6,65 ± 0,08		↑↑	
615,80 ± 68,00				599,10 ± 108,7				554,30 ± 36,70			
539,20 ± 77,00	↓↓			500,20 ± 47,8	↓↓			487,70 ± 72,70	↓↓		
5,17 ± 0,42	↑			5,06 ± 0,66	↓↓			5,85 ± 0,59		↑↑	
4,81 ± 0,80	↓↓		↓	5,19 ± 0,50				5,50 ± 1,03			

II. Průměrné hodnoty smyslového vyšetření a chemických charakteristik (mmol kg⁻¹) masa kaprů ($n = 8$) skladovaných při pokojové teplotě a významnost rozdílů ($P < 0,05 \uparrow$; $P < 0,01 \uparrow\uparrow$) — Average values of sensory examination and chemical characteristics (mmol per kg) of carp meat ($n = 8$) stored at a room temperature and the significance of differences ($P < 0.05 \uparrow$; $P < 0.01 \uparrow\uparrow$)

Charakteristika		Čerstvě uhynulé (kontroly $\bar{x} \pm s$)	1 den $\bar{x} \pm s$	t -test mezi dny 0 a 1	2 dny $\bar{x} \pm s$	t -test mezi dny 0 a 2 1 a 2	3 dny $\bar{x} \pm s$	t -test mezi dny 0 a 3 2 a 3
Smyslové vyšetření (body)	na vzduchu ve vodě	0,74 $\pm$ 0,05	1,86 $\pm$ 0,05	$\uparrow\uparrow$	2,83 $\pm$ 0,07	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	3,48 $\pm$ 0,74	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
		0,79 $\pm$ 0,04	2,03 $\pm$ 0,09	$\uparrow\uparrow$	2,99 $\pm$ 0,08	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	3,68 $\pm$ 0,07	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
Ribóza kyselinoroz- pustná (B)	na vzduchu ve vodě	70,72 $\pm$ 2,90	66,91 $\pm$ 1,84	$\downarrow\downarrow$	54,78 $\pm$ 3,17	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$	41,28 $\pm$ 5,57	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$
		69,43 $\pm$ 3,30	63,83 $\pm$ 2,23	$\downarrow\downarrow$	49,46 $\pm$ 2,35	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$	33,70 $\pm$ 7,72	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$
Ribóza volná (A)	na vzduchu ve vodě	1,42 $\pm$ 0,12	1,41 $\pm$ 0,12		1,35 $\pm$ 0,27		1,31 $\pm$ 0,37	
		1,47 $\pm$ 0,33	1,47 $\pm$ 0,33		0,98 $\pm$ 0,41	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$	0,63 $\pm$ 0,40	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$
$\frac{A}{B} \cdot 100$	na vzduchu ve vodě	2,01 $\pm$ 0,17	2,12 $\pm$ 0,24		2,49 $\pm$ 0,54	$\uparrow \uparrow$	3,30 $\pm$ 1,29	$\uparrow \uparrow$
		2,11 $\pm$ 0,44	2,06 $\pm$ 0,54		1,95 $\pm$ 0,74		2,53 $\pm$ 3,88	
V alkalickém 10% ZnSO ₁	na vzduchu ve vodě	3,64 $\pm$ 0,57	8,01 $\pm$ 1,36	$\uparrow\uparrow$	11,41 $\pm$ 1,24	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	14,53 $\pm$ 1,55	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
		3,40 $\pm$ 0,43	7,68 $\pm$ 1,88	$\uparrow\uparrow$	11,61 $\pm$ 2,42	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	9,17 $\pm$ 4,38	$\uparrow\uparrow \downarrow$
Glukóza	na vzduchu ve vodě	1,95 $\pm$ 0,34	2,43 $\pm$ 0,55	$\uparrow\uparrow$	3,15 $\pm$ 0,87	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	4,99 $\pm$ 2,20	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
		1,78 $\pm$ 0,57	1,97 $\pm$ 1,10		2,44 $\pm$ 1,81		4,33 $\pm$ 3,76	$\uparrow \uparrow$
pH	na vzduchu ve vodě	7,11 $\pm$ 0,21	6,59 $\pm$ 0,10	$\downarrow\downarrow$	5,70 $\pm$ 0,39	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$	7,38 $\pm$ 0,29	$\uparrow \uparrow$
		7,05 $\pm$ 0,28	6,55 $\pm$ 0,10	$\downarrow\downarrow$	6,04 $\pm$ 0,16	$\downarrow\downarrow \downarrow\downarrow$	7,58 $\pm$ 0,13	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
α -amino-N	na vzduchu ve vodě	739,20 $\pm$ 117,60	630,40 $\pm$ 99,20		723,00 $\pm$ 70,10		715,80 $\pm$ 108,80	
		739,20 $\pm$ 78,80	666,20 $\pm$ 76,60		872,90 $\pm$ 95,90	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$	649,60 $\pm$ 79,10	$\downarrow \downarrow$
Amoniak	na vzduchu ve vodě	6,05 $\pm$ 0,67	6,41 $\pm$ 0,75		6,81 $\pm$ 0,99		8,39 $\pm$ 0,68	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$
		6,19 $\pm$ 0,47	6,22 $\pm$ 0,99		6,15 $\pm$ 1,04		10,23 $\pm$ 2,27	$\uparrow\uparrow \uparrow\uparrow$

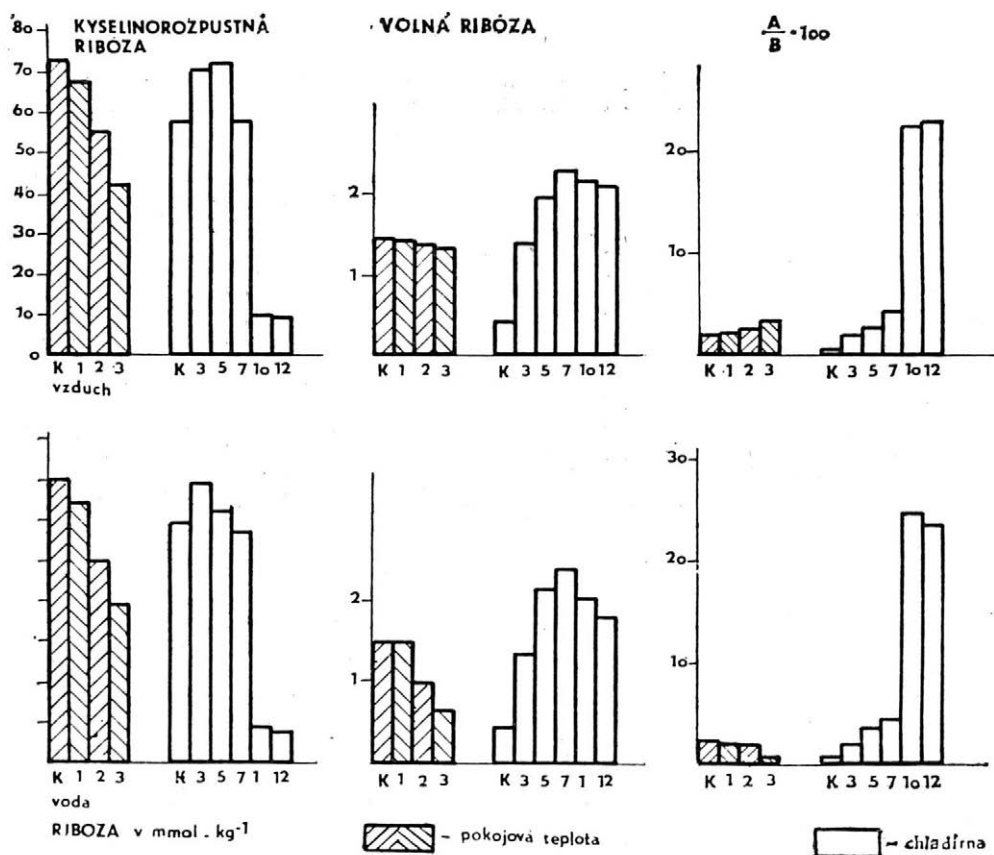
Smyslovým vyšetřením vnějších znaků čerstvosti ryb a bodovým hodnocením jsme našli významné zvýšení bodů ($P < 0,01$), svědčící o postupném kažení skladovaných kaprů za všech podmínek skladování nejen pro srovnání s hodnotami čerstvě zadušených ryb (v souladu s prací Habrda aj., 1979), ale i pro časové intervaly předcházejících měření (obr. 1). Podle toho bylo možné považovat skladované kapry za nepoživatelné sedmý den v chladírně a druhý den při pokojové skladovací teplotě (třída C).



Již u čerstvě zadušených kaprů jsme našli poměrně vysoké hladiny ribózy rozpustné v kyselinách pro všechny jednotlivé vyšetřované ryby, a to bez ohledu na to, zda kapři byli přirozeně zadušeni anebo na počátku experimentu usmrceni úderem na hlavu. Souhlasí to s názorem, podle kterého je v kapřím svalu velmi rychlý proces deaminace adenosintrifosfátu; kdykoliv se proto objeví změny doprovázené štěpením adenosintrifosfátu, akumulují se značná množství inosinmonofosfátu a ty se pak konvertují na inosin a hypoxanthin [Saito a Arai, 1958]. Svědčí také o tom, že sádkování kapři jsou skutečně do určité míry vyčerpaní [Smetana, 1966], neboť ribóza vzniká hlavně degradací ATP

(Tarr, 1966) a ve vyčerpaném svalu je jeho většina konvertována na inosinmonofosfát (Jones, 1962). To není nevýhodné, neboť se tvrdí, že inosinmonofosfát dodává žádoucí charakteristickou vůni a chuť rybí tkáni (Spinelli a Miyauchi, 1968). V dalších dnech měření se u ryb skladovaných při pokojové teplotě hladina ribózy rozpustné v kyselinách již vůbec nezvyšovala (obr. 2); naproti tomu u kaprů v chladírně skladovaných na vzduchu se její hladina zvýšila ještě pátý den, ale vždy poměrně málo (cca o 25 % a 17 %). Hladina ribózy rozpustné v kyselinách začala významně ($P < 0,01$) klesat v chladírně od sedmého dne a při pokojové teplotě již od prvního dne skladování. Při pokojové teplotě činil pokles během tří dnů celkem asi 40 % (když hranice nepoživatelnosti bylo dosaženo již dříve mezi prvním a druhým dnem). V chladírně jsme významný pokles ($P < 0,01$) zhruba na hodnotu čerstvé ryby pozorovali pátý den skladování, ale pokles byl prudký zejména desátý den (cca o 85 % počáteční hodnoty).

Na rozdíl od tresky, v jejíchž svalových extraktech nebyla přítomna volná ribóza (Jones, 1958), jsme ve svaích skladovaných kaprů našli v průměru z celkové ribózy 0,72 až 1,47 % volné ribózy, tj. ne-



precipitované octanem barnatým (obr. 2). Zatímco však u ledované tresky byla od pátého dne skladování téměř veškerá ribóza ve volné formě (Shewan a Jones, 1957), byl její obsah ve svalch kaprů změněn jen velmi málo po dobu relativní požitelnosti masa, i když se v této době její procento velmi významně zvýšilo ($P < 0,01$) u kaprů v chladírně z 0,72 % na 4,27 % a v době zkázy činilo již kolem 25 %. Naproti tomu u ryb skladovaných při pokojové teplotě se obsah volné ribózy stále pohyboval kolem 2 %; to lze přičíst tomu, že se podle zevních znaků čerstvosti ryby rychleji kazily a změny ribózy zůstaly za zkázou opožděny. Tomuto názoru by nasvědčovaly i významně vyšší ($P < 0,01$) hodnoty pH třetí den měření a do určité míry i amoniaku, jehož hladina v masě však byla stále ještě nízká, aby se podle ní mohlo rozhodnout, že maso je nepoživatelné. Naproti tomu tyto indexy zkázy byly zcela neurčité při chladírenském skladování kaprů. Procentuální poměr ribózy neprecipitované hydroxidem barnatým k celkové ribóze rozpustné v kyselinách (A/B; obr. 2) nepřekročil u zkažených kaprů hodnotu 24 % v chladírně a 4 % při pokojové teplotě, zatímco u zmrazené tresky se uvádí při dobré kvalitě hodnoty až 50 % (Shewan a Jones, 1957). Tento poměr se významně ($P < 0,01$) lišil pouze u kaprů skladovaných v chladírně, u nichž prudce stoupl po sedmém dnu skladování (asi pětkrát), tedy v době, kdy smyslové vyšetření ryb již udávalo zkázu a nepoživatelnost; při pokojové teplotě skladování byly však hodnoty zcela neurčité a nepoužitelné.

Jestliže jsme k extrakci svalové tkáně kaprů použili alkalického roztoku $ZnSO_4$, našli jsme, že se hladiny ribózy rovnoměrně zvyšovaly s dobou skladování a se ztrátou čerstvosti ryb a jejich masa bez ohledu na skladovací podmínky (obr. 1). Významně vyšší rozdíly ($P < 0,01$) v hladinách jsme zjišťovali jak při srovnání s kontrolní hodnotou čerstvě zadušených ryb, tak i vzhledem ke každému předchozímu stanovení až do stadia úplné zkázy při pokojové teplotě (u ryb ve vodě byl již třetí den pozorován pokles). Podobně pro ryby skladované v chladírně jsme pozorovali významné zvýšení úměrné s dobou skladování hlavně do sedmého dne; od desátého dne se hladina ribózy ještě zvýšila ($P < 0,05$) proti předcházející hodnotě u ryb na vzduchu, ale ve vodě se již snížila ($P < 0,01$). Podle toho by tímto stanovením bylo možné hodnotit maso kaprů do pěti dnů chladírenského skladování jako ještě požitelné a za hraniční hodnoty zkažených kaprů považovat hladiny větší než $10 \mu\text{mol kg}^{-1}$. Hladiny ribózy stanovené v alkalickém $ZnSO_4$ jsou dvoj- až šestnásobně vyšší u čerstvě zadušených kaprů proti hodnotám získaným jako neprecipitovaná volná ribóza hydroxidem barnatým; patrně se zúčastní barevné kolorimetrické reakce i další přítomné pentózy. I když se uvádí, že při metodě s orcinolem může kromě pentóz interferovat i glukóza (Mejbaur, 1939), průběh změn ribózy v alkalickém $ZnSO_4$ byl rovnoměrný, bez rušivého vlivu; metoda je proto využitelná jako index čerstvosti. Hladiny glukózy se rovnoměrně a významně ($P < 0,01$) zvyšovaly pouze v masě kaprů skladovaných na vzduchu, a to za obou teplotních podmínek; naproti tomu u kaprů ve vodě za chladírenské teploty se zvyšovaly až do pátého dne měření, za teploty pokojové pak vůbec ne.

Hladiny ninhydrinpozitivních látek (tj. převážně volných aminokyselin a nízkomolekulárních peptidů), podobně jako amoniaku a pH, se

v mase měnily nerovnoměrně patrně proto, že ryby se kazily od povrchu. Nemohou proto sloužit k přesnějšímu odhadu zkázy a nepoživatelnosti ryby na rozdíl od ribózy, jejíž postupné uvolňování v mase v závislosti na čase skladování je vyvoláno autolytickou činností tkáně.

Souhrnně je z obsahu celkové ribózy rozpustné v kyselinách a ribózy precipitují hydroxidem barnatým i z jejich poměru patrné, že u zadušených kaprů dochází v mase před exitem k určitému vyčerpání energetických zásob adenosintrifosfátu do stadia inosinmonofosfátu. Volnou ribózu nacházíme v malém množství v mase kaprů ihned po smrti, ale její množství se zvyšuje jen poměrně málo do stavu zkaženosti a nepoživatelnosti. Rovnoměrné zvyšování ribózy (a patrně i jiných pentóz) lze pozorovat při stanovení v extraktu alkalického $ZnSO_4$; tento postup je proto vhodný ke sledování zkázy kapřího masa při skladování zadušených kaprů.

Literatura

- DVOŘÁK, Z.: Použití mikrodifuzních metod v potravinářské analýze. Prům. Potravin., 8, 1958, č. 6, s. 1-3.
- GILKA, J. — HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — JANKOVÁ, B.: Vhodnost některých chemických metod k hodnocení čerstvosti skladovaných zadušených kaprů. Vet. Med., Praha, 24, 1979, č. 9, s. 551-562.
- GOUSSET, J. — TIXERANT, G. — ROBLLOT, M.: Inspection des produits de la pêche. Informations Techniques des Direction des Services Vétérinaires, 34, 1971, s. 141-192.
- HABRDA, J. — MATYÁŠ, Z. — PALÁSEK, J. — GILKA, J.: Organoleptické a mikrobiologické vyšetření zadušených kaprů skladovaných za různých podmínek. Vet. Med., Praha, 24, 1979, č. 9, s. 543-550.
- HENRY, R. J.: Clinical chemistry. New York 1964. 1128 s.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody. Avicenum, Praha 1971. 506 s.
- JONES, N. R.: Free sugar estimation in codling (*Gadus callarias*) muscle. Biochem. J., 62, 1956, s. 7P-8P.
- JONES, N. R.: The estimation of free sugars in skeletal muscle of codling (*Gadus callarias*) and herring (*Clupea harengus*). Biochem. J., 68, 1958, s. 704-708.
- JONES, N. R.: Fish muscle enzymes and their technological significance. In: Res. Adv. Fd. Sci., vol. I, Butterworths, London 1962, s. 151-166.
- MEJBAUM, W.: Über die Bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in Derivaten der Adenylsäure. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 258, 1939, s. 117-120.
- PAWAR, S. S. — MAGAR, N. G.: Biochemical changes in catfish, Tilapia, and Mrigal fish during *rigor mortis*. J. Fd Sci., 30, 1965, s. 121-125.
- PAWAR, S. S. — MAGAR, N. G.: Chemical changes during frozen storage of pomphrets, mackerel, and sardines. J. Fd Sci., 31, 1966, s. 87-93.
- SAITO, T. — ARAI, K.: Further studies of inosinic acid formation in carp muscle. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., 23, 1958, s. 579-580.
- SHEWAN, J. M. — JONES, N. R.: Chemical changes occurring in cod muscle as objective indices of quality. J. Sci. Fd Agric., 8, 1957, s. 491-497.
- SMETANA, M.: Konzumní sladkovodní ryby z hlediska hygieny potravin. Živočišná Výroba, 11, 1966, s. 249-159.
- SPINELLI, J.: Biochemical basis of fish freshness. Process Biochem., 6, 1971, s. 36-37, 54.
- SPINELLI, J. — MIYAUCHI, D.: Irradiation of Pacific coast fish and shellfish. 5. The effect of 5-inosine monophosphate on the flavor of irradiated fish fillets. Fd Technol., 22, 1968, s. 781-783.
- TARR, H. L.: Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar phosphates and sugars in fish muscles — a review. J. Fd Sci., 31, 1966, s. 846-854.

Došlo dne 12. 6. 1979

ГИЛКА, Й. — ГАБРДА, Й. — КЛИКОВА, А. — МАТИАШ, З. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Изменение уровней рибозы в мясе складываемых карпов. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 563-571.

Для исследования изменений рибозы в мясе карпов во время складирования мы использовали определение общей рибозы, растворимой в кислотах, рибозы, преципитирующей гидроокисью бария (несвязанная рибоза), отношения этих двух величин и определения сульфата цинка. Уже у свежее задохнувшихся карпов нашли сравнительно высокие уровни рибозы, растворимой в кислотах, и несвязанной рибозы. Равномерное повышение пентозы в щелочном экстракте сульфата цинка позволяет использовать этот метод для оценки утраты свежести мяса карпов при хранении. В качестве предельного значения для несъедобных карпов можно считать уровень, превышающий 10 микромолей/кг⁻¹.

карпы; хранение; рибоза в мясе

GILKA, J. — HABRDA, J. — KLIKOVÁ, A. — MATYÁŠ, Z. (Veterinary Research Institute, Brno): *Change of Ribose Levels in the Meat of Stored Carp*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 563-571.

To study the changes in ribose levels in carp meat during storage, total ribose soluble in acids was determined, ribose precipitating by barium hydroxide (free ribose), the ratio of these two values, and determination from the alkaline extract of zinc sulphate was also used. Already in freshly suffocated carp relatively high levels of acid-soluble ribose were found as well as free ribose. The even increase of pentose in the alkaline extract of zinc sulphate allows to use the procedure for the evaluation of carp meat loss of freshness during storage; the limiting value for inedible carp meat is the content > 10 μmol per kg.

carp; storage; ribose levels in meat

GILKA, J. — HABRDA, J. — KLIKOVÁ, A. — MATYÁŠ, Z. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Veränderungen der Riboseniveaus im Fleisch gelagerter Karpfen*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 563-571.

Zu Untersuchungen der Veränderungen der Ribose im Fleisch von Karpfen während der Lagerung benutzten wir die Bestimmung der in Säuren löslichen Gesamtribose, der mit Bariumoxyd präzipitierenden Ribose (freien Ribose) und des Verhältnisses dieser zwei Werte, sowie die Bestimmung im alkalischen Extrakt des Zinksulfats. Bereits bei den frisch erstickten Karpfen fanden wir verhältnismäßig hohe Niveaus der in Säuren löslichen und der freien Ribose. Die gleichmäßige Erhöhung der Pentose im alkalischen Zinksulfatextrakt ermöglicht die Ausnutzung dieses Vorgangs zur Bewertung des Verlustes des Frischezustands des Fleisches bei Lagerung der Karpfen. Als Grenzwert für ungenießbare Karpfen kann das Niveau > 10 μmol kg⁻¹ betrachtet werden.

Adresa autorů:

MVDr. ing. Jaroslav Gilka, MVDr. Jan Habrda, MVDr. Alena Kličková, prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

K. Koudela

KOUDELA, K. (Vysoká škola zemědělská, Praha): *Kyselina močová ve tkáních a v krvi kuřecích zárodků*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 573-576.

V játrech, ledvinách a kosterní svalovině běháku, v krevní plazmě a v krvinkách 90 kuřecích zárodků výchozího plemene leghornka bílá, užitkový hybrid Primant, se zjistila kyselina močová ve všech intervalech sledované ontogenetické řady. Kyselina močová se stanovila kolorimetricky v supernatantu tkáňových homogenátů, v krevní plazmě a v krvinkách 10., 15. a 20. den inkubace. Ve všech vyšetřovaných vzorcích se zjistil signifikantní vzestup ($p < 0,05$) tohoto metabolitu.

kur domácí; inkubace; kyselina močová; játra; ledviny; kosterní svalovina běháku; krev

Kuřecí zárodky jsou stále vyhledávaným studijním objektem molekulární biologie [Schjeide aj., 1973; Krampitz aj., 1974].

U kuřecích zárodků lze právem předpokládat biosyntézu konečného produktu exkrece dusíku — kyseliny močové (KM). O dynamice KM u kuřecích zárodků máme pouze nepřímé důkazy. DreI a Agafonová (1964) dokázali, že urikotelní typ exkrece dusíku mají kuřecí zárodky vytvořen již 16. den inkubace; dynamiku rozhodujícího katalytického enzymu syntézy KM — xanthin dehydrogenázy v játrech, ledvinách, dvanáctníku a slinivce kuřecích zárodků analyzují Fisher aj. (1967) a Lee a Fisher (1971). Také u ptáků, podobně jako u primátů, je KM konečným produktem katabolismu purinů. Během inkubace významně stimuluje transformaci purinů na KM, a to přes syntézu kyseliny inosinové, etylaminothiodiazol (Duggan aj., 1968). V průběhu inkubace se u kura domácího významně mění transport důležitého prekursoru KM — xanthinu (Taube a Berlin, 1970).

V dosažitelné literatuře se nám nepodařilo získat údaje o výměně KM během inkubace. Zatím spolehlivě nevíme, od kdy se KM začíná syntetizovat, ve kterém orgánu a v jaké intenzitě.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu bylo zařazeno celkem 90 kuřecích zárodků. Vejce nosnic výchozího plemene LB, užitkový hybrid Primant, se inkubovala za vyhovujících zootechnických podmínek v Drůbežárně ŠZP VŠZ Praha. Kuřecí zárodky jsme ke studiu odebírali 10., 15. a 20. den inkubace. Po uvolnění skořápky zubní vrtáčkou se vypreparovala embrya a odebraly se vzorky jater, ledvin, svaloviny běháku a krve. Krev se odbírala z umbilikálních tepen a žil, počet krvinek se stanovil baničkovou metodou. Fyziologickým roztokem dvakrát promyté krvinky se hemolyzovaly 0,05% saponi-

nem. K získání krevní plazmy jsme použili jako protisrážlivý prostředek heparin v substanci. Kyselinu močovou jsme stanovili kolorimetricky metodou podle Hořejšího aj. (1964) v supernatantu hemolyzátu krvinek, v krevní plazmě, nebo v supernatantu homogenátu jater, ledvin či kosterní svaloviny levostranného běháku. Směsné vzorky heparinizované plazmy a krvinek jsme získali vždy ze tří zárodků, ostatní vzorky se vyšetřovaly individuálně, vždy z jednoho zárodku. Dosažené výsledky jsme vyhodnotili běžnými metodami variační statistiky.

VÝSLEDKY

V tab. I jsou shrnuty dosažené výsledky.

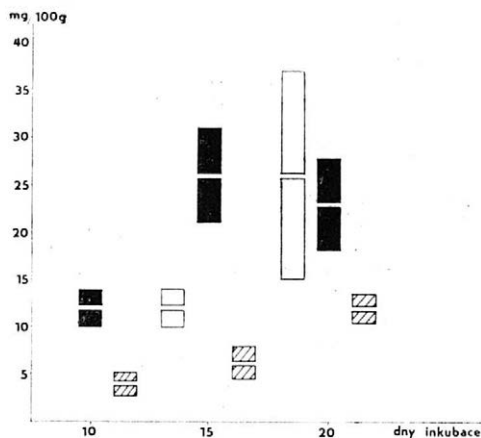
V játrech a ve svalovině běháku (obr. 1) se koncentrace KM během sledovaných intervalů inkubace signifikantně zvýšila ($p < 0,05$). V homogenátu ledvin (obr. 1) se koncentrace KM mezi 15. a 20. dnem inkuba-

I. Kyselina močová v krvi a ve tkáních kuřecích zárodků (v mg na 100 g) — Uric acid in the blood and tissues of chick embryos (mg/100 g)

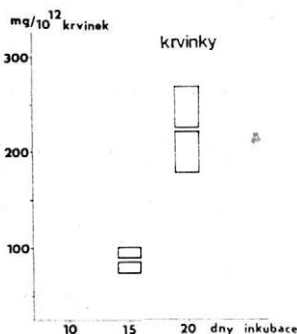
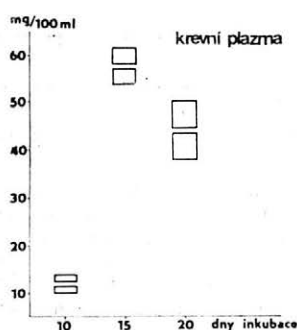
Věk (dny inkubace)	$\bar{x}$	s	v
Ledviny			
10	—	—	—
15	11,95	1,98	16,60 %
20	26,03	11,15	42,82
Játra			
10	11,95	1,99	16,65
15	26,15	4,66	17,80
20	22,53	6,56	29,11
Svalovina běháku			
10	3,92	1,18	29,96
15	6,01	2,03	33,72
20	11,72	1,80	15,34
Krevní plazma (v mg na 100 ml)			
10	11,93	1,98	16,55
15	57,25	4,29	7,48
20	44,25	6,42	14,49
Krvinky (v mg na 10^{12} erytrocytů)			
10	—	—	—
15	83,33	17,85	21,42
20	226,61	40,26	17,76

1. Dynamika kyseliny močové v játrech, ledvinách a kosterní svalovině běháku kuřecích zárodků — Dynamics of uric acid in the liver, kidney and skeletal muscle of shank in chick embryos

□ ledviny
■ játra
▨ svalovina běháku



bace na stejné hladině průkaznosti signifikantně zvýšila. Z obr. 2 je patrný signifikantní vzestup koncentrace KM v krevní plazmě. Také koncentrace KM v krvinkách kuřecích zárodků měla vysoce signifikantní vzestup (obr. 2) mezi 15. a 20. dnem inkubace.



2. Vývoj koncentrace kyseliny močové v krvinkách a heparinizované krevní plazmě kuřecích zárodků — The development of uric acid concentration in the blood cells and heparinized blood plasma of chick embryos

DISKUSE

Ve všech vyšetřovaných vzorcích kuřecích zárodků jsme KM prokázali. V krvi i v játrech jsme zjistili prudký vzestup koncentrace KM mezi 10. a 15. dnem inkubace. V kosterní svalovině běháku a v ledvinách měla KM výrazný vzestup mezi 15. a 20. dnem inkubace. Průkazem KM v embryonálním vývoji kura domácího se potvrdilo zjištění Lee a Fishera [1971] o přítomnosti enzymu, který katalyzuje biosyntézu KM během inkubace. Potvrdil se rovněž názor Dreila [1964] i Dreila a Agafonové [1969] o nástupu urikotelismu v embryonálním vývoji. Desátý den inkubace se nám nepodařilo odebrat spolehlivě vzorky ledvin, které byly velmi malé a při preparaci se drobily. Krve jsme ve stejném dni inkubace získali velmi málo, pouze tolik, kolik nám postačilo k získání plazmy. Koncentraci KM v krvinkách jsme proto nebyli schopni stanovit.

Lze uzavřít, že ve sledovaných dnech zkrácené embryonální ontogenetické řady se podařilo KM ve tkáních i v krvi prokázat, a to v progresivně se zvyšujících koncentracích.

Literatura

- DREL, K. A.: Glutamin sintetaza v pečeni kurinogo embriona v period perechoda k urikoteličeskomu tipu azotistogo obmena. Biochimija, 29, 1964, č. 4, s. 685-689.
- DREL, K. A. — AGAFONOVA, I. M.: Fermenty močevinoobrazovaniya v tkanjach kurinogo embriona. Biochimija, 29, 1964, č. 3, s. 452-455.
- DUGGAN, D. E. — PUA, K. H. — ELFENBEINIG: Purine metabolism in the chick embryo. Effects of uricogenesis and xanthine oxidase inhibition. Molec. Pharmacol., 4, 1968, č. 1, s. 53-60.
- FISHER, R. J. — CURTIS, J. L. — WOODWARD, W. D.: Developmental changes and control of dehydrogenases in developing chicks. Devl. Biol., 15, 1967, č. 4, s. 289-299.
- HOREJŠÍ, J. — FASSATI, M. — JÍCHA, J. a kol.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. 6. vydání. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1964. 643 s.
- KRAMPTZ, G. — GRONEUER, K. J. — HARDEBECK, H. — FÜHR, F.: Molekular-biologische Untersuchungen an Hühnereiern. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermit-
telk., 33, 1974, č. 5, s. 237-249.
- LEE, P. C. — FISHER, J. R.: Synthesis of xanthin dehydrogenase in liver and pancreas of developing chicks. Devl. Biol., 25, 1971, č. 1, s. 149-158.
- SCHJEIDE, O. A. — PRINCE, R. — NICHOLLS, T. — WANAMACHER, B.: Chemical and enzymatic differentiation of microsomes (endoplasmatic reticulum) in the chicken embryo. Cytobiologie, 8, 1973, č. 1, s. 3-18.
- TAUBE, R. A. — BERLIN, R. D.: Development of xanthine transport in intestine of the chick embryo. Am. J. Physiol., 219, 1970, č. 3, s. 666-671.

Došlo dne 21. 12. 1977

КОУДЕЛА, К. (Сельскохозяйственный институт, Прага): Мочевая кислота в тканях и в крови куриных эмбрионов. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 573-576.

В печени, почках и в скелетной мускулатуре ножки, в кровяной плазме и в кровяных тельцах 90 куриных эмбрионов исходной породы леггорн белый, промышленный гибрид Примант, установили мочевую кислоту во всех интервалах изучавшегося онтогенетического ряда. Мочевая кислота определена колориметрическим методом в супернатанте тканевых гомогенатов, в кровяной плазме и кровяных тельцах колориметрически на 10, 15 и 20 день инкубирования. Во всех обследованных образцах установили достоверное увеличение ($p < 0,05$) этого метаболита.

домашние куры; инкубация; мочевая кислота; печень; почки; скелетная мускулатура ножки; кровь

KOUDELA, K. (University of Agriculture, Praha): Uric Acid in the Tissues and Blood of Chick Embryos. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (9) : 573-576.

In the liver, kidney and skeletal muscle of the shank, blood plasma and blood cells of 90 chick embryos of the initial breed Leghorn White, commercial hybrid Primant, uric acid was found in all the intervals within the studied ontogenetic sequence. Uric acid was determined colorimetrically in tissue homogenate supernatant; in the blood plasma and in the blood cells it was determined colorimetrically on the 10th, 15th and 20th day of incubation. A significant rise ($p < 0.05$) of this metabolite was ascertained in all the samples tested.

domestic fowl; incubation; uric acid; liver; kidney; skeletal muscle of shank; blood

Adresa autora:

Doc. MVDr. Karel Koudela, CSc., Vysoká škola zemědělská, 160 21 Praha-Suchbát

Dvořák M.: Účinek halothanové anestézie na funkci kůry nadledvin a některé metabolity v krevní plazmě prasat necitlivých k maligní hypertermii	513
Navrátil S., Forejtek P.: Účinek aplikace LH-releasing hormonu na hladiny testosteronu v krvi kanců s poruchami sexuálních funkcí	525
Drábek J., Halouzka R., Piskač A.: Účinek vysokých dávek aflatoxinu na organismus prasat	531
Habrda J., Matyáš Z., Palásek J., Gilka J.: Organoleptické a mikrobiologické vyšetření zadušených kaprů skladovaných za různých podmínek	543
Gilka J., Habrda J., Matyáš Z., Janková B.: Vhodnost některých chemických metod k hodnocení čerstvosti skladovaných zadušených kaprů	551
Gilka J., Habrda J., Kliková A., Matyáš Z.: Změna hladin ribózy v masě skladovaných kaprů	563
Koudela K.: Kyselina močová ve tkáních a v krvi kuřecích zárodků	573

СОДЕРЖАНИЕ

Дворжак М.: Действие галотановой анестезии на функцию коры надпочечников и на некоторые метаболиты в кровяной плазме нечувствительных к злокачественной гипертермии свиней	513
Навратил С., Форейтек П.: Действие аппликации LH-releasing гормона на уровни тестостерона в крови хряков с расстройствами половых функций	525
Драбек Й., Халозка Р., Пискач А.: Действие высоких доз aflatoxинов на организм свиней	531
Габрда Й., Матиаш З., Паласек Й., Гилка Й.: Органолептические и микробиологические исследования задохнувшихся карпов, хранимых при разных условиях	543
Гилка Й., Габрда Й., Матиаш З., Янкова Б.: Годность некоторых химических методов для оценки свежести хранимых задохнувшихся карпов	551
Гилка Й., Габрда Й., Кликова А., Матиаш З.: Изменение уровней рибозы в мясе складываемых карпов	563
Коудела К.: Мочевая кислота в тканях и в крови	573

CONTENTS

Dvořák M.: The Effect of Halothane Anesthesia on the Function of the Suprarenal Cortex and on Some Metabolites in the Blood Plasma of Pigs Insensitive to Malignant Hyperthermia	513
Navrátil S., Forejtek P.: The Effect of LH-releasing Hormone Application on Testosterone Levels in the Blood of Boars with Sexual Dysfunctions	525
Drábek J., Halouzka R., Piskač A.: The Effect of High Aflatoxin Doses on the Swine Organism	531
Habrda J., Matyáš Z., Palásek J., Gilka J.: Organoleptic and Microbiological Examinations of Suffocated Carp Stored under Different Conditions	543
Gilka J., Habrda J., Matyáš Z., Janková B.: The Suitability of Some Chemical Methods for Evaluating the Meat Freshness of Stored Suffocated Carp	551
Gilka J., Habrda J., Kliková A., Matyáš Z.: Change of Ribose Levels in the Meat of Stored Carp	563
Koudela K.: Uric Acid in the Tissues and Blood of Chick Embryos	573

Dvořák M.: Wirkung der Halothananästhesie auf die Funktion der Nebennierenrinde und einige Metaboliten im Blutplasma der auf maligne Hyperthermie unsensible Schweine	513
Navrátil S., Forejtek P.: Wirkung der Applikation des LH-releasing-Hormons auf die Testosteronniveaus im Blut von Ebern mit Störungen der sexuellen Funktionen	525
Drábek J., Halouzka R., Piskač A.: Wirkung hoher Aflatoxingaben auf den Organismus der Schweine	531
Habrda J., Matyáš Z., Palásek J., Gilka J.: Organoleptische und mikrobiologische Untersuchung der unter verschiedenen Lagerungsbedingungen erstickten Karpfen	543
Gilka J., Habrda J., Matyáš Z., Janková B.: Eignung einiger chemischen Methoden zur Bewertung des Frischegrads gelagerter erstickter Karpfen	551
Gilka J., Habrda J., Kliková A., Matyáš Z.: Veränderungen der Riboseniveaus im Fleisch gelagerter Karpfen	563
Koudela K.: Harnsäure in den Geweben und im Blut von Kükenembryonen	573

Rukopis odevzdán k tisku 3. 7. 1979 – Podepsáno k tisku 11. 9. 1979

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.