

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



**Vliv krmných aditiv na hladinu skatolu a indolu
u vykrmovaných kanečků**

Bakalářská práce

Autor práce: Eliška Císařová

Obor studia: Kvalita produkce ATZK

Vedoucí práce: prof. Ing. Roman Stupka, CSc.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Vliv krmných aditiv na hladinu skatolu a indolu u vykrmovaných kanečků" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Romanovi Stupkovi, CSc. za vedení a konzultování mé bakalářské práce, poskytování podkladů a odbornou, vždy ochotnou pomoc. Dále bych ráda poděkovala své rodině, blízkým a přátelům, kteří mě po dobu studií podporovali a vedli k dobrým výsledkům.

Vliv krmných aditiv na hladinu skatolu a indolu u vykrmovaných kanečků

Souhrn

Bakalářská práce je zaměřena na problematiku kančího pachu, složek, které ho způsobují, s důrazem na skatol a indol, a metody stanovení a eliminace kančího pachu.

Kančí pach je charakteristický nepříjemným zápachem masa nekastrovaných kanců. Zápach je charakteristický především při vyšších teplotách. Vzniká při zvýšených koncentracích látek skatolu, indolu a androstenonu. Tomuto problému je nejčastěji zamezováno chirurgickou nebo imunologickou kastrací. Vhodnost těchto metod je však v posledním období diskutována z důvodu naplnění welfare chovaných zvířat, a proto se uvažuje o možnostech využití masa z nekastrovaných kanců.

Androstenon je steroidní feromon, který je syntetizován v Leydigových buňkách varlat a v játrech. Jeho výskyt je předurčen především geneticky, a proto je jeho společnému působení se skatolem a následně tvorbě kančího pachu zamezováno právě kastrací kanečků.

Výskyt kančího pachu můžeme omezit také genetickou selekcí pomocí markeru, kdy je markerový genotyp spojen s preferovaným fenotypem jedince.

Tvorba skatolu však nemá na rozdíl od androstenonu tak vysokou dědičnost, a proto u něj hraje velkou roli i vliv prostředí. Vysoké koncentrace skatolu v tukové tkáni jsou výsledkem složitého procesu, který zahrnuje mikrobiální tvorbu v tlustém střevě, absorpci, metabolismus a následné hromadění v tucích. Skatol totiž vzniká mikrobiální degradací tryptofanu v trávicím traktu. Zdrojem této aminokyseliny je odpad vzniklý odumíráním střevních buněk. Jeho výskyt je tedy ovlivněn především aktivitou střevní mikroflóry a současně zvolenou výživou. Proto můžeme pomocí krmných aditiv ovlivnit tvorbu a ukládání skatolu v tuku vykrmovaných kanečků.

Tato práce pojednává o fyziologických mechanismech tvorby skatolu a o mechanismech, pomocí kterých můžeme vytvořit účinné strategie krmení vedoucí k prevenci výskytu vysokých koncentrací skatolu v tukové tkáni prasat. Nejúčinnějšími jsou takové, které ovlivňují hned několik kroků jeho tvorby. Spolehlivá kontrola nadbytku skatolu u kanečků a řízení jeho nárůstu je jedním z předpokladů úspěšné produkce vepřového masa u nekastrovaných kanců.

Klíčová slova: prase, kanec, kančí pach, krmná aditiva, skatol, indol, androstenon

Influence of feed additive on skatole and indole levels in fattened boars

Summary

The bachelor thesis is focused on the issue of boar taint, the components that cause it, with emphasis on skatole and indole, and methods for determining and eliminating boar taint.

Boar taint is typical unpleasant smell of uncastrated boar meat. The taint is characteristic especially at higher temperatures. It is formed during elevated concentrations of skatole, indole and androstenone. This problem is most often prevented by surgical or immunological castration. However, the suitability of these methods has recently been discussed due to the fulfilment of the welfare of farmed animals, and therefore possibilities of using meat from uncastrated boars are being considered.

Androstenone is a steroid pheromone that is synthesized in the Leydig cells of the testicles and in the liver. Its occurrence is predetermined primarily genetically, therefore its common action with skatole, and the subsequent formation of boar taint is prevented by castration of boars.

The occurrence of boar taint can also be reduced by genetic selection using a marker, where the marker genotype is associated with a preferred phenotype of the individual.

However, unlike androstenone, skatole formation does not have such a high heredity, and therefore the influence of the environment also plays a large role in its production. High concentrations of skatole in adipose tissue are the result of a complex process that involves microbial formation in the colon, absorption, metabolism and subsequent accumulation in fat. Skatole is formed by microbial degradation of tryptophan in the digestive tract. The source of this amino acid is the waste created by the death of intestinal cells. Its occurrence is therefore mainly influenced by the activity of the intestinal microflora and chosen nutrition at the same time. Therefore, we can use feed additives to influence the formation and storage of skatole in the fat of fattened boars.

This thesis elaborates about the physiological mechanisms of skatole formation and the mechanisms by which we can create effective feeding strategies leading to the prevention of high concentrations of skatole in the adipose tissue of pigs. The most effective are those that affect several steps of its creation. Reliable control of skatole excess in boars and management of its growth is one of the prerequisites for successful pork production in uncastrated boars.

Keywords: pig, boar, feed additives, boar taint, skatole, indole, androstenone

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce.....	9
3	Kančí pach	10
3.1	Možnosti eliminace kančího pachu.....	10
3.2	Látky způsobující kančí pach	11
4	Skatol.....	13
4.1	Charakteristika skatolu.....	13
4.1.1	Biosyntéza skatolu	13
4.1.2	Metabolismus skatolu	13
4.1.3	Akumulace skatolu	15
4.1.4	Vnímání skatolu	16
4.2	Vzájemné působení mezi androstenonem a skatolem	17
5	Skatol ovlivňující faktory	18
5.1	Genotyp.....	18
5.1.1	Plemeno.....	18
5.1.2	Geny	21
5.1.2.1	Geny ovlivňující I. fázi metabolismu skatolu.....	21
5.1.2.2	Geny ovlivňující II. fázi metabolismu skatolu	22
5.1.2.3	Vzájemný vztah mezi geny pro androstenon a skatol.....	23
5.2	Pohlaví.....	23
5.3	Stáří a živá hmotnost	24
5.4	Výživa a krmení	25
5.4.1	Vliv dostupnosti tryptofanu ve střevě	25
5.4.2	Vliv složení diety na mikrobiální osídlení GIT	25
5.4.3	Vliv diety na enzymatický systém ovlivňující metabolismus skatolu v játrech	31
5.5	Prostředí.....	32
5.6	Management chovu	33
6	Detekce skatolu.....	34
6.1	Chemické senzory – elektronické nosy.....	34
6.2	Hmotnostní spektrometrie	35
6.3	Spektrofotometrie	36
6.4	Rychlá plynová chromatografie.....	36
6.5	Plynná spektrometrie.....	37
6.6	Biosenzory.....	38

7 Závěr.....	39
8 Literatura.....	40
9 Seznam grafů	48
10 Seznam obrázků	49

1 Úvod

Chov prasat je pro Českou republiku významnou komoditou zemědělské výroby, a to především díky tomu, že je vepřové maso velmi oblíbenou složkou lidské stravy a zároveň je zdrojem důležitých živočišných bílkovin, minerálních látek, vitamínů a další živin.

Česká republika v chovu hospodářských zvířat patří v Evropě mezi chovatelsky vyspělé země, a to i díky vysoké úrovni chovu prasat. V roce 2019 se v ČR podle údajů statistického úřadu chovalo 1 544 0844 prasat, z toho 90 889 prasnic. Spotřeba vepřového masa dosáhla cca 42 kg na osobu, což představuje více jak 50 % z celkové spotřeby masa. Minulý rok bylo v České republice poraženo 2 413 685 prasat. Přesto, že je vepřové maso na našem území nejkonzumovanějším druhem, jeho výroba u nás stále klesá. Během deseti let se snížila z 432 000 tun (2008) na 289 000 tun (2018) za rok.

V současné době v Evropě sílí požadavek na zajištění dobrých životních podmínek chovaným zvířatům. Prasata jsou považována za jedna z nejinteligentnějších zvířat. Proto se snažíme je chovat v optimálních chovatelských podmínkách. Technologie chovu se stále vyvíjejí. Optimalizují se krmné směsi, klade se větší důraz na dodržení minimálního prostoru při ustájení včetně umístění krmítek tak, aby k nim měla zvířata bezproblémový přístup. Zohledňuje se vhodný výběr technologie s ohledem na jednotlivé kategorie prasat a jejich potřeby. Zde je sledována například teplota, ventilace, proudění vzduchu, vlhkost nebo škodlivé plyny. Jsou jim přidávány i předměty na zabavení (hračky).

Jedním z diskutovaných problémů v členských zemích EU je zavedení zákazu vykonávat chirurgickou kastraci prasat bez anestéze. Kastrace, i když je provedena v prvním týdnu života kanečků, je podle řady odborníků nejen stresujícím jevem, ale i možným infekčním rizikem. Chirurgická kastrace samců (kanců) je rutinní a široce používané opatření v chovu prasat. Léta praktikovaná konvenční kastrace prasat několik dní po narození má zabránit rozvoji pohlavních žláz kanečků, zabránit agresivnímu chování a následně vyloučit produkci kančího pachu poškozujícího senzoričnou kvalitu vepřového masa.

V České republice bylo vždy tradicí konzumovat maso vepřů a prasniček. „Kančí pach“ je nepříznivý pro spotřebitele, který jej může pocítit při konzumaci.

Kastrace bez použití bolest tlumících prostředků nebo anestezie, které jsou v Evropské Unii povoleny provádět pouze do 7 dní po narození, jsou ovšem pro zvířata bolestivé. Proto se v posledních letech začalo značně hledět na welfare při tomto zákroku.

Protože jsou welfare a ekonomika produkce vepřového masa dvě z nejdiskutovanějších témat v chovatelské veřejnosti, začaly se užívat kromě chirurgické kastrace alternativní způsoby zamezení agresivity a minimalizace kančího pachu v podobě výkrmu kanečků nebo imunologické kastrace. Zajímavou cestou se jeví výkrm kanečků.

U výkrmu nekastrovaných kanečků se totiž oproti vepřům prokázala lepší užitkovost, tedy vyšší zmasilost, vyšší růstová schopnost (průměrný denní přírůstek) a lepší konverze krmiva. Zásadním problémem však zůstává možný výskyt kančího pachu ve vepřovém mase. Možnosti jeho eliminace jsou předmětem této práce.

2 Cíl práce

Cílem této práce je představit problematiku kančího pachu, zaměřit se a poskytnout informace o skatolu, jedné z hlavních složek, které ho způsobují. Dále popsat metody, kterými je možné kančí pach, respektive skatol, u vykrmovanýh kanců eliminovat a zároveň brát ohled na walfare zvířat.

3 Kančí pach

Mezi nejsledovanější užitkové vlastnosti u vykrmovaných prasat patří výkrmnost a jatečná hodnota, které obecně nazýváme produkční vlastnosti.

Výkrmností rozumíme růst a vývin organismu. Růst je základní proces, který charakterizuje živou hmotu a odlišuje ji od hmoty neživé. Je to schopnost organismů vytvářet z neživých produktů živou hmotu pomocí látkové výměny (Stupka et al. 2013). Je ovlivňován řadou faktorů, a to od genetického základu až po výživu, mikroklima nebo ustájení. Musí ji sledovat zejména šlechtitelé a chovatelé

Jatečnou hodnotu zvířat musí sledovat a zjišťovat producenti v prvovýrobě a zpracovatelé po porážce. Udává nám množství a kvalitu získaných produktů. Taktéž je ovlivňována řadou faktorů, mezi které patří např. pohlaví (Stupka et al. 2013).

Pohlaví se uplatňuje v průběhu celého života a má přímý vliv na různé utváření tkání v jatečných tělech prasat, což je způsobeno rozdílnými procesy metabolismu (Ingr 2003), má i přímý vliv na výskyt kančího pachu u samčího pohlaví.

Kančí pach se uvolňuje při zahřívání tuku u jatečně opracovaných těl kanců a je charakteristický velmi nepříjemnou vůní a chutí. Jedná se o jeden z hlavních problémů vyskytujících se u vepřového masa vykrmovaných kanečků.

Výskyt kančího pachu je při normálních porážkových hmotnostech, které se pohybují převážně mezi 115 – 120 kg, velmi variabilní a pohybuje se v intervalu 10 – 75 % (Malmfors & Lundström 1983).

3.1 Možnosti eliminace kančího pachu

Opatřením, které se nejčastěji používá k zamezení tvorby kančího pachu u samců, je jejich kastrace. Nekastrovaní samci mají lepší konverzi krmiva, rychleji rostou, mají méně tuku a větší jatečnou výtěžnost (Steinhauser et al. 1995).

Jednou možností je kastrace chirurgická, kterou je však od 1. ledna roku 2012 povoleno provádět za použití prodloužené analgezie nebo anestezie (Smítal 2018). Důvodem je vyvolaná dizkuze ohledně welfare prasat. Kastrace totiž vyvolává bolest a dostává zvířata do stresové situace.

Alternativou je kastrace imunologickou cestou. Jedná se o nekrvavou kastraci, kde se používá vakcína stimulující tvorbu specifických protilátek proti GnRH (gonadotropin-releasing hormon – hormon uvolňující gonadotropin) po revakcinaci na konci výkrmu. Vakcína snižuje produkci androstenonu snížením celkové hmotnosti varlat. Kvalita masa, denní přírůstky a konverze krmiva se však zachovávají stejné, jako u nekastrovaných kanců. Látka navíc snižuje projevy PSE (pale, soft, exsudative), neobsahuje geneticky modifikované organismy a zároveň díky své imunologické povaze neohroží kvalitu masa ani lidské zdraví cizorodými látkami. Je nutné ji však podávat minimálně měsíc před porážkou (Smítal 2018).

Allison (2008) provedl studii, kde uvádí, že se u jatečných půlek prasat kastrováním imunologickou cestou vytvořilo výrazně více libového masa oproti prasatům, která byla kastrována chirurgicky (obrázek 1).

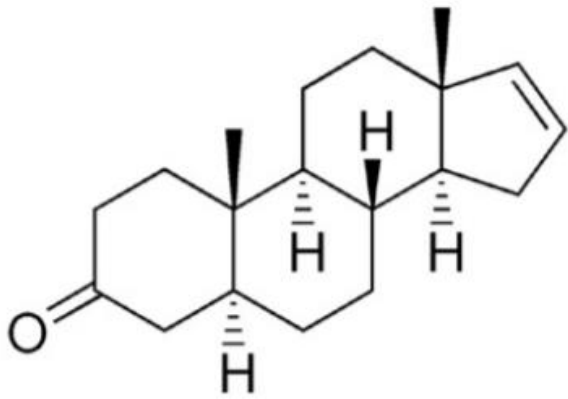


Obrázek 1: Rozdíl v utváření kotlety u nekastrovaných kanců, kanců kastrovaných imunologickou kastrací a kastrovaných kanců chirurgicky (Upraveno dle Allison 2008).

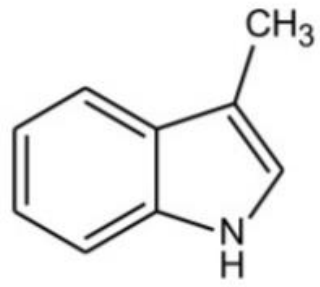
3.2 Látky způsobující kančí pach

Mezi látky způsobující kančí pach patří androstenon (5α -androst-16-ene-3-on), indol a skatol (3-methylindol). Androstenon (izomery 3α a 3β -androstenon) je steroidní feromon, který je syntetizován v Leydigových buňkách varlat a v játrech (Obrázek 2). Patří do skupiny přirozených samčích pohlavních hormonů, které vznikají z testosteronu, mající anabolický (biosyntéza bílkovin, retence dusíku) a urogenitální účinek (zránění spermií, činnost přídatných pohlavních žláz). Některé metabolity androstenonu jsou vylučovány močí, část androstenonu je transportována do slin, kde slouží jako feromon pro stimulaci sexuálního chování prasnic. Pro svoji lipofilní povahu se kumulují v tukové tkáni. Jeho zápach nám připomíná pot a moč (Dostálová et al. 2008). Druhou látkou je indol (Obrázek 3), který je ale zapojen v menším množství. Stejně jako androstenon a skatol páchne, ale vzhledem k citlivosti spotřebitelů není tento pach tak intenzivní, jako u androstenonu a skatolu. Třetí a nejvýznamnější látkou je skatol (Obrázek 2). Jedná se o indolovou sloučeninu, vzniklou jako produkt mikrobiální degradace (Patočka et al. 2006).

Všechny tři látky jsou lipofilní a hromadí se v tukové tkáni. Při větším množství se pak vytváří nepříjemný zápach, který je charakteristický u samců. V menším množství se ale může příležitostně vyskytnout v období říje i u samic (Dostálová et al. 2008; Bernardy 2010).

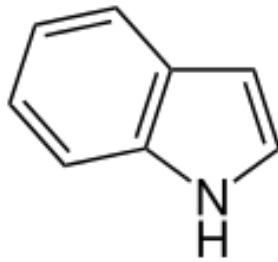


Androstenon



Skatol

Obrázek 2: Chemický vzorec androstenonu a skatolu (Palík 2011).



Obrázek 3: Chemický vzorec indolu (Hattrich 2015).

4 Skatol

4.1 Charakteristika skatolu

Skatol vzniká rozpadem bílkoviny z aminokyseliny tryptofanu za působení střevních bakterií a tvoří bílé krystaly (Deslandes et al. 2001; Patočka et al. 2006).

Je charakteristický velmi nepříjemným zápachem, ale v malém množství může například u rostlin vytvářet jejich charakteristickou vůni. Nejčastěji se vyskytuje ve výkalech zvířat a lidí, kde je zodpovědný za jejich typický zápach. Může se ale také objevit i u dalších živočišných druhů, například v bachoru přežvýkavců. V posledních letech je velmi studovanou látkou, a to nejen díky problematice kančího pachu, ale je také sledován i jeho mechanismus účinku na čichové receptory (Wesloy & Weiler 2012).

Skatol byl nedávno patentován pod číslem 6386113 ve Spojených státech jako malodorant, látka, která by mohla být použita v tzv. chemické neletální municí. Ta je používána v mnoha zemích při potlačování nepokojů a při prosazování zákonnosti a nevztahuje se na ni Úmluva o zákazu chemických zbraní (Patočka et al. 2006).

4.1.1 Biosyntéza skatolu

Skatol vzniká společně s indolem reakčním mechanismem degradace tryptofanu, který je omezen anaerobními podmínkami střevního traktu. Redukční proces vzniká ve třetí pozici bicyklické struktury (Annor-Frempong et al. 1997; Deslandes et al. 2001).

Tryptofan je deaminován na indol a kyselinu indol-3-pyruvovou. Ta je dále redukována na kyselinu indol-3-mléčnou a ta oxidativně dekarboxylována na kyselinu indolovou octovou. Tato klíčová látka přímo dává za vznik dekarboxylací finální produkt skatol (Deslandes et al. 2001; Whitehead et al. 2008).

Deaminace tryptofanu na indol je umožněna a katalyzována mnoho bakteriemi, zatímco dekarboxylaci kyseliny indolové octové na skatol mohou katalyzovat jen některé bakterie z rodu *Clostridium* a *Bacteriodes*, které představují méně než 0,01 % celkové střevní flóry (Bonneau 1993; Jensen & Jensen 1998; Cook et al. 2007; Whitehead et al. 2008; Wesloy & Weiler 2012).

4.1.2 Metabolismus skatolu

Důležitým faktorem, který ovlivňuje a reguluje akumulaci skatolu v jatečně upraveném těle, je metabolismus skatolu v játrech. Prasničky a vepřici metabolizují do takové míry, že mohou skatol účinně odstranit, zatímco u kanců je problém s nízkou hladinou enzymů, které jsou důležitou složkou při tomto metabolismu a jejich jatečně upravená těla prokazují vysoký obsah skatolu (Squires 2006).

Biosyntéza skatolu a indolu probíhá v distální části tlustého střeva, odkud jsou portální žilou transportovány do jater. Zde je většina metabolizována specifickými enzymy, ale malá část indolu absorbovaného v tlustém střevě nebo v konečníku může přecházet přímo do periferního krevního řečiště. Jelikož je metabolismus jater vysoce účinný, redukuje množství

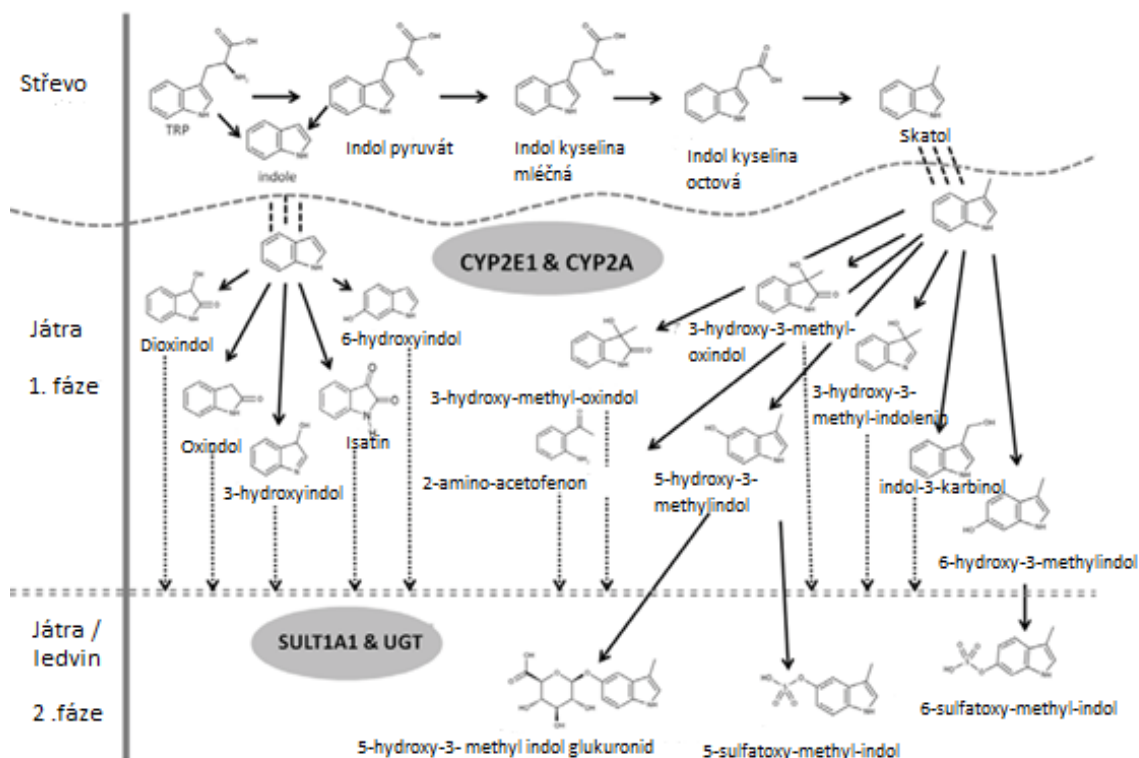
skatolu z původních portálních žil až o 90 % (Claus et al. 1993; Agergaard et al. 1993; Claus et al. 1994; Agergaard et al. 1998).

Za pomoci několika různých isoenzymů cytochromu P450, které jsou známé také tím, že hrají důležitou roli u metabolismu léčiv a xenobiotik, probíhá v játrech degradace skatolu ve dvou krocích – oxidační, což je první fáze metabolismu a konjugační, jako druhá část metabolismu.

Hlavními enzymy v první fázi jsou CYP2E1 a CYP2A. Za působení těchto enzymů se vytváří degradací sedm meziproductů, 3-hydroxy-3-methyl-oxindol, 2-aminoacetofenon, 5-hydroxy-3-methylindol, 3-hydroxy-3-methyl-indolenin, indol-3-karbinol a 6-hydroxy-3-methylindol, které potom přechází do druhé fáze metabolismu (Obrázek 4).

U druhé fáze hrají hlavní roli enzymy SULT1A1 (sulfotransferáza) a UGT (uridin-difosfát-glukuronosyltransferáza), které modifikují meziproducty první fáze zvýšením jejich hydrofilních vlastností tak, že přidávají sulfátové nebo glukuronové skupiny. Vzniká celá řada terminálních produktů, kde jsou nejdůležitějšími 6-sulfatoxy-skatol, sulfátované nebo glukuronové konjugáty 5-hydroxy-3-methylindolu a 3-hydroxy-3-methylindolu (Obrázek 4). (Agergaard et al. 1993; Baek et al. 1997; Diaz et al. 1999; Doran et al. 2002; Diaz et al. 2003; Robic et al. 2008; Zamaratskaia et al. 2009; Weircinska et al. 2011).

Mimo jiné se také během druhé fáze zvyšuje rozpustnost skatolových metabolitů ve vodě, což přispívá k snadnějšímu vylučování močí (Sinclair & Squires 2005; Sinclair et al. 2005; Rasmussen et al. 2012).



Obrázek 4: Tvorba skatolu (3-methylindolu) a indolu z TRP ve střevech a další metabolismus prostřednictvím enzymů fáze 1 a fáze 2 (celé šipky: známá cesta; přerušované šipky: předpokládaná cesta) (Upraveno dle Wesley & Weiler 2012).

4.1.3 Akumulace skatolu

K absorpci skatolu a indolu dochází podél tlustého střeva a obě látky jsou přenášeny do jater portální žilou. Celková denní absorpční rychlost se pohybuje mezi 820 – 365 μmol skatolu. Absorbované množství je ale úměrné produkovanému množství, což bylo zjištěno díky korelaci koncentrací skatolu v portální krvi, periferní krvi a fekáliích (Claus et al. 1993; Claus et al. 1994; Knarreborg et al. 2002).

Pokud se hladina skatolu v krvi zvýší a tento stav trvá delší dobu, kvůli své lipofilní povaze se hromadí a ukládá v tukové tkáni. Když je ale jeho tvorba v tlustém střevě snížena, klesají zároveň i hodnoty v tukové tkáni (Claus et al. 1994).

Tuková tkáň se u zvířat liší podle jejího složení mastných kyselin (Lo Fiego et al. 2005). Mezi hlavní faktory, které ovlivňují složení mastných kyselin, patří jednak celkové množství tuku u jednotlivce nebo plemene, typ tuku dle pozorované anatomické části (orgánový tuk, podkožní a intramuskulární tuk) a především složení KKS (kompletní krmné směsi) u monogastrů (Chiliard 1993; Lo Fiego et al. 2005). Méně tučná prasata mají nižší schopnost syntetizovat mastné kyseliny, což vede k ukládání tuku s vyšším obsahem nenasycených mastných kyselin (Metz & Dekker 1981; Scott et al. 1981).

Doposud nebyl prokázán vztah mezi ukládáním skatolu a množstvím ukládané tukové tkáně. Můžeme tento vliv však sledovat při porovnání koncentrací skatolu u různých plemen. Například u plemene Pietrain bylo pozorována nižší koncentrace skatolu a androstenonu než u plemene Bílé ušlechtilé. Podobně souvisí distribuce skatolu v jatečně upraveném těle s množstvím nasycených mastných kyselin v tukové tkáni (Aluwé et al. 2011). Obě látky mají vyšší zastoupení v tukové tkáni na břicho než na krku. Tuková tkáň s vyšším množstvím nasycených mastných kyselin a nižším obrátem hromadí více skatolu (Weiler et al. 1995; Lösel 2006; Monziols et al. 2007).

Vysoké koncentrace skatolu v tuku způsobuje jednak vysoké množství tryptofanu vstupujícího do tlustého střeva díky jeho nízké stravitelnosti v tenkém střevě, buněčné zbytky, přítomnost mikrobiálních kmenů, které syntetizují skatol, nedostatečné alternativní zdroje energie pro mikrobiální aktivitu a vysoká rychlost absorpce tráveniny. Dále snížená degradace skatolu v první fázi metabolismu v játrech a v druhé fázi metabolismu v játrech a ledvinách a následné ukládání v tukové tkáni, což vede k vysoké koncentraci skatolu v periferní krvi a v neposlední řadě i tukové tkáni (Obrázek 5) (Wesloy & Weiler 2012).

Část	Fyziologická dráha	Vnitřní vlivy	Krok	Efekt krmení a krmných aditiv
Sliznice tenkého a tlustého střeva	Mitóza ↓ Apoptóza	Endokrinní/ Parakrinní signály, dobré zdraví	A	+ via mitosis: energeticky a purinově bohaté krmivo - anti apoptotic: syrový bramborový škrob via butyrate +krmení TPR: nízká prececalní stravitelnost
Lumen tlustého střeva	TRP ze stravy ↓ Buněčný odpad ↓ TRP Některé mikroorganismy Specializované kmeny Clostridia, Lactobacilli	Dobré zdraví, pH, sekrece, voda, absorpce, pohyblivost	B	Mikrobiální populace: antibiotika, bylinné extrakty, kyseliny, vláknina
	Indol ↓ Energie ↓ Skatol Bakteriální bílkoviny		C	Energie pro střevní organismy
	Absorpce		D	Vláknina, SCFA
* Krev	Transport	Pohyblivost	E	Vláknina, SCFA
Játra	Skatol/Indol ↓ 1. fáze metabolismu ↓ 2. fáze metabolismu	Genotyp, věk, gonadální steroidy prostřednictvím enzymů 1. fáze věk, aktivita enzymů 2. fáze	E	Efekt na enzymy 1. fáze: +Vyjádření aktivita: čekanka, syrový bramborový škrob -Aktivita: česnekový esenciální olej
Krev	Transport			
Ledviny vylučování moči	Skatol/Indol ↓ 2. fáze metabolismu	Vyjádření / aktivita enzymů 2. fáze		
Krev	Transport		F	Složení mastných kyselin?
Tuková tkáň	Skatol/Indol mobilizace/uložení	Obrat tukové tkáň		

* - sliznice tlustého střeva

Obrázek 5: Dráha fyziologických událostí vedoucích k tvorbě skatolu, dalšímu metabolismu a akumulaci skatolu v tukové tkáni. Černé šipky: kroky vedoucí k vysokým koncentracím skatolu; hnědé šipky: skatol redukcující nebo neutrální podmínky (Upraveno dle Wesley & Weiler 2012)

4.1.4 Vnímání skatolu

Ve stopových množstvích skatol buď vůbec nevnímáme, nebo nám nijak nevádí. Naopak ho můžeme vnímat pozitivně u rostlin, jako například u jasmínu (*Jasminum*), narcisu (*Narcissus pseudonarcissus*) a pomerančového květu (*Citrus sinensis*), nebo v aroma kaka (Theobroma), wasabi (*Eutrema wasabi*) či křenu (*A Armoracia rusticana*). Vysoké množství už ale pro nás tak pozitivní není, spíše naopak. Je to pro nás většinou velice nepříjemný zápach, typický pro výkaly zvířat, které konzumují potravu s vysokým obsahem bílkovin (Lapčič 2008).

Některé národy zápach skatolu tolerují. Mezi ně patří například Francie nebo Čína. Jsou ochotni konzumovat maso, u kterého jiné národy vadu rozpoznají a odmítají ho (Rusko, Dánsko, Polsko). Vnímání této látky je ale ovšem velice individuální. Záleží na pohlaví, intenzitě zápachu a mnoha dalších faktorech (Lapčík 2008).

Některí producenti se snaží tento problém maskovat pomocí různých alternativních způsobů, například ochucováním masa pomocí koření, mletím masa a výrobou paštiky, karbanátků, klobás a jiných masných výrobků (Patočka a kol. 2006).

4.2 Vzájemné působení mezi androstenonem a skatolem

V počáteční fázi metabolismu skatolu hraje důležitou roli jaterní cytochrom P450 2E1 (CYP2E1). Nízké úrovně hladiny tohoto jaterního cytochromu se považují za hlavní faktor akumulace skatolu v tukové tkáni. Vysoké hladiny skatolu se ale neprokázaly u kastrovaných prasat, což se jeví jako souvislost mezi regulací výskytu CYP2E1 pomocí pohlavních hormonů – androstenonu. Androstenon totiž antagonizuje indukci enzymu CYP2E1 v izolovaných hepatocytech. Na tomto základě pak dochází k nižšímu rozkladu skatolu v játrech a jeho následnému ukládání v tuku (Tambyrajah et al. 2004).

5 Skatol ovlivňující faktory

5.1 Genotyp

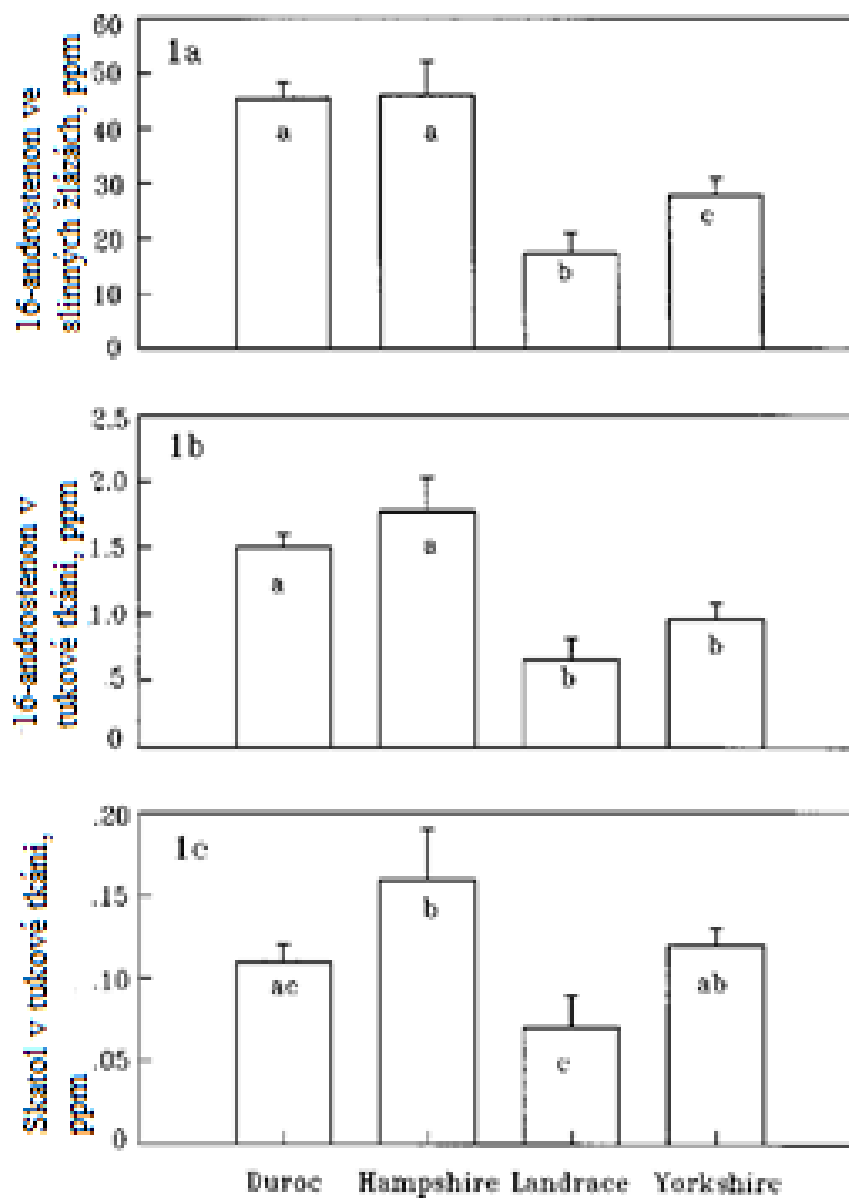
5.1.1 Plemeno

Vzhledem k nepříznivým reakcím spotřebitelů na maso s nepříjemným zápachem neboli kančím pachem byly zavedeny hodnoty, dle kterých posuzujeme míru kontaminace masa a případně zda je možné tyto produkty uplatnit dále na trhu. Jatečně upravená těla se považují za znehodnocená, pokud jejich tuk obsahuje 1,0 ppm 5 α -androstenonu (měřeno imunotestem), 50 ppm 16-androstenových steroidů ve slinných žlázách (měřeno kolorimetrickým testem) a 0,20 – 0,25 ppm skatolu v tuku (Desmoulin & Bonneau 1982; Mortensen et al. 1984; Babol et al. 1996).

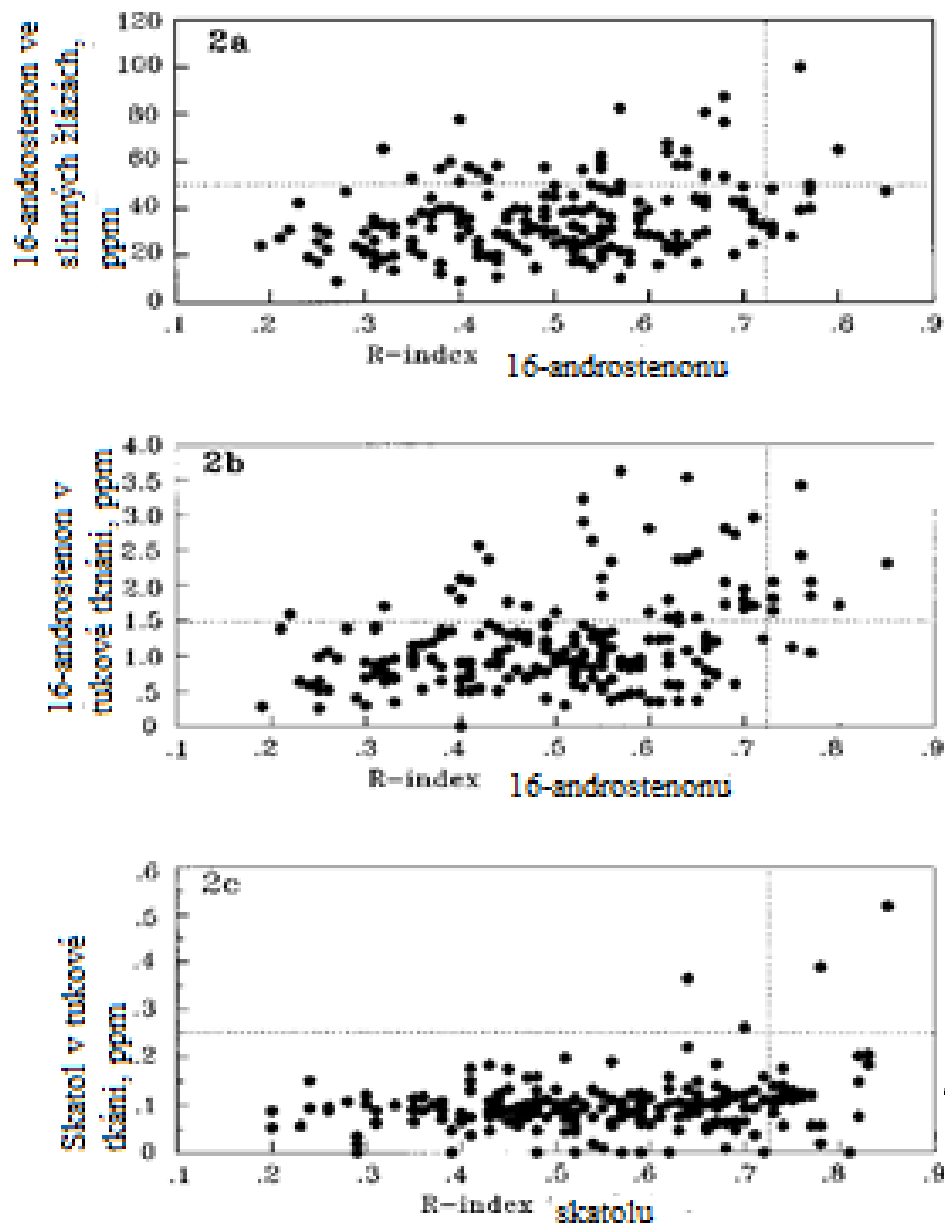
Boneau et al. (1979) uvádí, že plemeno Pietrain dosahuje vyšší koncentrace 5 α -androstenonu než kanci Belgické Landrace. Dle Falkenberg a Blodow (1981) se u německých kanců Edelschwein (Large white) vyskytuje obecně vyšší koncentrace androstenonu.

Xue et al. (1996) testoval 228 nekastrovaných kanců čtyř různých plemen (Duroc, Hampshire, Landrace a Yorkshire) a ve své práci uvedl výsledky rozdílů koncentrací androstenonu a skatolu u těchto jednotlivých plemen. Senzorické stanovení prokázalo celkový podíl kontaminovaných kančích těl oběma látkami z 15 %, pouze androstenonem 5 % a skatolem 11,4 %. U plemene Hampshire se prokázal nižší podíl kontaminovaných těl ($P < 0,05$), přičemž u 14,5 % prasat se objevily hladiny 16-androstenonu ve slinných žlázách a z nich celkem 20,9 % jich bylo nad přijatelnými limity. U plemene Duroc se objevily vyšší ($P < 0,05$) hladiny 16-androstenonu nad přijatelnými limity jak ve slinných žlázách, tak v tuku. Prasata plemene Landrace měla naopak nejnižší ($P < 0,05$) průměrné tkáňové koncentrace steroidů a skatolu (Graf 1). Stanovenou hranici skatolu v tuku, která je tedy 0,20 – 0,25 ppm, jak už bylo zmíněno výše, překročilo pouze 1,8 % prasat. Normativní korelační koeficient mezi hladinami v tuku a R-indexy tuku 16-androstenonu a skatolu byl 0,40 ($P < 0,001$) (Graf 2). Xue et al. (1996) skrze tyto výsledky poukazuje na to, že u plemen se vyskytují rozdíly v hladinách koncentrací tkáňových sloučenin určujících kančí pach. U různých plemen a linií prasat existují tedy geneticky podmíněné rozdíly v hladinách skatolu (Latorre et al. 2003). Kulturní plemena tvoří výrazně méně skatolu než prasata zušlechtěná a primitivní (Squires et al. 1997).

Graf 1 : Rozdíly plemen v koncentracích slinných žláz 16-androstenu (1a), 16-androstenu v tukové tkáni (1b) a skatolu v tukové tkáni (1c) (pruhy s různými písmeny se liší alespoň o $P < 0,05$ (Upraveno dle Xue et al. 1996).



Graf 2: Grafy rozptylu tkáňových koncentrací slinných žláz 16-androstenu (2a), tukové tkáně 16-androstenu (2b) a tukové tkáně skatolu (2c) proti R-indexům. Tečkované čáry označují mezní hodnoty, 0,72 pro R-indexy, 50 ppm pro slinné žlázy 16-androstenu, 1,5 ppm (Upraveno dle Xue et al. 1996).



5.1.2 Geny

Jelikož je výskyt androstenonu a skatolu ovlivněn geneticky a mají relativně vysokou dědivost, může být genetická selekce u kanců s nízkou hladinou těchto sloučenin cestou k celkovému snížení výskytu kančího pachu (Squires 2006).

Geny, které ovlivňují konkrétní sledovanou vlastnost, se nacházejí na lokusech kvantitativních znaků (QLT – Quantitative trait loci) v chromozomu. Ty můžeme rozpoznat porovnáním genotypů anonymních markerů s fenotypem konkrétně zkoumaných znaků (Squires 2006).

Pomocí genů, které jsou umístěny v QTL oblasti a dříve byly detekované za použití anonymních markerů, tedy pozičním kandidátským přístupem, či přímým vývojem markerů v genech, jinak nazýváno funkčním kandidátním genovým přístupem, můžeme identifikovat kandidátní geny. Za předpokladu, že je funkce genu dobře popsána nebo pokud byl QTL mapován ve velmi malé oblasti, díky které rozeznáme identitu genů, pokládáme kandidátský genový přístup za nejúčinnější (Squires 2006).

Podle Lee et al. (2005) byly rozpoznány QTL pro výskyt androstenonu na více místech, a to na chromozomech 2, 4, 6, 7 a 9. OTL, který ale indikuje kančí pach, je pouze na chromozomu 6. Chromozom 14 – SSC14 (SSC – sus scrofa chromosome) byl zase označen jako místo, které nejvíce ovlivňuje výskyt skatolu a Indolu, takže tento lokus má značný vliv při snižování výskytu kančího pachu.

Markerový genotyp můžeme použít pro rozhodnutí o výběru tehdy, pokud je spojen s preferovaným fenotypem. To označujeme jako selekci pomocí markeru. Vybírají se jednotlivci, kteří mají markerový genotyp spojený s žádoucím, nebo vylepšeným fenotypem, pro nadřazenost jejich genotypu QTL na základě jejich spojeného markerového genotypu. Marker by měl být pevně spojen s QTL, aby se docílilo úspěšného výběru z více generací a snížila se možnost rekombinačních událostí narušujících asociaci marker QTL. Genetickou změnu v genu, která přímo ovlivňuje použití a vlastnost tohoto polymorfismu jako markeru pro selekci představuje nakonec nejlepší marker (Squires 2006).

Studium polymorfismů v kandidátských genech je další možností vývoje a určení genetických markerů. Nejčastěji jsou to jednoduché nukleotidové polymorfismy (SNP – single-nucleotide polymorphism) v kandidátních genech. Polymorfismy mohou totiž působit právě na hladiny složek kančího pachu v oblasti, kde kandidátní geny kódují důležité enzymy pro metabolismus těchto složek (Squires 2006).

5.1.2.1 Geny ovlivňující I. fázi metabolismu skatolu

Diaz a Squires (2000) uvádí, že na I. fázi metabolismu skatolu v játrech mají vliv především dva geny, a to CYP2A6 a Cytochrom P450 2E1 (zkráceně CYP2E1).

Přestože je tento gen u prasat a lidí shodný, pro lidský organismus je označován jako CYP2A6 a u prasat ho nazýváme CYP2A19 (Chen et al. 2008; Duijvesteijn et al. 2010). Je dlouhý 5,4 kb, nachází se na šestém chromozomu, neboli SSC6 a má 5 exomů (Diaz & Squires 2000; Lin et al. 2004a; Čítek et al. 2019).

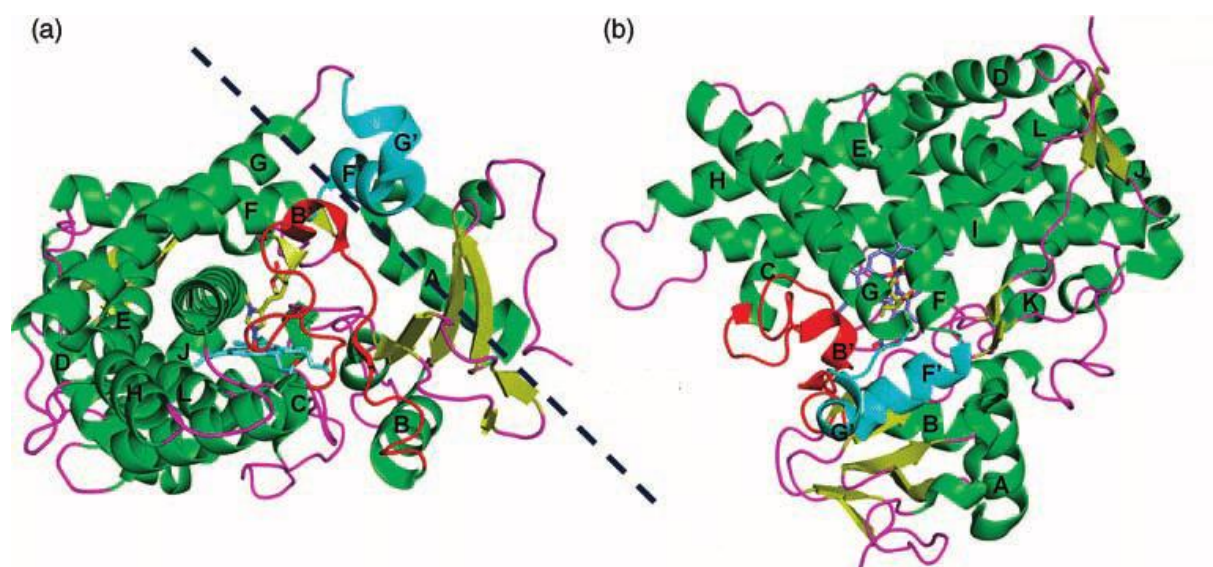
Nízká aktivita CYP2A6, která je zapříčiněna delecí guaninu v nukleotidu 421, vede k posunu kódující oblasti a změně její délky z 1485 na 612 bp. Způsobuje ztrátu enzymatické

aktivity a následné zvýšení skatolu v tukové tkáni prasat. Předpokládá se, že měření hodnot a aktivity CYP2A6 může pomoci k regulaci jeho hladin. (Diaz & Squires 2000; Lin et al. 2004a; Chen et al. 2008).

Jaterní cytochrom CYP2E1 (Obrázek 6) zaujímá důležitou roli v počáteční fázi metabolismu skatolu. Jedná se o mikrosomální enzym. Je indukován například pyridinem, acetonem nebo ethanolem jak v živých, tak i v izolovaných hepatocytech. Patří do oxidázového systému cytochromu P450 se smíšenou funkcí a podílí se na metabolismu ethanolu, či dalších nízkomolekulárních xenobiotik. Tato skupina enzymů se dělí do několika podkategorií, včetně CYP1, CYP2 a CYP3. Ty z velké části odpovídají za rozklad cizích látek u savců (Lewis et al. 2003; Tambyrajah et al. 2004).

Mezi funkce cytochromu P450 2E1 patří tvorba téměř 50 % celkové jaterní mRNA cytochromu P450 a 7 % jaterního proteinu cytochromu P450, metabolismus malých polárních molekul včetně dimethylformamidu, anilinu a halogenovaných uhlovodíků a metabolismus endogenních mastných kyselin (Shimada et al. 1994; Bièche et al. 2007).

Wiercinska et al. (2012) označil CYP2A19 a CYP2C49 jako další dva potenciálně důležité regulátory metabolismu skatolu a Matal et al. (2009) popsal vliv genu CYP1A2.



Obrázek 6: Struktura CYP2E1 ve dvou různých orientacích (Mustafa et al. 2014)

5.1.2.2 Geny ovlivňující II. fázi metabolismu skatolu

Hlavními enzymy II. fáze metabolismu jsou SULT1A1 (sulfotransferáza) a UGT (uridin-di-fosfát-glukuronosyltransferáza). Tyto enzymy se vyskytují převážně v játrech, ale nalézt je můžeme například i v ledvinách a plicích. Za vzniku terminálních produktů přeměňují sloučeniny vzniklé v I. fázi metabolismu skatolu (viz. kapitola 4.3.2.) (Agergaard et al. 1993).

SULT1A1 je velký zhruba 4 kb, obsahuje 6 exonů a byl pozorován na chromosomu SSC3, mezi markery SW72 a SW2527 (Lin et al. 2004b; Čítek et al. 2019). Jeho schopnost syntézy 6-sulfatoxyskatolu úzce souvisí s koncentrací skatolu v tukové tkáni. Plazmatická koncentrace 6-sulfatoxyskatolu je totiž hlavním krokem k rychlé metabolické clearanci skatolu,

což snižuje jeho koncentrace v tuku a tím je nízká i hladina kančího pachu. Proto sulfotransferáza hraje důležitou roli v II. fázi metabolismu a clearanci skatolu v těle prasat.

Tento gen studovali Lin et al. (2004b). Cílem studie bylo jej charakterizovat, izolovat z jater prasat, prozkoumat jeho expresi, identifikovat genetické polymorfismy a studovat, jak se genetická variace tohoto enzymu promítá do interindividuální variace v hladinách skatolu. Došli k závěru, že v kódující oblasti nukleotidu 546 dochází k substituci (A → G). Lysin se mění na glutamin a tato substituce způsobuje významné snížení jeho sulfatační aktivity. Z tohoto důvodu může být alespoň částečně odpovědný za vyšší hladinu skatolu.

V jiné studii je uvedeno, že nebyl u jiné zkoumané populace v této oblasti pozorován (Varona et al. 2005). Musí se tedy zohlednit plemeno či hybridní kombinaci prasat a provést další studie.

5.1.2.3 Vzájemný vztah mezi geny pro androstenon a skatol

Významným faktorem ovlivňujícím hladiny látek, které zapříčiňují výskyt kančího pachu, tedy androstenon a skatol, může být i jejich vzájemný vztah.

Babol et al. (1999) uvádí, že je androstenon metabolizován izolovanými mikrozomy z vepřových jater v přítomnosti NADH a NADPH (Nikotinamidadenindinukleotid a Nikotinamidadenindinukleotidfosfát), což jsou koenzymy oxidačně-redukčních reakcí v buňce a přenašeči atomů vodíků včetně elektronů (Ledvina et al. 2009). Vznikají dva metabolity – M I a II. Androstenon byl zahrnut do testování metabolismu skatolu, což vedlo ke snížení tvorby 6-hydroxyskatolu (pro MII) a dalších tří metabolitů skatolu ($P < 0,05$). Dále také korelovala rychlost metabolismu skatolu s rychlostí tvorby metabolitu I a metabolismu androstenonu. Metabolismus androstenonu v játrech ale neměl vliv na hladinu androstenonu v tuku. Dle dalších výsledků testů a korelací mezi hladinami skatolu a androstenonu v játrech Babol et al. (1999) uvádí, že jaterní metabolismus androstenonu a skatolu spolu souvisí. Je však pravděpodobné, že vztah mezi hladinami androstenonu a skatolu v tuku je způsoben spíše vazbou mezi testikulární syntézou androstenonu než metabolismem androstenonu a skatolu v játrech.

Doran et al. (2004) zase uvádí, že exprese cytochromu P450 2E1 (CYP2E1), enzymu zodpovědného hlavně za metabolismus skatolu, je potlačována androstenonem v izolovaných prasečích hepatocytech. Sníží se jeho aktivita (CYP2E1) a to vede k vyššímu ukládání skatolu v tuku prasat.

5.2 Pohlaví

Protože je kančí pach způsoben jak skatolem, tak i androstenonem, může se objevovat u kanečků, prasníček i vepříků. Androstenon je steroidní feromon syntetizovaný v Leydigových buňkách varlat a v játrech, tudíž se vyskytuje pouze u samců. Naproti tomu skatol se vytváří v játrech jak samců, tak i samic. Rozhodující je pak funkční enzymatický systém v játrech, který skatol rozkládá. Ten je u kanečků blokován vysokou hladinou androstenonu, čímž dochází k ukládání skatolu v tuku. Jelikož existují teorie, že vzájemné působení obou látek může zvyšovat jejich koncentrace a s tím i zvyšování kančího pachu, předpokládá se častější výskyt u kanců. Nevylučuje se však ani u samic a kastrátů.

5.3 Stáří a živá hmotnost

Dalšími faktory, které mohou výrazně ovlivnit výskyt skatolu a androstenonu u prasat, jsou jejich věk a živá hmotnost. Některé studie poukázaly na to, že mezi úrovněmi výskytu jednotlivých složek kančího pachu a různými hmotnostmi zvířat existují souvislosti. Se zvyšující se hmotností zvířat totiž zároveň roste jejich hladina ve svalových a tukových tkáních. Do 80 kg je výskyt kančího pachu podlimitní a do 100 – 110 kg se vyskytuje v malé míře. Právě proto, aby byly při porážkách hladiny těchto složek co nejnižší, se hledí především na věk a hmotnost zvířat, což může být správná cesta k bezproblémovému chovu kanců (Aluwe et al. 2011).

Jelikož androstenon antagonizuje tvorbu cytochromu, a tím je schopen regulovat akumulaci skatolu v tukové tkáni, je hladina skatolu také ovlivňována fází puberty kanců kvůli intenzitě tvorby těchto feromonálních hormonů produkovaných ve varlatech. V 8. týdnu věku se již začínají objevovat vysoké koncentrace skatolu v krevní plazmě, v 10 – 12 poté tato hladina klesne a k opětovnému navýšení dochází zase po 18. týdnu věku (Zamaratskaia et al. 2004). Proto uvádí, že k zamezení kančího pachu by se měla prasata porážet o hmotnosti nižší, než 100 kg.

Distribuce hladin skatolu a androstenu může souviset s věkem, zároveň ale i s plemenem. Babol et al. (2004) pozoroval různý nárůst koncentrací těchto látek u čtyř plemen prasat, a to u Yorkshire, Landrace, Hampshire a Duroc. U většiny byl sice zpozorován větší nárůst ve věku 180-200 dní, pokles se ale u jednotlivých plemen lišil. U Yorkshire a Landrace ve věku 240 – 260 dní, u Hampshire a Duroc až ve věku 310-360 dní. V době, kdy byly koncentrace látek zvýšené, tedy ve věku 180-360 dní, měla plemena zároveň různá procentuální zastoupení zvířat, u kterých se množství skatolu pohybovalo nad prahovou hodnotou – Yorkshire 25,5 %, Landrace 31,6 %, Hampshire 20,3 % a Duroc měl nejvyšší 61,1 %.

Babol et al. (2004) tedy uvádí, že zvýšené hladiny skatolu u nekastrovaných prasat jsou spojeny s pubertou a jeho měření právě v tomto věku by mohlo být vhodné při zvažování genetické selekce ke snížení kančího pachu. Rovněž by se měly brát v úvahu rozdíly v chovu.

Aluwe et al. (2011) uvedl souvislost věkového rozdílu a složek kančího pachu u plemen Pietrain (Pn), Large White (LW) a Belgické Landrase (BL). Kančí pach stanovoval čtyřmi různými metodami. Kanci LW a BL měli výrazně vyšší množství skatolu v tuku než kanci Pn. Dále uvedl, že u kanců, kteří byli poraženi ve vyšší hmotnosti 90 a 110 kg, byla pozorována vyšší intenzita zápachu androstenonu než u kanců, kteří byli poraženi v hmotnosti 50 kg. Zároveň v testu spotřebitelů se ukázalo, že ti nezaregistrovali výrazný rozdíl u jednotlivých plemen nebo v jatečné hmotnosti.

Aluwé et al. (2011) popisují, jak minimalizovat výskyt kančího pachu pečlivým výběrem kombinace plemene a zvolením vhodné jatečné hmotnosti.

5.4 Výživa a krmení

5.4.1 Vliv dostupnosti tryptofanu ve střevě

Jak již bylo zmíněno v dřívějších kapitolách, skatol vzniká mikrobiální degradací tryptofanu v trávicím traktu. Dostupnost tryptofanu u prasat je ovlivněna výskytem a aktivitou střevní mikroflóry, výživou, a to především proteinem obsaženém v potravě. Hladinu skatolu zvyšuje krmivo s nízkou precekální stravitelností bílkovin (Jensen et al. 1995; Wesloy & Weiler 2012).

Hlavním zdrojem tryptofanu je ale odpad vzniklý odumíráním střevních buněk neboli apoptóza erytrocytů. Jednou z cest vedoucí ke snížení výskytu a tvorbě skatolu je tedy omezení přístupu tryptofanu tím, že se omezí apoptóza střevních buněk a sníží se tak tento buněčný odpad. Nejzřetelnější změny a nárůst skatolu jsou především u čerstvě odstavených selat, kdy se přechází na jinou stravu, a to způsobuje reorganizaci střevní sliznice. Zvyšuje se tak počet odumřelých erytrocytů. Zároveň u nich ale dochází k poklesu SULT1A1, který je závislý na věku. Snižováním patogenních střevních bakterií antibiotiky a bylinami v podobě krmných přísad dochází zároveň i ke snížení atrofie klků (Lanthier et al. 2006; Lanthier et al. 2007; Huang et al. 2012; Wesloy & Weiler 2012).

Claus et al. (2003) ve své práci zkoumali vliv bramborového škrobu, kdy škrob zvyšuje tvorbu kyseliny mléčné, která omezuje apoptózu. Výsledkem práce bylo dosažení nižších hodnot skatolu v tlustém střevě, krevní plazmě a tuku.

Dalším faktorem ovlivňující výskyt buněčného odpadu je i buněčná mitóza, kdy při jejím zvýšení dochází zároveň i k růstu buněčného opadu. Jejím zamezení lze dosáhnout omezením purinů v krmivu, jelikož jejich vysoké množství podmiňuje expresi růstového faktoru IGF-I, který má na mitózu velký vliv (Raab et al. 1998; Claus & Raab 1999).

5.4.2 Vliv složení diety na mikrobiální osídlení GIT

Stejně jako dokážeme omezit produkci skatolu snížením tryptofanu, tak ji můžeme ovlivnit složením diety, která má následně vliv na mikrobiální osídlení gastrointestinálního traktu (Wesloy & Weiler 2012).

Tvorba skatolu nemá na rozdíl od androstenonu tak vysokou dědičnost, a proto u něj hraje velkou roli vliv prostředí. Důležitý je jednak druh výživy a krmná aditiva, ale také způsob jejich podávání neboli technika krmení.

Pokud kance krmíme nadlimitně, skatol se v tuku ukládá více, než když dávkování omezujeme (Šprysl et al. 2005). Výzkumy také ukázaly, že skatol může být redukován lépe pomocí peletovaného krmiva na rozdíl od kašovitého.

Výživa a krmné doplňky byly již nastíněny v kapitole 4.4.2 a jedná se tedy o antibiotika, sušené pivovarské kvasnice, organické kyseliny, rostlinné extrakty, ječmen s vysokým obsahem amylázy, oves a ječmen, vlákninu, bramborový škrob, různé proteiny, fermentovatelné oligo a polysacharidy.

Jedním ze způsobů změny pH v trávicím traktu jsou doplňky stravy či antimikrobiální sloučeniny, které pH sníží či zvýší. Jelikož se ale mikrobiální aktivita liší v hodnotách pH, hodnoty pH pro snížení skatolu a indolu jsou rozdílné. Bakterie produkující skatolu totiž

upřednostňují nižší hodnoty, tedy kyselější prostředí, a to zejména kolem hodnoty pH 5 - 6,5. U indolu je tomu naopak, tedy bakterie produkující tuto látku preferují vyšší hodnoty, zásaditější prostředí a hodnoty kolem pH 8 (Jensen et al. 1995).

Další možností zamezení tvorby skatolu je podávání antibiotik, organických kyselin, krmiv bohatých na fermentované oligo a polysacharidy a vybraných rostlinných extraktů, bramborového škrobu, sušených pivovarských kvasnic, vlákniny, ječmene a ovsa (Wesloy & Weiler 2012).

Mezi nejradikálnější způsob řadíme podávání antibiotik. Tato problematika byla studována na konci 90. let a používala se antibiotika typu Tylosin, Virginiamycin a Bacitracin. Na produkci skatolu v tuku, ale i ve výkalech, mělo toto řešení vliv, pokud byla antibiotika Tylosin, Virginiamycin podávána ve vyšších koncentracích. Naopak u nízkých dávek se nepozorovaly změny. Díky zvyšující se resistenci jednotlivých bakterií na antibiotika bylo plošné užívání antibiotik v roce 2006 v Evropské unii zakázáno používá se pouze na experimentální úrovni či k léčení zvířat.

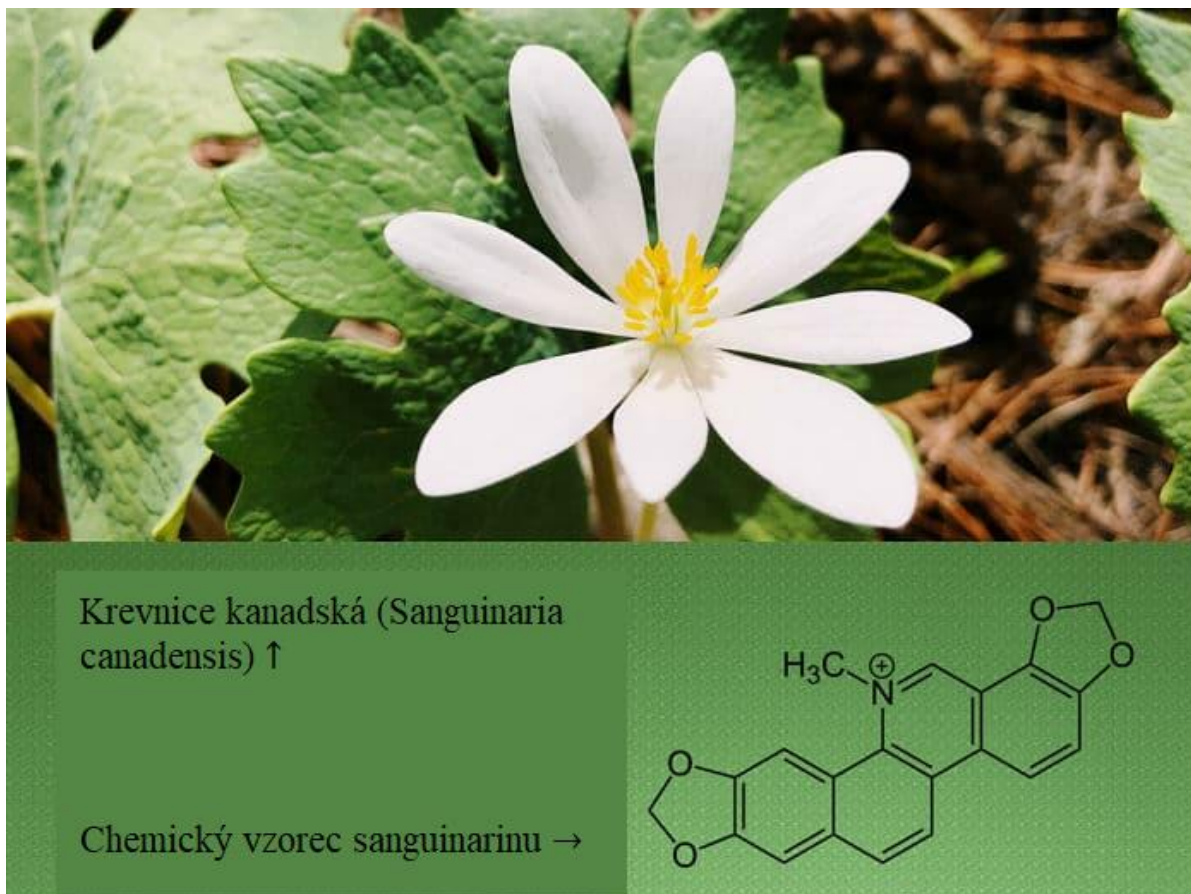
S rostoucí buněčnou mitózou zároveň roste i množství buněčného odpadu. Zde hraje velkou roli množství purinů v krmivu (viz kapitola 4.4.1.). Jejich zdrojem jsou sušené pivovarské kvasnice. Regulací purinů ovlivňujeme syntézu DNA a RNA, které určují expresi IGF-I faktoru, tudíž množství buněčného odpadu střevních buněk a následně tvorbu skatolu (Raab et al. 1998; Claus & Raab 1999).

Přidáváním organických kyselin do krmiva lze docílit snížení počtu bakterií, které produkují kyselinu mléčnou v gastrointestinálním traktu, koliformních bakterií a enterokoků. To však nemá vliv na hladinu skatolu nebo indolu v tlustém střevě a tukové tkáni kanců. K jeho snížení dochází pouze v plazmě a přispívají k němu především kyselina mravenčí nebo benzoová. Tyto dvě kyseliny ještě společně s kyselinou sorbovou mají výrazně lepší vliv na průměrný denní zisk a lepší poměr konverze krmiva (Øverland et al. 2008).

Mezi významné rostlinné extrakty, které jsou používány k eliminaci kančího pachu, patří složky éterických olejů z bylin a koření, látky získané z rostliny Krevnice kanadské (*Sanguinaria canadensis*) (Obrázek 7), léčivé čínské byliny či extrakty bohaté na tanin, které jsou schopné buď přímo omezit mikrobiální aktivitu, nebo zamezit bakteriím přístup k proteinu pro jejich metabolismus (Tavendale et al. 2005; Michiels et al. 2009).

Čínské byliny mají pozitivní vliv na atrofii střevních klků selat po odstavu. Nedochozí tedy k jejich narovnávání. Zároveň výrazně ovlivňují složení a množství bakterií ve střevech (Huang et al. 2012).

Látky z rostliny *Sanguinaria canadensis* jsou zkoumány především pro velké množství sanguinarinu. Jedná se o alkaloid, který je známý díky svým antimikrobiálním vlastnostem in vitro, co by mohlo být nápomocné při inhibici syntézy skatolu a indolu. Studie ohledně této problematiky ale nebyly ještě zveřejněny, jelikož se jedná o proces, který požaduje systematictější prozkoumání (Xu & Hu 2002; Ehrlinger 2007).



Obrázek 7: Krevnice kanadská a chemický vzorec sanguinarinu (Upraveno dle Sturluson 2018)

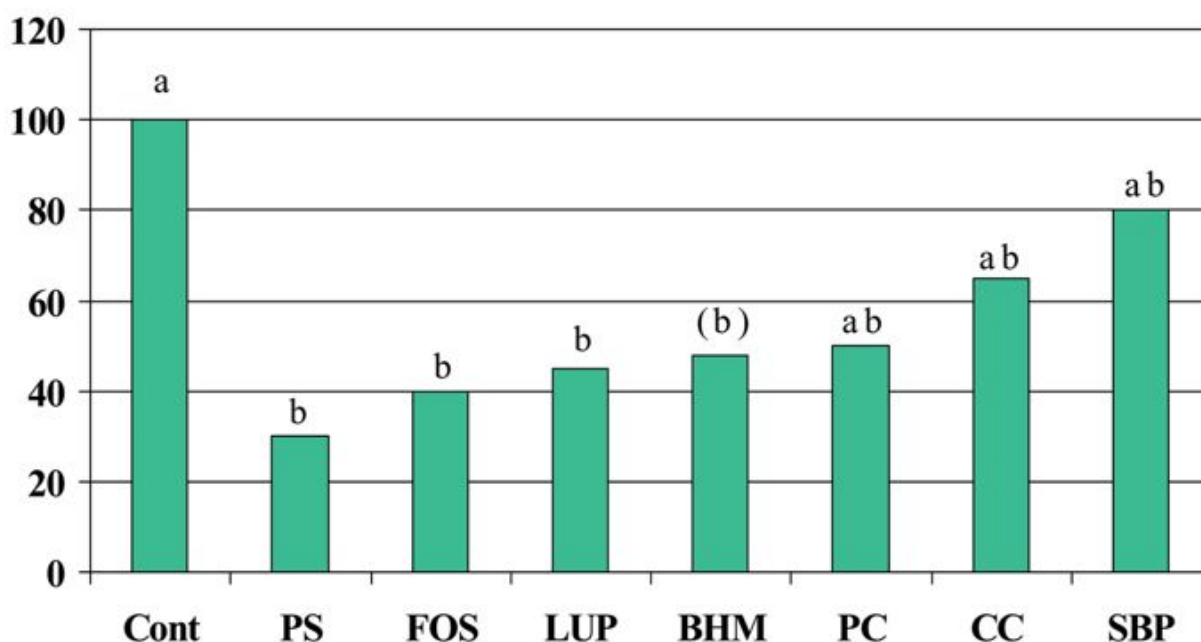
Další složkou používanou k redukci skatolu je vláknina. Snižuje jeho produkci ve slepém střevě a ukládání v tukové tkáni. Přesný mechanismus toho, jak vláknina ovlivňuje hladiny skatolu není dodnes znám, existuje ale několik protichůdných hypotéz.

První je taková, že pokud se krmí extra dietní vlákninou, do tlustého střeva prochází více nestráveného proteinu. Více tryptofanu následně degraduje na skatol. Další hypotézou je krmení extra dietní vlákninou za účelem zvýšení substrátu v tlustém střevě, který váže vodu. Skatol se tím zředí a nedochází tak k příliš velkému kontaktu se střevní stěnou, který jinak vede k absorpci skatolu.

V neposlední řadě vláknina působí pozitivně na průchodnost střev a urychluje ji. Absorpce skatolu se tedy může snížit a takto (Jensen 2006).

Jensen (2006) zkoumali sedm různých zdrojů vlákniny z hlediska jejich účinku na snížení produkce skatolu. Podle jejich výsledků byl nejúčinnější bramborový škrob, fruktooligosacharidy a lupina (Graf 3).

Graf 3: Vliv různých zdrojů vlákniny na koncentraci skatolu v krevní plazmě. Složení stravy: kontrolní strava na bázi ječmene a sójových bobů (Cont), sedm diet se stejným bazálním složením jako kontrola, ale s přidavkem 100 g kg⁻¹ buď surového bramborového škrobu (PS), fruktooligosacharidů (FOS), lupiny (LUP), ječmenná trupová moučka (BHM), palmový koláč (PC), kokosový koláč (CC) nebo cukrová dužina (SBP) (Jensen 2006)



Účinným aditivem je tedy bramborový škrob. Je zkrmován díky velkému obsahu rezistentního škrobu a zdrojem sloučeniny, která inhibuje tvorbu skatolu, butyrátu. Ten zamezuje apoptóze epitelových buněk střeva, tudíž není k dispozici mikroorganismům tryptofan pro produkci skatolu a jeho ukládání ve střevě, plazmě nebo tuku. Jelikož bramborový škrob není úplně stravitelný v tenkém střevě a přechází do tlustého střeva, je možné, že má přibližně stejný efekt jako inulin nebo rozpustná vláknina, tedy zdroj energie pro mikroorganismy v tlustém střevě. Dochází pak k jeho bakteriální fermentaci. Pokud se však škrob zvířatům podává ve formě pelet, ztrácí svůj účinek a na hladinu skatolu nemá vliv. Je to z toho důvodu, že škrob při teplotách nad 52,2 °C mazovatí, a právě takovému ohřevu je při peletování vystaven (Claus et al. 2003; Zamaratskaia et al. 2005; Lösel et al. 2006; Zamaratskaia et al. 2006; Pauly et al. 2008; Øverland et al. 2011; Pauly et al. 2012).

Ječmen (*Hordeum vulgare*) je ve Švédsku běžně používanou složkou potravy zvířat. Jeho výživové vlastnosti závisí na mnoha faktorech, mezi které patří díky genům, ale i růstovým podmínkám, obsah škrobových zrn. Hlavní složkou škrobového zrna je amyulóza a její množství se může pohybovat až ke 45 %. Ta výrazně ovlivňuje vlastnosti škrobu, mezi které spadá i stravitelnost. Amyulóza je buď trávena v tenkém střevě pomocí enzymu alfa-amyláza, nebo postupuje do tlustého střeva a zde je fermentována mikroorganismy. K trávení alfa-amylázou dochází spíše u škrobu, který obsahuje méně amyλόzy. Pokud tedy krmíme ječmenem, jehož škrobová zrna obsahují její množství vyšší, dochází ke zvýšené fermentaci v tlustém střevě. Ta vede k produkci plynů, jako jsou například vodík, methan či oxid uhličitý, nebo dále mastných kyselin s krátkým řetězcem. Takovou kyselinou je i butyrát obsažený i v bramborovém škrobu a jak již bylo uvedeno dříve, zabraňuje odumírání epitelových buněk střeva, a tím eliminuje tvorbu tryptofanu. Není tak k dispozici pro tvorbu skatolu. Touto problematikou se zabývali

Chen et al. (2009), kdy používali ke krmení odrůdu ječmene s vysokým obsahem amylozy (17 %). Redukce skatolu však byla zjištěna pouze v plazmě (Xue et al. 1996; Chen et al. 2009).

Byl zkoumán rozdíl při krmení prasat různými dietami, a to na ovesné a ječné. Lepší cestou vedoucí k eliminaci kančího pachu se ukázalo podávání zvířatům krmení na bázi ječmene, které sice vede k vyšším hodnotám těžkých mastných kyselin v tlustém střevě, ale na rozdíl od krmiva na bázi ovsu, díky sníženému obsahu kyseliny octové, se nezvyšuje hodnota pH, což znevýhodňuje bakterie produkující indol, které preferují právě vyšší hodnoty. Při celkovém snižování indolu se tedy ukázalo jako účinnější krmení na bázi ječmene. Krmiva na bázi ječmene jsou navíc oproti ovsu lépe stravitelná. Koncentrace skatolu v tukové tkáni se u obou krmiv nelišily a v tlustém střevě byly nižší u krmiv na bázi ovsu (Pauly et al. 2011).

Mezi další obiloviny, se kterými bylo experimentováno jako s krmivem za účelem eliminace kančího pachu, byla lněná semínka. Ta měla pozitivní vliv na redukci akumulace v tuku (Kouba et al. 2003).

Produkce skatolu je také závislá na druhu a množství sacharidů, nebo proteinu vstupujícího do zadního střeva a na proteolytické aktivitě střevní mikrobioty.

Pokud je protein málo stravitelný, dochází pak ve slepém střevě ke zvýšené produkci skatolu. Fermentaci proteinu ve střevech lze snížit pomocí snadněji stravitelných zdrojů bílkovin, jako je například kasein namísto kvasnicové kaše. Ty snižují množství proteinu, který prochází do slepého střeva. Další možností je díky snadnějšímu metabolismu mikrobiotou slepého střeva použití alternativního zdroje energie. Zde může být příkladem přidání cukrové řepy do kvasnicové kaše (Jensen 1990).

Co se týče sacharidů, mají opačný účinek. Nestrávené zbytky vstupující do tlustého střeva totiž naopak tvorbu skatolu snižují. Tento účinek pozorovali Jensen et al. (1995), Kjeldsen (1998), Knarreborg et al. (2002) a Whittington (2004) poté, co podávali prasatům cukrovou řepu. K těmto výsledkům ale ve studiích Øverland et al. (1995) a Van Oeckel et al. (1998) nedošlo a uvádí, že u krmiv bohatých na cukrovou řepu žádný účinek na množství skatolu nezjistili.

Příkladem těchto sacharidů jsou fruktooligosacharidy, které buď sníží intraluminální pH uvnitř tlustého střeva, nebo slouží jako živiny bakteriální populace ve střevech, jako například *Bifidobacterium*, ale i mikroorganismy jako *E. Coli* a *Clostridium* inhibují (Roberfroid et al. 1998; Xu et al. 2002).

Xu et al. (2002) uvádí, že v přítomnosti oligosacharidů se sníží koncentrace skatolu, a to z důvodu snížené degradace tryptofanu, jelikož je potřeba větší množství aminokyselin k syntéze bakteriálních buněčných enzymů a mikrobiální metabolismus tryptofanu je využit k produkci indolu. To by mohl být důsledek změny pH a mikrobiální přítomnosti. Sacharidy ale také ovlivňují metabolismus dusíku, což může mít zásadní vliv na syntézu indolu (Hawe et al. 1992). Jensen (2006) také uvádí, že používání více fermentovatelných sacharidů vede ke zvyšování mikrobiální aktivity v gastrointestinálním traktu a tryptofan je pak spíše využit jako bakteriální protein. Aktivita proteolytických bakterií se sníží následkem zvýšeného množství sacharidů a poté je k dispozici méně tryptofanu pro produkci skatolu.

Jedním z velice účinných polysacharidů je inulin. Je obsažen především v rostlině čekance obecné (*Cichorium intybus L.*) (Obrázek 8). Čekanka je jedna z rostlin, které jsou považovány za relevantní bioaktivní složky, které nemají souvislost s výživovou hodnotou, ale mají biologické účinky. Může mít pozitivní vliv na kvalitu krmení, jelikož obsahuje právě

fruktoroligosacharidy – inulin a seskviterpenové laktony (hořké sloučeniny) v kořenech (Claus et al. 1994; Jensen & Jensen 1998; Bais & Ravishankar 2001).

Inulin je polysacharid, který rostliny z čeledi zvonkovitých (*Campalunaceae*) a hvězdnicovitých (*Astraceae*) využívají jako zásobní látku. Přestože má sladkou chuť, má velice nízkou, takřka nulovou kalorickou hodnotu a nezvyšuje hladinu krevního cukru v organismu, takže se dá využít jako náhražka cukru či tuku v nízkotučných výrobcích. Není štěpen amylázou, tudíž není v organismu živočichů tráven a slouží hlavně jako probiotikum, tedy zdroj energie pro symbiotické střevní bakterie, které ho svými enzymy za vzniku oxidu uhličitého nebo metanu rozštěpit dokážou. Stimuluje tak růst některých prospěšných střevních bakterií jako jsou *Bifidobacteria* a *Lactobacillus*. Zároveň snižuje absorpci glukózy, a tím akumulaci glykogenu, takže funguje podobně jako rozpustná dietní vláknina u lidí (Takahashi et al. 1996; Tungland 1998; Tomasik & Tomasik 2003; Jensen & Hansen 2006).

Inulin může být obsažen také ve slunečnici topinambur (*Helianthus tuberosus*), u které se projevil stejný efekt jako u čekanky. Topinambur totiž souvisí s poklesem *Clostridium perfringens* a s vyšším obsahem mastných kyselin s krátkým řetězcem a následným poklesem pH (Vhile et al. 2012).

Seskviterpenové laktony jsou terpeny, které se skládají ze tří izoprenových jednotek a mohou mít cyklickou i acyklickou strukturu. Mohou z nich biochemickou modifikací, což je například změna molekulového uspořádání, či oxidace, vznikat deriváty seskviterpenoidy. Vyskytují se v éterických olejích, ve formě humelenu v silicích chmelu nebo v kyselině abscisové. Rees a Harborne (1985) uvádí, že seskviterpenové laktony mohou mít také vliv na hladinu skatolu a androstenu, tedy na kvalitu masa.

Kjos et al. (2010) se zabývali touto problematikou a ve své práci potvrzují, že podáváním prasatům krmiva s obsahem čekanky se hladina skatolu v tenkém střevě i v tukové tkáni snižuje. Obsah čistého inulinu musí být ale minimálně 4,2 %. Dále uvádí, že inulin snižuje výskyt enterobakterií a *Enterococcus spp.* v tlustém střevě i konečniku.

Tuto skutečnost také potvrzují Øverland et al. (2011). Při krmení prasat s obsahem čekanky 9 % po dobu dvou týdnů snížila skatol na hladinu typickou pro kastované kance, tedy ($P < 0,001$), z 0,55 pod 0,05 $\mu\text{g/g}$. Koncentrace androstenonu byla však naopak vyšší.

Hansen et al. (2006) uvádí, že zkrmováním čekanky lze dosáhnout lepších sensorických vlastností masa díky snížené hladině skatolu v krevní plazmě již po 3 dnech. Největší efekt mají čekankové úsušky, díky lepšímu příjmu potravy zvířaty. Zároveň nemají negativní vliv na užitkovost, na cenu a umožňují lepší manipulaci či skladovatelnosti krmiva přes rok.

V kombinaci s bikarbonátem pak účinnost snížení koncentrace skatolu v tkáni dosahuje 50 – 75 % (Claus et al. 1993; Hansen et al. 2006).

Čekanka má mimo jiné i hepatoprotektivní účinky. Mezi její další blahodárné vlivy na zdraví patří protizánětlivé, antioxidační a antikarcinogenní účinky.



Obrázek 8: Čekanka obecná (*Cichorium intybus*) (Deb's House Concerts 2010)

5.4.3 Vliv diety na enzymatický systém ovlivňující metabolismus skatolu v játrech

Krmná aditiva mohou mít také značný vliv na činnost cytochromu P450 a jeho skupinu proteinů, které souvisí s expresí cytochromových genů. To pak následně ovlivňuje aktivitu enzymů, které jsou spojeny právě s metabolismem skatolu a androstenonu. Mimo jiné se jedná o enzymy, které hrají důležitou roli v bioaktivaci a detoxikaci organismu od látek xenobiotického původu (léky, drogy, jedy). Jejich metabolismus se dá popsat ve třech krocích, kdy v prvním dojde k polarizaci molekuly a tím oxidací, redukcí nebo hydrolyzou odkrytí polární skupiny, poté ve druhém kroku ke konjugaci této molekuly s molekulou endogenního původu. Zvýší se tím rozpustnost ve vodě a nežádoucí látky jsou snáze vyloučeny močí. Ve třetím kroku dojde k transmembránovému přenosu z vnitřního buněčného prostředí do vnějšího (Guengerich 2008).

Aby mohl organismus zpracovávat xenobiotika, musí je umět přeměnit, a to z toho důvodu, aby získala svou aktivitu. Většina těchto látek je totiž aktivována až při biotransformaci v játrech, což je například oxidace či konjugace. V tomto případě zvýší produkci biotransformačních enzymů, aby se urychlila transformace transkripcí. Receptory fungující jako transkripční faktory společně s ligandy (signální molekula) usednou na receptor, který spustí transkripci (Urquhart et al. 2007). Přestože je těchto receptorů obrovské množství, doposud byly s kančím pachem spojovány pouze tři. Jedná se o hydrocarbon receptor (AhR), konstitutivní androstane receptor (CAR) a pregnane X receptor (PXR) (Rasmussen et al. 2016). Těmito receptory jsou regulovány různé rodiny a podrodiny cytochromu P450, jako například CYP1(rodina) a CYP1A (podrodina). Achour et al. (2011) uvádí, že CYP2A a CYP2D jsou takové izoformy cytochromu P450, které u něho převládají a patří mezi ně zhruba 60 % jeho

proteinů. Do druhé nejpočetnější skupiny patří CYP2C a CYP3A. Jak už bylo zmíněné v dřívějších kapitolách, na metabolismu skatolu se podílí zejména CYP1A2, 2A6 a 2E1.

5.5 Prostředí

Významným aspektem ovlivňující kančí pach může být i prostředí, ve kterém jsou prasata chována. Touto problematikou se zabýval Hansen et al. (1994), který ve své práci uvedl, že jedním z faktorů, který může mít vliv na tvorbu látek kančího pachu, je čistota kotců. Předpokládají, že skatol může být v plynné formě absorbován plícemi či z výkalů přes kůži. Prasata, která byla ustájena v kotci s betonovými podlahami a se svými výkaly víc jak jeden týden a byla chována intenzivním způsobem chovu měla značně vyšší hladinu skatolu v podkožním tuku na rozdíl od prasat, kterým byl kotec pravidelně kydán a udržován v čistotě nebo s rošty či při extenzivním hospodaření. Hladinu skatolu bylo však možné ještě týden před porážkou snížit, či naopak zvýšit změnou ošetření a prostředí.

Podle Bonneau et al. (2010) také uvádí, že k eliminaci kančího pachu je nejvhodnější používat do kotců na podlahy celorošty (Obrázek 9), u kterých se projevil výskyt skatolu u prasat nižší oproti pevným podlahám či poloroštům a nevzniká tak riziko absorpce skrz kůži či plícemi. K zamezení zpětné absorpce můžeme také použít ozonizaci. Jedná se o ekologicky bezpečné a účinné opatření čištění průmyslových odpadních vod a pitné vody, kdy se snižují pachy vzniklé chemicky oxidujícími páchnoucími metabolity u anaerobně skladovaných živočišných odpadů. Ozon je velmi silné oxidační činidlo, které má potenciál snížit počet mikroorganismů přítomných v odpadu, a tím regulovat rychlost produkce těchto zapáchajících metabolitů.

Vzhledem k tomu, že prase je čistotné zvíře, nikdy nekálí nebo nemočí do svého lože a při vykonávání potřeby opouští skupinu, jako vyhovující může být také ustájení s plným ložem a roštovým kalištěm, jehož úroveň musí být však oproti loži snížena a nedocházelo k přenášení výkalů do lože (Stupka et al. 2013).

Stelivové ustájení prasat na hluboké podestýlce není v České republice příliš zastoupené, používají ho především menší chovy. U takto ustájených prasat se sice ukazuje lepší zdravotní stav a etologické podmínky, vyšší kvalita masa, méně výskytu nucených porážek a nižší investiční náklady, udržování čistoty je ale vzhledem k nutnosti častého vyměňování podestýlky značně náročnější, a navíc se u prasat vytváří o 15-16 % více tuku a prokazují se menší přírůstky zhruba o 30 % (Stupka et al. 2013).

Dalším významným vlivem bylo roční období, kdy se ukázalo, že skatol se vytváří ve větší míře při vyšších teplotách, tedy v létě, a to bez ohledu na způsob chovu. Hladina skatolu se však lišila pouze v podkožním tuku, na skatol ve stolici neměla vliv, stejně jako se neukázal rozdíl u samců a samic, jelikož v obou experimentech vykazovali stejné rozdíly (Hansen et al. 1994).

V souvislosti se zvyšující se produkcí skatolu u prasat při vyšších teplotách je důležitým opatřením k zamezení tvorby kančího pachu zajištění větrání hal a instalace klimatizace, čímž se udržuje stálá a požadovaná teplota do 30 °C (Hansen et al. 1994; Pulkrábek et al. 2005; Stupka et al. 2013).

Mezi další způsoby vedoucí k eliminaci či snížení skatolu patří dle Andersson et al. (1998) i regulace fotoperiody neboli prodlužování či zkracování světelného dne.

Souvislost s produkcí skatolu a indolu u prasat má i jejich agresivita. Ta se zvyšuje s omezováním životního prostoru, tedy velikostí kotců. Čím menší kotec prasata mají, tím jsou agresivnější a následně i více produkují látky kančího pachu (Van Wagenberg et al. 2013).



Obrázek 9: Systém ustájení s celoroštovými podlahami (Farmatec 2018).

5.6 Management chovu

Dalším faktorem je management chovu neboli způsob ustájení jednotlivých kategorií prasat. Uživatelská prasata již určená na výkrm jsou zhruba od 3 měsíců věku a hmotnosti 25-35 kg do doby porážky, která se provádí cca ve věku 5-6 měsíců a hmotnosti 105 – 110 kg, většinou chována ve skupinách, avšak oddělená dle pohlaví. Je to z toho důvodu, že prasnice svojí přítomností stimulují u kanců rychlejší nástup tvorby pohlavních hormonů (Stupka et al. 2013). Příliš brzká produkce těchto hormonů, mezi které patří i androstenon, tedy přispívá k dřívější tvorbě skatolu a následně kančího pachu.

Systém ustájení prasat a jeho vliv na kančí pach studovali Andersson et al. (2005). Podle jejich výsledků nemá pohlaví zásadní vliv na technologickou kvalitu masa, ale doporučuje se oddělené ustájení samců a samic z důvodu dřívějšího dospívání kanců a následné agresivity, která vede ke vzniku kančího pachu a rychlejšímu dospívání prasnic, které sice mají vyšší rychlost růstu, ale nižší obsah masa v jatečně upraveném těle.

6 Detekce skatolu

Pro měření nežádoucích složek kančího pachu na porážkových linkách u jatečně upravených těl se v Evropské unii stále nestanovil jednotný způsob. Například Velká Británie využívá metodu tzv. hot wire test. Snahou je nalézt snadné, rychlé a ekonomicky výhodné metody (Čítek et al. 2019).

Jednou z metod je zahřívání podkožního tuku na hřbetu pomocí pájky, rozžhavených kovových destiček či jiných přístrojů. Při zahřátí se totiž uvolní nepříjemné látky skatol a androstenon. Ty se poté hodnotí pomocí smyslových zkoušek vyškolenými specialisty. Tyto zkoušky jsou bohužel z důvodu různého vnímání, citlivosti, subjektivnímu názoru a rychlé únavě ze sensorických zkoušek specialistů málo efektivní (Čítek et al. 2019).

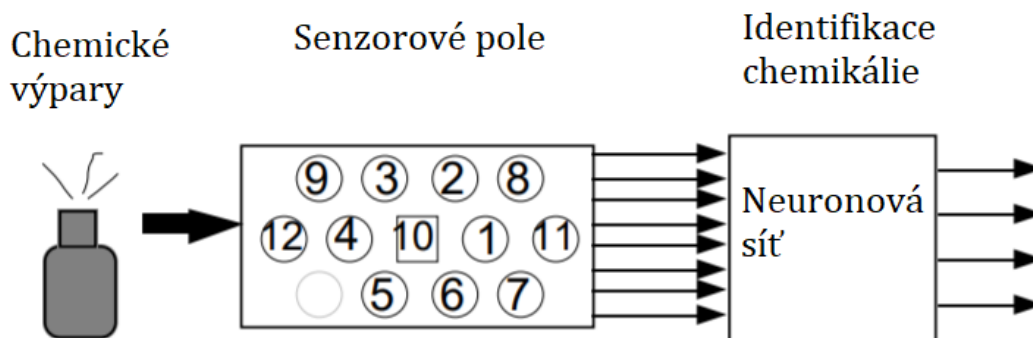
Mezi další dvě metody patří nepřímé měření kančího pachu nespécifickými metodami a přímé měření specifickými měřicími technikami. Nepřímé měření spočívá ve využívání nespécifických chemických (plynných) senzorů, tzv. elektronické nosy. Pro přímé měření se používají tzv. gas chromatography, neboli rychlá plynová chromatografie (GC), spektroskopie/kolorimetrie a biosenzory, které jsou založené na velké rozlišovací schopnosti, kdy jsou substancie analyzované a kvantifikované. (Čítek et al. 2019)

6.1 Chemické senzory – elektronické nosy

Elektronický nos je přístroj sloužící k zachycení a identifikaci chutí nebo zápachů, používaný například v gastronomii, průmyslu či zdravotnictví (Obrázek 10). Elektronické snímání je založeno na schopnosti reprodukce lidských smyslů pomocí sensorových polí a rozpoznávacích systémů. Jelikož je většinou prováděno sensorickou analýzou, využívají se plynové chromatografie, které informují o těkavých organických sloučeninách převedením získaných vzorků do plynné fáze oddělením jednotlivých složek separační metodou, nebo lze použít i chemosenzory či Wasp Hound detektory.

Přestože lze jednotlivé fáze rozpoznávání přirovnat k čichu lidského organismu a mohou sloužit k vyhledávání, identifikaci, kvantifikaci, srovnání, ukládání dat a dalším procesům, díky subjektivnímu názoru jednotlivých lidí je hodnocení pachu či vůně specifická lidského nosu (Persaud et al. 1982).

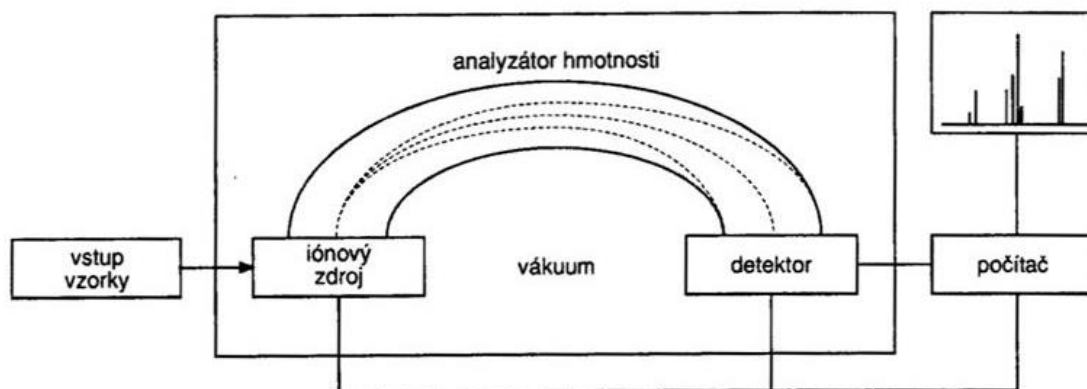
Berdagué & Talou (1993); Haugen & Kvaal (1998); Blixt & Borch (1999); Santos et al. (2004) a Vestergaard et al. (2006) ve svých pracích uvádí, že tato technika by mohla být dobrou cestou pro efektivní detekci nepříznivých látek kančího pachu a zároveň tedy analýzou kvality vepřového masa. Velkou nevýhodou je však skutečnost, že tyto přístroje zachycují detekované složky pouze v plynné formě, a proto jsou používány spíše jako doplňující metody pro panelové nebo analytické testy (Röck et al. 2008).



Obrázek 10: Schéma elektronického nosu (Upraveno dle Keller 1995).

6.2 Hmotnostní spektrometrie

Jedná se o metodu využívanou v analytické chemii pro určení hmotnosti částic, či určení primární skladby nebo chemické struktury vzorku či molekuly chemických sloučenin, založenou na dělení hmotnosti v poměru s nábojem fragmentu. Jejím principem je ionizace chemických sloučenin, kdy je těkavý vzorek transferován do ionizovaného zdroje MS, tvorba nabitých molekul nebo fragmentů molekul a měření jejich poměru hmotnosti k náboji. Skládá se ze tří modulů – zdroj iontů (převod molekuly plynu na ionty), hmotnostní analyzátor (třídění iontů podle jejich hmotnosti s použitím elektromagnetických polí) a detektor (měření hodnoty indikátoru množství a následně výpočet hojnosti každého iontu v reálném čase) (Obrázek 11). Tato technika se může využívat jak z kvantitativního, tak kvalitativního hlediska, a to je například identifikace cizích látek, určování izotopového složení prvků v molekule a stanovení struktury sloučeniny tím, že pozoruje jeho roztržitost. Lze ji také kombinovat s jinými metodami, například s pyrolýzou, což je používáno k detekci kančího pachu (Sparkman 2001; Ampuero & Bee 2006).

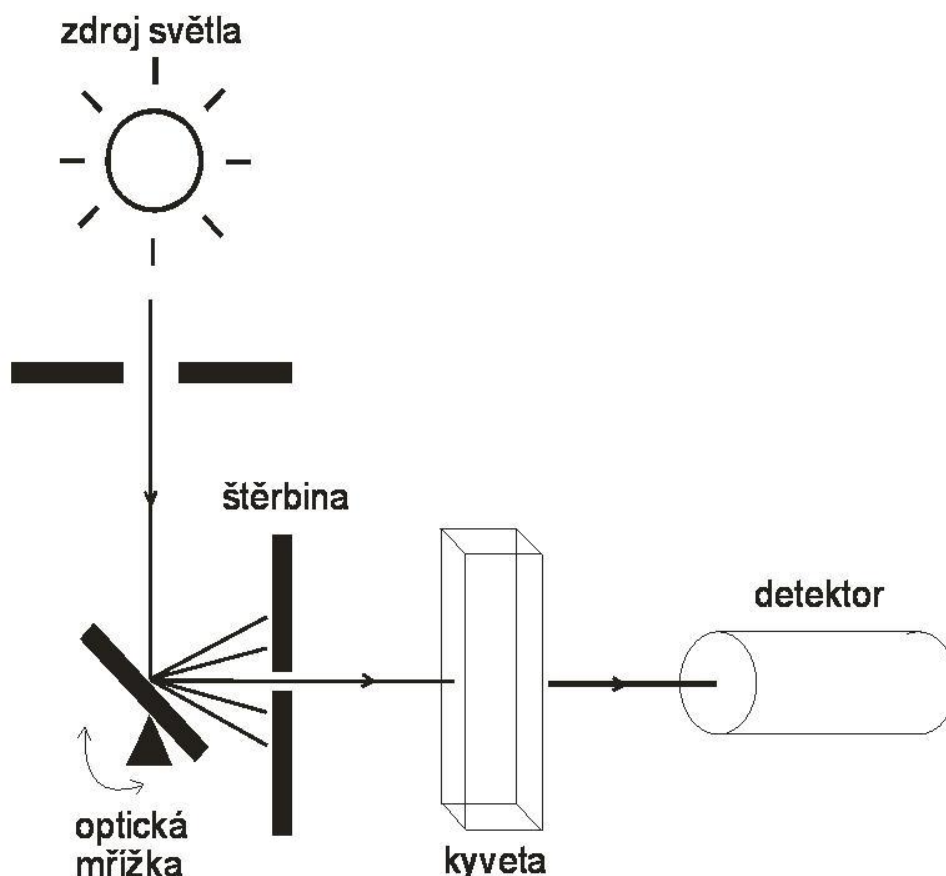


Obrázek 11: Schéma hmotnostního spektrometru (Upraveno dle Pospíšil 2020).

6.3 Spektrofotometrie

Spektrofotometrie je metoda měřící koncentraci a jiné vlastnosti vzorku založená na vztahu elektromagnetického záření s analyzovaným roztokem, kdy je část záření různých vlnových délek spektra pohlcována částicemi vzorku. Molekula po absorpci fotonu změní energii a vzniká excitovaný atom, zatímco část světla prochází roztokem a je zachycena přístrojem (Obrázek 12). Světlo, které prošlo, odrazilo se, nebo bylo pohlceno látkou, souvisí s vlnovou délkou záření a s koncentrací zkoumané látky. Přístroje, které měří množství absorpčního spektra v určité části vlnových délek, nebo dokážou nastavit vlnovou délku monochromatického světla, se nazývají spektrofotometry (Navrátil et al. 2005).

Tato metoda se považuje za neúčinnější při detekci skatolu a je využívána v Dánsku (Mortensen & Sorensen 1984). Je prováděna přímo na jatkách, takže vzorek tuku je odebírán na porážkové lince a dále analyzován. Dochází k extrakci tuku, přidání reagentu a spektrofotometrickému měření. Výsledky následně slouží k zatřídění jatečně upravených těl prasat. Tímto způsobem však není možné měřit hladinu androstenonu.



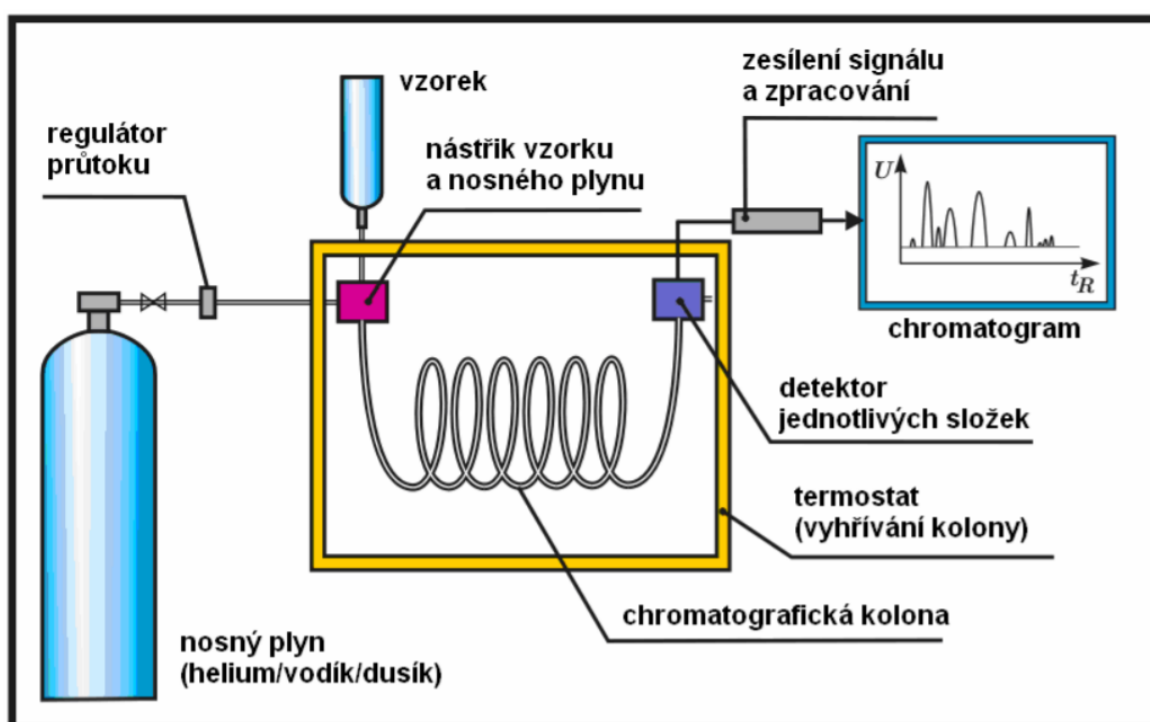
Obrázek 12: Uspořádání spektrofotometru (Vejsačka M 2008)

6.4 Rychlá plynová chromatografie

Jak již bylo zmíněno v kapitole 5.1, plynová chromatografie je separační metodou na základě různé schopnosti různě silně se poutat se stacionární fází, oddělí jednotlivé složky

ve vzorku, a tím je převede do plynné fáze, aniž by došlo k jejich rozkladu. Vzorek se dávkuje do proudu plynu, kde je dále unášen kolonou, a poté s jednotlivými složkami vzorku reaguje stacionární (nepohyblivá) fáze unášenými plynovou pohyblivou fází, takže jsou při pohybu zdržovány. Pokud nějaká ze složek opustí kolonu, je indikována detektorem, který vyhodnotí a určí druh a kvantitativní zastoupení složek (Obrázek 13).

Rychlá plynová chromatografie je zdokonalenou formou plynové chromatografie. Jednotlivé složky skatol, androstenon a indol lze totiž izolovat po dobu 10 sekund. Při statickém odběru se však kvůli rychlé GC, která není příliš citlivá a neumožňuje tak přímé měření jednotlivých složek, považuje odběr vzorku za kritickou fázi, a navíc kvůli jejich nízkým koncentracím a maskováním jinými těkavými látkami může být selekce složek snížena. Proto se považuje za vhodné izolovat skatol, androstenon a indol vhodným způsobem již před GC analýzou (Haugen et al. 2008).



Obrázek 13: Schéma plynového chromatografu (Males 2001).

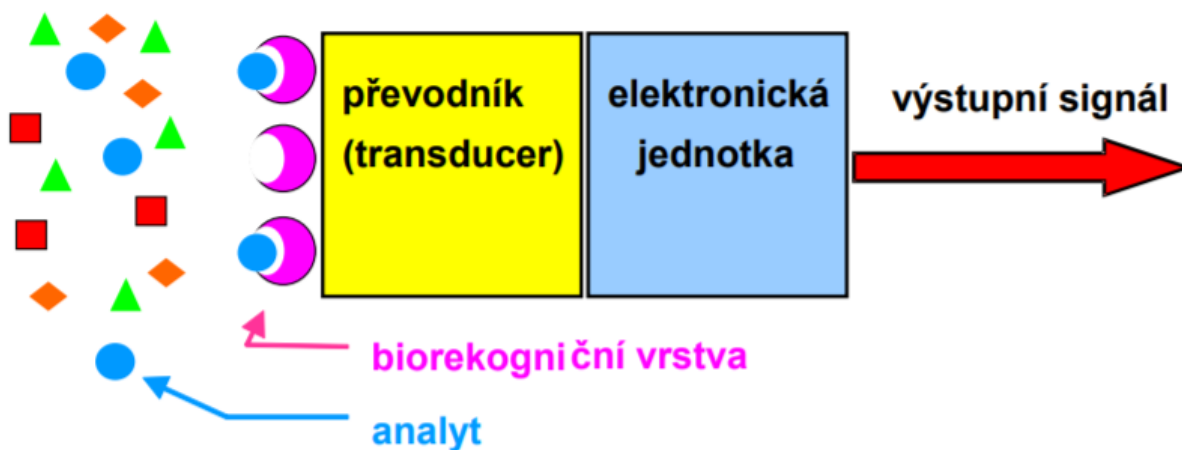
6.5 Plyná spektrometrie

Složky kančího pachu mohou být detekovány v plynné fázi díky rozlišitelnému infračervenému spektru a tuto skutečnost prokázala právě plyná spektrometrie (FTIR) – gas phase spectrometry (Fourier transform infrared spectroscopy – FTIR). Technika této metody je velmi rychlá a dá se využít i pro on-line využití. Problém je, stejně jako u předchozích metod, s odběrem a detekcí vzorků, které se musí přizpůsobit podmínkám a taktu porážkové linky (Kauppinen et al. 2004; Haugen et al. 2008).

6.6 Biosenzory

Biosenzory používají biologickou složku, kterou může být například nějaká organela, tkáň, mikroorganismus, buněčný receptor, nukleová kyselina, enzym, nebo jiné, která se naváže na studovaný analyt. S touto složkou pracuje fyzikálně-chemický detektor, který převádí jeden signál na jiný a umožňuje měření množství signálu pocházejícího z interakce analytu s biologickým prvkem. Poslední částí je čtecí zařízení sloužící k zobrazení výsledků (Obrázek 14) (Turner et al. 1987; Cavalcanti et al. 2008; Banica 2012).

Jako biologická složka je používán i hmyz, kde je principem jeho vytrénování na citlivost určitých složek pachů. V Norsku probíhal výzkum se včelami a vosami, které jsou schopny detekovat nežádoucí složky kančího pachu. Tato metoda může být at-line i on-line (Olson et al. 2003; Haugen et al. 2008).



Obrázek 14: Schéma biosenzoru (Skládal 1999)

7 Závěr

Vepřové maso je, co se týče konzumace, nejoblíbenějším a nejvyhledávanějším druhem na našem trhu. Neustále narůstají požadavky na jeho kvalitu, jak z nutričního, tak sensorického hlediska. Zároveň ale spotřebitelé a ochránci zvířat stále více hledí na welfare chovaných zvířat. Upouští se tak od chirurgické kastrace selat, která je bolestivým a stresujícím zákrokem. U nekastrovaných kanečků se ale projevuje kančí pach, který má negativní sensorické vlastnosti. Hlavní dvě látky, které ho způsobují, jsou skatol a androstenon. Spolehlivá kontrola nadbytku skatolu v tukové tkáni je jedním z hlavních předpokladů kvalitní produkce vepřového masa.

Alternativou, která může zamezit tvorbě kančího pachu, je využívání krmných aditiv ve výkrmu kanečků. Jedná se o řešení, které spojuje doplnění krmiv o komponenty snižující obsah skatolu a androstenonu. Dále se jedná o genetickou selekci, která stejně napomůže k eliminaci těchto látek a o výkrm do nižší porážkové hmotnosti. Mezi využitelná krmná aditiva můžeme zařadit například sušené pivovarské kvasnice, organické kyseliny, rostlinné extrakty, ječmen s vysokým obsahem amylázy aj. Jako nejúčinnější se zatím prokázaly inulin nebo bramborový škrob, které ovlivňují mikrobiální ekosystém, pravděpodobně prostřednictvím střevního pH, energetické dostupnosti bakterií a dostupnosti TRP prostřednictvím možných antiapoptotických účinků. Inulin se zdá být účinný při nižších dávkách než bramborový škrob.

Podávání krmných aditiv kanečkům je možnost, jak vyhovět spotřebitelům a zároveň zohlednit welfare zvířat. Proto je důležité tyto metody dále rozvíjet a zavádět do chovatelské praxe.

V neposlední řadě je důležité nalézt také snadné, rychlé a ekonomicky výhodné metody měření nežádoucích složek kančího pachu, které jednoduše a finančně dostupně napomůžou v určení míry zatížení vepřového masa nežádoucími látkami.

8 Literatura

- Agergaard N, Laue A. 1993. Absorption from the gastrointestinal tract and liver turnover of skatole. Pages 107-111 in Bonneau M editor. Measurement and Prevention of Boar Taint in Entire Male Pigs. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- Agergaard N, Laue A. 1998. Absorption of skatole to portal vein blood and liver turnover in entire male pigs using an in vivo animal model. Pages 77-96 in Jensen WK editor. Skatole and Boar Taint. Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark.
- Achour B, Barber J, Rostami-Hodjegan A. 2011. Cytochrome P450 Pig Liver Pie: Determination of Individual Cytochrome P450 Isoform Contents in Microsomes from Two Pig Livers Using Liquid Chromatography in Conjunction with Mass Spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition* **39**: 2130-2134.
- Allison J. 2008. Improvac – consumer acceptance. Pfizer Animal Health. Improvac – from theory to practice. Pages 14-17 in Symposium Proceedings, 20th IPVS Congress, Durban.
- Aluwé M, Millet S, Bekaert KM, Tuytens FAM, Vanhaecke L, De Smet S, De Brabander DL. 2011. Influence of breed and slaughter weight on boar taint prevalence in entire male pigs. *Animal* **5**: 1283-1289.
- Ampuero S, Bee G. 2006. The potential to detect boar tainted carcasses by using an electronic nose based on mass spectrometry. *Acta Veterinaria Scandinavica* **48**: 56.
- Andersson EW, Spanos KA, Mullin TJ, Lingren D. 1998. Phenotypic selection compared to restricted combined index selection for many generations. *Silva Fennica* **32**:111-120.
- Andersson HK, Andersson K, Zamaratskaia G, Rydhmer L, Chen G, Lungström K. 2005. Effect of single-sex or mixed rearing and live weight on performance, technological meat quality and sexual maturity in entire male and final pigs fed raw potato starch. *Acta Agriculturae Scandinavica A* **55**: 80-90.
- Annor-Frempong IE, Nute GR, Whittington FW, Wood JD. 1997. The problem of taint in pork. III. Odour profile of pork fat and the Interrelationships between androstenone, skatole and indole concentrations. *Meat Science* **47**: 63-76.
- Babol J, Squires EJ, Bonneau M. 1996. Factors regulating the concentrations of 16-androstene steroids in submaxillary salivary glands of pigs. *Journal of Animal Science* **74**: 413-419.
- Babol J, Squires EJ, Lundstrom K. 1999. Relationship between metabolism of androstenone and skatole in intact male pigs. *Journal of Animal Science* **77**: 84-92.
- Babol J, Zamaratskaia G, Juneja RK, Lungström K. 2004. The effect of age on distribution of skatole and indole levels in entire male pigs in four breeds: Yorkshire, Landrace, Hampshire and Duroc. *Meat Science* **67**: 351-358.
- Baek C, Hansen-Moller J, Friis C, Cornett C, Hansen SH. 1997. Identification of selected metabolites of skatole in plasma and urine from pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 2332-2340.
- Bais HP, Ravishankar GA. 2001. *Cichorium intybus L – cultivation, processing, utility, value addition and biotechnology, with an emphasis on current status and future prospects.* *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**: 467-484.
- Bănică FG. 2012. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications.* John Wiley & Sons. p. Chichester, United Kingdom.
- Berdagué JL, Talou T. 1993. Examples of semiconductor gas sensors applied to meat products. *AGRIS* **13**: 141-148.
- Bernardy J. 2010. Kastrace prasat jako evropské dilema. *Veterinářství* **60**: 372-374.

- Bièche I, Narjoz C, Asselah T, Vacher S, Marcellin P, Lidereau R, Beaune P, de Waziers I. 2007. Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP)1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenetics and Genomics* **17**: 731–42
- Blixt Y, Borch E. 1999. Using an electronic nose for determining the spoilage of vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology* **46**: 123-134.
- Bonneau M, Desmoulin B, Dumont BL. 1979. Renseigné. Qualités organoleptiques des viandes de Porcs mâles entiers ou castrés : composition des graisses et odeurs sexuelles chez les races hypermusclées. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Science* **28**: 53-72.
- Bonneau M, Lebret B. 2010. Production systems and influence on eating quality of pork. *Meat Science* **84**: 293-300.
- Bonneau M. 1993. Measurement and Prevention of Boar Taint in Entire Male Pigs. Cardiff Academic Press Limited, Denmark.
- Cavalcanti A, Shirinzadeh B, Zhang M, Kretly LC (2008). Nanorobot Hardware Architecture for Medical Defense. *Sensors* **8**: 2932-2958.
- Claus R, Dehnhard M, Herzog A, Bernal-Barragan H, Giménez T. 1993. Parallel measurements of indole and skatole (3-methylindole) in feces and blood plasma of pigs by HPLC. *Livestock Production Science* **34**: 115–126.
- Claus R, Losel D, Lacorn M, Mentschel J, Schenkel H. 2003. Effects of butyrate on apoptosis in the pig colon and its consequences for skatole formation and tissue accumulation. *Journal of Animal Science* **81**: 239-248.
- Claus R, Raab S. 1999. Influences on skatole formation from tryptophan in the pig colon. *Advances in Experimental Medicine Biology* **467**: 679-684.
- Claus R, Weiler U, Herzog A. 1994. Physiological aspects of androstenone and skatole formation in the boar – A review with experimental data. *Meat Science* **38**: 289-305.
- Cook KL, Rothrock MJ Jr, Loughrin JH, Doerner KC. 2007. Characterization of skatole-producing microbial populations in enriched swine lagoon slurry. Pages 329-340 in Wagner M editor. *FEMS Microbiology Ecology*. Oxford University Press (OUP), Great Britain.
- Čítek J, Stupka R, Šprysl M, Bahelka I, Zadinová K. 2019. Výkrm kanečků s eliminací složek kančího pachu – skatol. ČZU v Praze.
- Deb's House Concerts. 2010. Chicory Root and Fiber One Bars. Deb's House Concerts. Available from <https://dhconcerts.wordpress.com/2010/06/12/chicory-root-and-fiber-one-bars/> (accessed July 2020).
- Deslandes B, Gariépy C, Houde A. 2001. Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production. *Livestock Production Science* **71**: 193–200
- Desmoulin B, Bonneau M, Frouin A, Bidard JP. 1982. Consumer testing of pork and processed meat from boars: The influence of fat androstenone level. *Livestock Production Science* **9**: 707-715.
- Diaz GJ, Skordos KW, Yost GS, Squires EJ. 1999. Identification of phase I metabolites of 3-methylindole produced by pig liver microsomes. *Drug Metabolism Disposition* **27**: 1150-1156.
- Diaz GJ, Squires EJ. 2003. Phase II in vitro metabolism of 3-methylindole metabolites in porcine liver. *Xenobiotica* **33**: 2003, 485-498.
- Diaz, GJ, Squires EJ. 2000. Metabolism of 3-methylindole by porcine liver microsomes: Responsible cytochrome P450 enzymes. *Toxicological Sciences* **55**: 284-292.
- Doran E, Whittington FM, Wood JD, McGivan JD. 2004. Characterisation of androstenone metabolism in pig liver microsomes. *Chemico-biological Interactions* **47**: 141-149.

- Doran E, Whittington FW, Wood JD, McGivan JD. 2002. Cytochrome P450IIE1(CYP2E1) is induced by skatole and this induction is blocked by androstenone in isolated pig hepatocytes. *Chemico-biological interactions* **140**: 81-92.
- Dostálová A, Koucký M, Průšová V, Průšová V. 2008. Výkrm kanečků v podmínkách ekologického zemědělství: metodika. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha.
- Duijvesteijn N, Knol EF, Merks JWM, Crooijmans RPMA, Groenen MAM, Bovenhuis H, Harlizius B. 2010. A genome-wide association study on androstenone levels in pigs reveals a cluster of candidate genes on chromosome 6. *BMC Genetics* **11**: 42.
- Ehrlinger M. 2007. *Phytogene Zusatzstoffe in der Tierernährung* [Ph.D. Thesis]. Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany.
- Falkenberg H, Bloedow G. 1981. Untersuchungen zum 5-Androst-16-en-3-on Gehalt von Jungebern und dessen Beziehungen zu Mast- und Schlachtleistungen. *Archiv für Tierzucht* **24**: 521-532.
- Farmatec a.s.. 2018. Komplexní služby při investicích. FARMTEC a.s.. Available from <https://www.farmtec.cz/reference-prasata-169/staj-pro-vykrm-prasat-dolni-vestec-i26.html> (accessed July 2020).
- Guengerich FP. 2008. Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes. Page 24 in Pearson PG, Wienkers LC editors. *Handbook of Drug Metabolism*, CRC Press; 2 edition, Boca Raton.
- Hansen LL, Larsen AE, Jensen BB, Hansen-Møller J, Barton-Gade P. 1994. Influence of stocking rate and temperature on faeces deposition in the pen and its consequences on skatole concentration (boar taint) in subcutaneous fat. *Animal Science* **59**: 99-110.
- Hansen LL, Mejer H, Thamsborg SM, Byrne DV, Roepstorff A, Karlsson AH, Hansen-Møller J, Jensen M T, Tuomola M. 2006. Influence of chicory roots (*Chicorium intybus* L.) on boar taint in entire male and female pigs. *Animal Science* **82**: 359-368.
- Hattrich. 2015. *Wikipedie otevřená encyklopedie*. Wikimedia Česká republika. Available from [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Indol_\(vzorec\).svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Indol_(vzorec).svg) (accessed July 2020).
- Haugen JE, Kvaal K. 1998. Electronic nose and artificial neural network. *Meat Science* **49**: 273-286.
- Haugen JE, Lundby F, Wäckers FL, Olson D, Kauppinen I, Ferber A, de Wiel D, Briens M, Tuytens F. 2008. Rapid detection methods for boar taint: fast GC, FTIR-PAS and biosensing. In *Proceedings of the EAAP meeting, 26–27 March, Girona, Spain*.
- Hawe SM, Walker N, Moss BW. 1992. The effects of dietary fibre, lactose and antibiotic on the levels of skatole and indole in faeces and subcutaneous fat in growing pigs. *Animal Science* **54**: 413-419.
- Huang CW, Lee TT, Shih YC, Yu B. 2012. Effects of dietary supplementation of Chinese medicinal herbs on polymorphonuclear neutrophil immune activity and small intestinal morphology in weanling pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96**: 285-294.
- Chen G, Andersson K, Andersson R, Zamaratskaia G, Lundstrom K. 2009. Feeding entire male pigs (*Sus Scrofa Domestica*) with high amylose barley cultivar (*Hordeum Vulgare*): Impact on boar taint and performance. *Veterinary Medicine* 163-169.
- Chen G, Cue RA, Lungsrtöm K, Wood JD, Doran O. 2008. Regulation of CYP2A6 protein expression by skatole, indole and testicular steroids in primary cultured pig hepatocytes. *Drug Metabolism and Disposition* **36**: 56-60.
- Chilliard Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: A review. *Journal of Dairy Science* **76**: 3897-3931.
- Ingr I. 2003. *Produkce a zpracování masa*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.
- Jensen BB, Jensen MT. 1998. Microbial production of skatole in the digestive tract of entire male pigs. Pages 41-75 in Jensen WK editor. *Skatole and boar taint*. Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark.

- Jensen BB. 1990. Skatole (boar taint). Microbial production of skatole in the gastro-intestinal tract of pigs. National Institute of Animal Science (NIAS), Denmark.
- Jensen BB. 2006. Prevention of boar taint in pig production. Factors affecting the level of skatole. *Acta Veterinaria Scandinavica* **48**: 6.
- Jensen MT, Cox RP, Jensen BB. 1995. 3-Methylindole (skatole) and indole production by mixed populations of pig fecal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **61**: 3180-3184.
- Jensen MT, Hansen LL. 2006. Feeding with chicory roots reduces the amount of odorous compounds in colon and rectal contents of pigs. *Animal Science* **82**: 369-376.
- Kauppinen J, Wilcken K, Kauppinen I, Koskinen V. 2004. High sensitivity in gas analysis with photoacoustic detection. *Microchemical Journal* **76**: 151-159.
- Keller PE, Kouzes RT, Kangas LJ, Hashem S. 1995. Transmission of Olfactory Information for Telemedicine. *Interactive Technology and the New Paradigm for Healthcare* **18**: 168-172.
- Kjeldsen N. 1998. Practical experience from field studies with entire male pigs. Skatole and boar taint. Pages 129-136 in Jensen WK editor. Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark.
- Kjos NP, Øverland M, Fauske AK, Sørum H. 2010. Feeding chicory inulin to entire male pigs during the last period before slaughter reduces skatole in digesta and backfat. *Livestock Science* **134**: 143-145.
- Knarreborg A, Beck J, Jensen MT, Laue A, Agergaard N, Jensen BB. 2002. Effect of non-starch polysaccharides on production and absorption of indolic compounds in entire male pigs. *Animal Science* **74**: 445-453.
- Kouba M, Enser M, Whittington FM, Nute GR, Wood JD. 2003. Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig. *Journal of Animal Science* **81**: 1967-1979.
- Lanthier F, Lou Y, Squires EJ. 2007. Skatole metabolism in the intact pre-pubescent male pig: The relationship between hepatic enzyme activity and skatole concentrations in plasma and fat. *Livestock Science* **106**: 145-153.
- Lanthier F, Lou Y, Turner MA, Squires EJ. 2006. Characterizing developmental changes in plasma and tissue skatole concentrations in the prepubescent intact male pig. *Journal of Animal Science* **84**: 1699-1708.
- Lapčík O. 2008. Záván kance. *Vesmír* **97**: 628-629.
- Latorre MA, Medel P, Fuentetaja A, Lázaro R. 2003. Effect of gender, terminal sire line and age at slaughter on performance, carcass characteristics and meat quality of heavy pigs. *Animal Science* **77**: 33-45.
- Ledvina M, Stoklasová A, Cerman J. 2009. *Biochemie pro studující medicíny*. Vyd. 2. Karolinum, Praha.
- Lee GJ, Archibald AL, Law AS, Lloyd S, Wood J, Haley CS. 2005. Detection of quantitative trait loci for androstenone, skatole and boar taint in a cross between Large White and Meishan pigs. *Animal Genetics* **36**: 14-22.
- Lewis DF, Lake BG, Bird MG, Loizou GD, Dickins M, Goldfarb PS. 2003. Homology modelling of human CYP2E1 based on the CYP2C5 crystal structure: investigation of enzyme-substrate and enzyme-inhibitor interactions. *Toxicology in Vitro* **17**: 93-105.
- Lin Z, Lou Y, Squires EJ. 2004a. Molecular cloning, expression and functional characterization of the cytochrome P450 2A6 gene in pig liver. *Animal Genetics* **35**: 314-316.
- Lin Z, Lou Y, Squires EJ. 2004b. Molecular cloning and functional analysis of porcine SULT1A1 gene and its variant: a single mutation SULT1A1 causes a significant decrease in sulfation activity. *Mammalian Genome* **15**: 218-226.

- Lo Fiego DP, Santoro P, Macchioni P, De Leonibus E. 2005. Influence of genetic type, live weight at slaughter and carcass fatness on fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue of raw ham in the heavy pig. *Meat Science* **69**: 107-114.
- Lösel D. 2006. Versuche z Verbesserung der sensorischen Fleischqualität beim Schwein durch nutritive Skatolhemmung [Ph.D. Thesis]. Universität Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Males Z, Medić-Sarić M. 2001. Optimization of TLC analysis of flavonoids and phenolic acids of *Helleborus atrorubens* Waldst. et Kit. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **24**: 353-359.
- Malmfors B, Lundström K. 1983. Consumer reactions to boar meat. *Livestock Production Science* **10**: 187-196.
- Matal J, Matuskova Z, Tunkova A, Anzenbacherova E, Anzenbacher P. 2009. Porcine CYP2A19, CYP2E1 and CYP1A2 forms are responsible for skatole biotransformation in the reconstituted system. *Neuro endocrinology Letters* **30**: 36-40.
- Metz SHM, Dekker RA. 1981. The contribution of fat mobilization to the regulation of fat deposition in growing Large White and Pietrain pigs. *Animal Science* **33**: 149-157.
- Michiels J, Missotten JAM, Fremaut D, De Smet S, Dierick NA. 2009. In vitro characterisation of the antimicrobial activity of selected essential oil components and binary combinations against the pig gut flora. *Animal Feed Science Technology* **151**: 111-127.
- Monziols M, Bonneau M, Davenel A, Kouba M. 2007. Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses. *Meat Science* **76**: 54-60.
- Mortensen AB, Sørensen SE. 1984. Relationship between boar taint and skatole determined with a new analysis method. Pages 394-396 in *Proceedings of the 30th European Meeting of Meat Research Workers, Bristol 1984*. Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark.
- Mustafa G, Yu X, Wade R. 2014. Structure and Dynamics of Human Drug-Metabolizing Cytochrome P450 Enzymes. In Kirchmair J, Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G editor. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* **63**, Wiley-VCH, Weinheim.
- Navrátil L, Rosina J. 2005. *Medicínská biofyzika*. Grada, Praha.
- Olson DM, Rains GC, Meiners T, Takasu T, Tertuliano M, Tumlinson JH, Wäckers FL, Lewis WJ. 2003. Parasitic wasps learn and report diverse chemicals with unique conditionable behaviors. *Chemical Senses* **28**: 545-549.
- Øverland M, Berg J, Matre T. 1995. The effect of feed and feeding regime on skatole and androstenone levels and on sensory attributes of entire male and female pigs. *Proc. EAAP, Working Group: Production and Utilisation of Meat from Entire Male Pigs*. Milton Keynes, United Kingdom.
- Øverland M, Kjos NK, Fauske AK, Teige J, Sørum H. 2011. Easily fermentable carbohydrates reduce skatole formation in the distal intestine of entire male pigs. *Livestock Science* **40**: 206-217.
- Øverland M, Kjos NP, Borg M, Skjerve E, Sørum H. 2008. Organic acids in diets for entire male pigs: Effect on skatole level, microbiota in digesta, and growth performance. *Livestock Science* **115**: 169-178.
- Øverland M, Kjos NP, Borg M, Sørum H. 2007. Organic acids in diets for entire male pigs. *Livestock Science* **109**: 170-173.
- Palík J. 2011. *Zootechnické aspekty výkrmu kanečků* [BSc. Thesis]. Mendelova univerzita, Brno.
- Patočka J, Měrka V, Hrdina V. 2006. Skatol vyhlášen molekulou měsíce. *Vesmír* **85**: 577-578.
- Pauly C, Luginbühl W, Ampuero S, Bee G. 2012. Expected effects on carcass and pork quality when surgical castration is omitted-Results of a meta-analysis study. *Meat Science* **92**: 858-862.

- Pauly C, Spring P, O'Doherty JV, Ampuero KS, Bee G. 2008. Performances, meat quality and boar taint of castrates and entire male pigs fed a standard and a raw potato starch-enriched diet. *Animal* **2**: 1707-1715.
- Pauly C, Spring P, Gahan D, O'Doherty JV. 2011. The effect of cereal type and enzyme supplementation on carcass characteristics, volatile fatty acids and intestinal microflora and boar taint in entire male pigs. *Animal* **5**: 378-386.
- Persaud K, Dodd G. 1982. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature* **299**: 352-5
- Pospíšil R. 2020. SlidePlayer. Available from <https://slideplayer.cz/slide/4188584/> (accessed July 2020).
- Pulkrábek J, Čerovský J, Dolejš J, Drábek J, Dubanský V, Hájek J, Kernerová N, Kvapilík J, Matoušek V, Novák P, Pražák Č, Pytloun J, Rozkot M, Špinka M, Toufar O, Vališ L, Zeman L. 2005. *Chov prasat*. Profi Press, Praha.
- Raab S, Leiser R, Kemmer H, Claus R. 1998. Effects of energy and purines in the diet on proliferation, differentiation, and apoptosis in the small intestine of the pig. *Clinical and Experimental Metabolism* **47**: 1105-1111.
- Rasmussen MK, Brsunius C, Zamaratskaia G, Ekstrand B. 2012. Feeding dried chicory root to pigs decrease androstenone accumulation in fat by increasing hepatic β hydroxysteroid dehydrogenase expression. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **130**: 90-95.
- Rasmussen MR, Balaguer P, Ekstrand B, Daujat-Chavanieu M, Gerbal-Chaloin S. 2016. Skatole (3-Methylindole) Is a Partial Aryl Hydrocarbon Receptor Agonist and Induces CYP1A1/2 and CYP1B1 Expression in Primary Human Hepatocytes. *PloS One* **11**: e0154629.
- Rees B, Harborne B. 1985. The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemistry* **24**: 2225-2231.
- Roberfroid MB, Van Loo JAE, Gibson GR. 1998. The Bifidogenic Nature of Chicory Inulin and Its Hydrolysis Products. *Journal of Nutrition* **128**: 11-19.
- Robic A, Larzul C, Bonneau M. 2008. Genetic and metabolic aspects of androstenone and skatole deposition in pig adipose Tissue: A Review. *Genetics Selection Evolution* **40**: 129-143.
- Röck F, Barsan N, Weimar U. 2008. Electronic nose: Current status and future trends. *Chemistry Reviews* **108**: 705-725.
- Santos JP, Garcia M, Aleixandre M, Horillo MC, Gutierrez J, Sayago I, Fernandez MJ, Ares L. 2004. Electronic nose for the identification of pig feeding and ripening time in Iberian hams. *Meat Science* **66**: 727-732.
- Scott RA, Cornelius SG, Mersmann HJ. 1981. Fatty acid composition of adipose tissue from lean and obese swine. *Journal of Animal Science* **53**: 977-981.
- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. 1994. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **270**: 414-23.
- Sinclair PA, Hancock S, Gilmore WJ, Squires EJ. 2005. Metabolism of the 16-androstene steroids in primary cultured porcine hepatocytes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **96**: 79-87
- Sinclair PA, Squires EJ. 2005. Testicular sulfoconjugation of the 16-androstenesteroids by hydroxysteroid sulfotransferase: its effect on the concentrations of 5α -androstenone in plasma and fat of the mature domestic boar. *Journal of Animal Science* **83**: 358-365.
- Skládal P. 1999. *Biosensory*. Masarykova univerzita, Brno.
- Smital J. 2018. Info pigs. Jaroslav Smital. Available <http://infopigs.blogspot.com/> (accessed June 2020).

- Sparkman OD. 2001. Mass spectrometry desk reference. *Journal of Chemical Education* **78**: 168.
- Squires EJ, Lundstrom K. 1997. Relationship between cytochrome P450IIE1 in liver and levels of skatole and its metabolites in intact male pigs. *Journal of Animal Science* **75**: 2506-2511.
- Squires EJ. 2006. Possibilities for selection against boar taint. *Acta Veterinaria Scandinavica* **48**: 1-8.
- Steinhauser L. 1995. *Hygiena a technologie masa*. LAST, Brno.
- Stupka R, Šprysl M, Čítek J. 2013. *Základy chovu prasat*. Vyd. 2. Powerprint, Praha.
- Sturluson T. 2018. Sanguinarine Toxicity, Uses, and Benefits. The Herbal Resource. Available from <https://www.herbal-supplement-resource.com/sanguinarine-toxicity-uses.html> (accessed July 2020).
- Šprysl M, Čítek J, Stupka R. 2005. Zhodnocení produkční užitkovosti hybridních prasat s ohledem na typ výživy a pohlaví. *Proma-družstvo Mladá Boleslav*.
- Takahashi Y, Kadowaki K, Tashiro Y, Takizawa T, Kinoshita T. 1996. Application of fructooligosaccharide to a hemodialysis patient: focused on the change of intestinal bacterial flora. *BIFIDUS Flores, Fructus et Semina* **9**: 141-150.
- Tambyrajah WS, Doran E, Wood JD, McGivan JD. 2004. The pig CYP2E1 promoter is activated by COUP-TF1 and HNF-1 and is inhibited by androstenone. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **431**: 252-260.
- Tavendale MH, Lane GA, Schreurs NM, Fraser K, Meagher LP. 2005. The effects of condensed tannins from *Dorycnium rectum* on skatole and indole ruminal biogenesis for grazing sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**: 1331-1337.
- Tomasik PJ, Tomasik P. 2003. Probiotics and prebiotics. *Cereal Chemistry* **80**: 113-117.
- Tungland BC. 1998. A natural prebiotic-understanding the metabolic and physiological effects of inulin. *The World of Ingredients*: 38-41.
- Turner A, Wilson G, Kaube I. 1987. *Biosensors: Fundamentals and Applications*. Oxford University Press. Oxford, United Kingdom.
- Urquhart BL, Tirona RG, Kim RB. 2007. Nuclear receptors and the regulation of drug-metabolizing enzymes and drug transporters: implications for interindividual variability in response to drugs. *Journal of Clinical Pharmacology* **47**: 566-78.
- Van Oeckel MJ, Warnants N, De Paepe M, Casteels M, Boucque ChV. 1998. Effect of fibre-rich diets on the back fat skatole content on entire male pigs. *Livestock Production Science* **56**: 173-180.
- Van Wagenberg CPA, Snoek HM, van der Fles JB, van der Peer-Scgwering CMC, Vermeer HM, Heres L. 2013. Far mind management characteristics associated with boar taint. *Animal* **7**: 1841-1848.
- Varona L, Vidal O, Quintanilla R, Gil M, Sanchez A, Folch JM, Hortos M, Rius MA, Amills M, Noguera JL. 2005. Bayesian analysis of quantitative trait loci for boar taint in a Landrace outbred population. *Journal of Animal Science* **83**: 301-307.
- Vejražka M. 2008. *Wikipedie otevřená encyklopedie*. Wikimedia Česká republika. Available from <https://cs.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometrie> (accessed July 2020).
- Vestergaard J, Haugen JE, Byrne DV. 2006. Application of an electronic nose for measurements of boar taint in entire male pigs. *Meat Science* **74**: 564-577.
- Vhile SG, Kjos NP, Sörum H, Øverland M. 2012. Feeding Jerusalem artichoke reduced skatole level and changed intestinal microbiota in the gut of entire male pigs. *Animal* **6**: 507-814.
- Weiler U, Dehnhard M, Herbert E, Claus R. 1995. Einfluß von Geschlecht, von Genotyp und Mastendgewicht auf die Androstenon- und Skatolkonzentrationen im Fett Mastschweinen. *Schriftenreihe BML* **449**: 14-32.

- Wesley R, Weiler U. 2012. Nutritional influences on skatole formation and skatole metabolism in the pig. *Animal* **2**: 221-242.
- Whitehead TR, Price NP, Drake HL, Cotta MA. 2008. Catabolic pathway for the production of skatole and indoleacetic acid by the acetogen *Clostridium drakei*, *Clostridium scatologenes*, and swine manure. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 1950–1953.
- Whittington FM, Nute GR, Hughes SI, McGivan JD, Lean IJ, Wood JD, Doran E. 2004. Relationships between skatole and androstenone accumulation, and cytochrome P450E1 expression in Meishan × Large White pigs. *Meat Science* **67**: 569-576.
- Wiercinska P, Lou Y, Squires EJ. 2011. The roles of different porcine cytochrome P450 enzymes and cytochrome b5A in skatole metabolism. *Animal* **6**: 834-845.
- Xu Z, Hu C, Wang M. 2002. Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatole and indole by mixed populations of pig fecal bacteria. *The Journal of General and Applied Microbiology* **48**: 83-89.
- Xue J, Dial GD, Holton EE, Vickers Z, Squires EJ, Lou Y, Godbout D, Morel N. 1996. Breed differences in boar taint: relationship between tissue levels of boar taint compounds and sensory analysis of taint. *Journal of Animal Science* **74**: 2170-2177.
- Zamaratskaia G, Babol J, Andersson H, Ludgström K. 2004. Age-related variation of plasma concentration of skatole, androstenone, testosterone, oestradiol-17 beta, estrone sulphate, dehydroepiandrostenone sulphate, triiodothyronine and IGF-1 in six entire male pig. *Reproduction in Domestic Animals* **39**: 168-172.
- Zamaratskaia G, Babol J, Andersson HK, Andersson K, Lundström K. 2005. Effect of live weight and dietary supplement of raw potato starch on the levels of skatole, androstenone, testosterone and oestrone sulphate in entire male pigs. *Livestock Production Science* **93**: 235-243.
- Zamaratskaia G, Chen G, Lungström K. 2006. Effect of sex, weight, diet and hCG administration on levels of skatole and indole in the liver and hepatic activities of cytochromes P450E1 and P450A6 in pigs. *Meat Science* **72**: 331-338.
- Zamaratskaia G, Squires EJ. 2009. Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal* **3**: 1508-1521.

9 Seznam grafů

Graf 1 Rozdíly plemen v koncentracích slinných žláz 16-androstenu, 16-androstenu v tukové tkáni a skatolu v tukové tkáni	19
Graf 2: Grafy rozptylu tkáňových koncentrací slinných žláz 16-androstenu, tukové tkáně 16-androstenu a tukové tkáně skatolu.....	20
Graf 3: Vliv různých zdrojů vlákniny na koncentraci skatolu v krevní plazmě	28

10 Seznam obrázků

Obrázek 1: Rozdíl v utváření kotlety u nekastrovaných kanců, kanců kastrovaných imunologickou kastrací a kastrovaných kanců chirurgicky	11
Obrázek 2: Chemický vzorec androstenonu a skatolu	12
Obrázek 3: Chemický vzorec indolu	12
Obrázek 4: Tvorba skatolu (3-methylindolu) a indolu z TRP ve střevech a další metabolismus prostřednictvím enzymů fáze 1 a fáze 2.	14
Obrázek 5: Dráha fyziologických událostí vedoucích k tvorbě skatolu, dalšímu metabolismu a akumulaci skatolu v tukové tkáni	16
Obrázek 6: Struktura CYP2E1 ve dvou různých orientacích	22
Obrázek 7: Krevnice kanadská a chemický vzorec sanguinarinu	27
Obrázek 8: Čekanka obecná (Cichorium intybus)	31
Obrázek 9: Systém ustájení s celoroštovými podlahami.	33
Obrázek 10: Schéma elektronického nosu	35
Obrázek 11: Schéma hmotnostního spektrometru	35
Obrázek 12: Uspořádání spektrofotometru	36
Obrázek 13: Schéma plynového	37
Obrázek 14: Schéma biosenzoru	38