



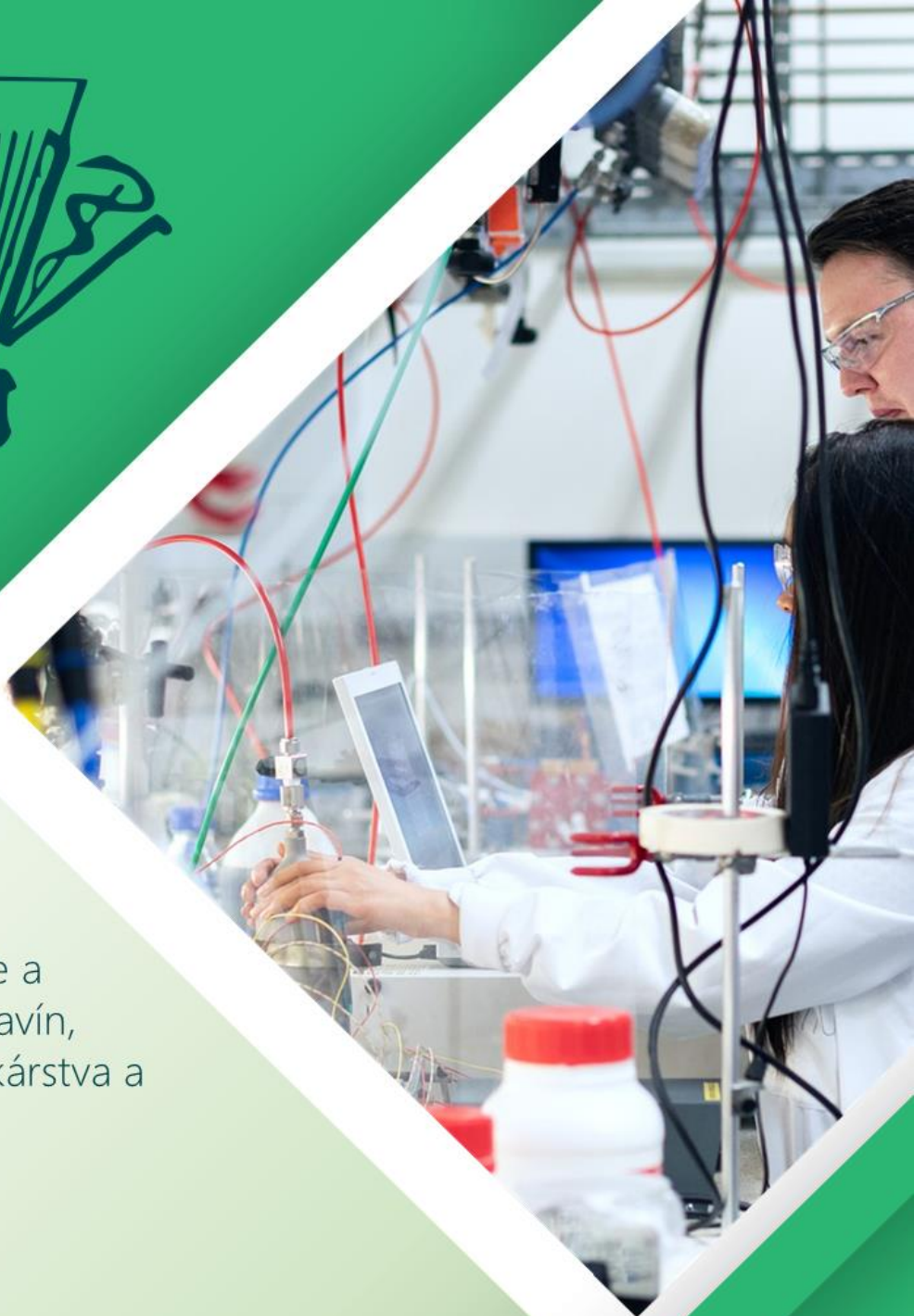
Slovenská
spoločnosť pre
poľnohospodárske,
lesnícke, potravinárske a
veterinárske vedy pri SAV
v Bratislave

Katedra hygieny, technológie a
zdravotnej bezpečnosti potravín,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a
farmácie v Košiciach

Zborník vedeckých prác

Košice, 2020

Marcinčák S., Semjon B.,
Golian J. (Eds.)



**Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske
vedy pri Slovenskej akadémii vied v Bratislave**

**Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita
veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach**



Recenzovaný zborník vedeckých prác

Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske
a veterinárske vedy pri Slovenskej akadémii vied v Bratislave

Košice, 2020



Názov: Recenzovaný zborník vedeckých prác Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri Slovenskej akadémii vied v Bratislave

Editori: Slavomír Marcinčák, prof. MVDr., PhD.
Boris Semjon, MVDr., PhD.,
Golian Jozef, prof. Ing., Dr.

Recenzenti: Britaňák Norbert, Ing., PhD.
Bujňák Lukáš, MVDr., PhD.
Dudriková Eva, doc. MVDr., PhD.
Golian Jozef, prof. Ing., Dr.
Hanušovský Ondrej, Ing., PhD.
Hric Peter, Ing., PhD. Ing.-Paed.IGIP
Imrich Ivan, Ing. PhD.
Jevinová Pavlina, MVDr., PhD.
Juráček Miroslav, prof. Ing., PhD.
Kalařová Anna, doc. Ing., PhD.
Kováčiková Zuzana, Ing., PhD.
Kovár Peter, Ing., Ing.-Paed. IGIP
Kukla Ján, Ing., CSc.
Marcinčák Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Mlyneková Eva, Ing., PhD.
Novotný Jaroslav, MVDr., PhD.
Popelka Peter, doc. MVDr., PhD.
Regecová Ivana, MVDr., PhD.
Rolinec Michal, doc. Ing., PhD.
Semjon Boris, MVDr., PhD.
Sobocká Jaroslava, doc. RNDr., CSc.
Štefančík Igor, doc. Ing., CSc.
Vargová Vladimíra, Ing., PhD.

Všetky práva vyhradené

ISBN 978-80-89703-83-8



OBSAH

POĽNOHOSPODÁRSKA SEKCIA

Benešová Lucia, Jakabová Silvia, Vlčko Tomáš, Martišová Patrícia, Golian Jozef Stanovenie aromatického profilu šunky pomocou e-nosa	8
Britaňák Norbert, Martincová Janka, Hanzes Ľubomír, Čunderlík Jozef Kvalita trávnych porastov v rôznych ekologických podmienkach slovenských pohorí	13
Candraková Eva Reakcia jačmeňa siateho na podmienky pestovania a aplikáciu stimulátora rastu	18
Dupák Rudolf, Kalafová Anna, Schneidgenová Monika, Brindza Ján, Capcarová Marcela Cornus mas L. môže pozitívne ovplyvniť glykémiu ZDF potkanov	23
Gálik Branislav, Kolláthová Renata, Rolinec Michal, Hanušovský Ondrej, Juráček Miroslav, Šimko Milan, Kolesárová Adriana, Barantal Samuel, Brek Pavol Nutričný význam vedľajších produktov spracovania hrozna vo výžive zvierat: prehľadová štúdia	27
Hric Peter, Vozár Ľuboš, Kovár Peter Produkcia suchej nadzemnej fytohmoty medzirodových hybridov tráv (<i>Festulolium A. et Gr.</i>) v nížinných podmienkach	31
Juráček Miroslav, Bíro Daniel, Šimko Milan, Gálik Branislav, Rolinec Michal, Hanušovský Ondrej, Kolláthová Renata, Mixtajová Eva, Kalúzová Mária Charakteristika profilu makroprvkov v silážach hroznových výliskov s prídavkom močoviny	35
Kizeková Miriam, Kováčiková Zuzana, Čunderlík Jozef, Dugátová Zuzana, Vargová Vladimíra, Jančová Ľubica, Jančová Mariana, Pollák Štefan Monitoring zásoby organického uhlíka na siatych a trvalých trávnych porastoch	40
Kováč Ladislav, Jakubová Jana Vplyv výživy a obrábania pôdy na úrody viky sietej jarnej (<i>Vicia sativa L.</i>) v suchých podmienkach východoslovenskej nížiny	44
Kovár Peter, Vozár Ľuboš, Hric Peter Účinok Hydrogelu na rast koreňového systému trávniká	48
Pollák Štefan, Jančová Mariana, Britaňák Norbert, Kizeková Miriam, Hrková Katarína, Dugátová Zuzana Botanické zloženie a produkcia sušiny trvalého trávneho porastu po aplikácii kompostu	52
Rolinec Michal, Rakhmetov Dzhamal, Bíro Daniel, Šimko Milan, Gálik Branislav, Juráček Miroslav, Hanušovský Ondrej Zloženie mastných kyselín hybridu <i>Rumex patientia L. x Rumex tianschanicus A. Los</i>	57
Šimonová Nikoleta, Kalafová Anna, Schneidgenová Monika, Dupák Rudolf, Schwarzová Marianna, Šoltéssová Prnová Marta, Švík Karol, Slovák Lukáš, Brindza Ján, Capcarová Marcela Drieň obyčajný (<i>Cornus mas L.</i>) a hematologické parametre ZDF potkanov	60
Štefániková Jana, Miškeje Michal, Kačániová Miroslava Vplyv rôznych faktorov na obsah aroma-aktívnych zlúčenín v bryndzi	65
Vargová Vladimíra, Kováčiková Zuzana Monitoring trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej	69
Vlčko Tomáš, Golian Jozef, Ondruš Ladislav, Benešová Lucia Vybrané metódy identifikácie bravčového mäsa v mäsových výrobkoch	73
Vozár Ľuboš, Kovár Peter, Hric Peter, Lukács Miriama Vplyv organických hnojív CONDIT® a Veget na produkciu sietej mezofytnej lúky	79



LESNÍCKA SEKCIA

Kuklová Margita, Pivková Ivica, Sládeková Katarína, Kukla Ján Obsah energie v povrchovom humuse a v rastlinách vybraných v dubových ekosystémoch pri diaľnici	84
Petráš Rudolf, Mecko Julian, Kukla Ján, Kuklová Margita Primárna produkcia spalného tepla smrekových porastov	88
Štefančík Igor Cieľové stromy – základ kvalitatívnej produkcie v bukových porastoch	94

POTRAVINÁRSKA SEKCIA

Ácsová Aneta, Martiniaková Silvia, Hojerová Jarmila, Ďurčová Dominika Antiradikálový efekt vo vode rozpustného karotenoidu – krocínu	101
Borošová Daniela, Sirotová Ludmila, Briedoňová Renáta, Nagyová Iveta, Pavlík Vladimír, Ostrolucká Alena, Dolinská Jana, Markušová Jana Analýza celkového arzénu v potravinách	106
Greifová Mária, Greif Gabriel, Čaladíková Lucia Hodnotenie antimikrobiálnej aktivity kyseliny fenylmliečnej a kyseliny 4-hydroxyfenylmliečnej produkovaných <i>Geotrichum candidum</i> G	111
Hybenová Eva, Mikulajová Anna, Luknárová Gabriela, Staruch Ladislav Čučoriedky ako zdroj zdraviu prospešných zlúčenín	117
Janotková Lívia, Hojerová Jarmila, Hamranová Veronika, Kreps František, Krepsová Zuzana, Potočňáková Marianna, Bendová Hana, Jedličková Lucie Rastlinné oleje a ich fotoprotektívne vlastnosti	122
Kancírová Eva, Hybenová Eva, Staruch Ladislav Antioxidanty vo víne	128
Kohajdová Zlatica, Karovičová Jolana, Lauková Michaela, Mínavičová Lucia, Greifová Mária, Greif Gabriel, Hojerová Jarmila Hodnotenie potenciálu celozrnej ovsenej múky pri výrobe nových druhov probiotických nápojov	133
Kohajdová Zlatica, Lauková Michaela, Mínavičová Lucia Reologické vlastnosti kompozitných múčnych zmesí	137
Krauhulcová Monika, Cverenkárová Klára, Bírošová Lucia Výskyt rezistentných baktérií v potravinách typu sushi na Slovensku	141
Kreps František, Krepsová Zuzana, Janotková Lívia, Potočňáková Mariana, Schubertová Svetlana Oxidačné produkty tokoferolov vznikajúce počas ohrevu rastlinných olejov	144
Krepsová Zuzana, Kreps František, Janotková Lívia, Potočňáková Mariana, Schubertová Svetlana Rakytník rešetliakový ako zdroj antioxidačne aktívnych látok	149
Mikulajová Anna, Matejčeková Zuzana, Mošovská Silvia, Hybenová Eva Fermentované pohánkové výrobky vhodné pre ľudí s laktózovou intoleranciou i celiakiou – zastúpenie bioaktívnych zložiek a antioxidačné účinky	155
Mokošáková Miriama, Staruch Ladislav Duálna kvalita potravín	159
Potočňáková Marianna, Janotková Lívia, Schubertová Svetlana, Kreps František, Krepsová Zuzana, Ház Aleš, Utekalová Katarína, Jantová Soňa Vplyv biologicky aktívnych látok v kôre smreka obyčajného (<i>Picea abies</i>) na bunkové línie B16 a L1210	165
Schubertová Svetlana, Krepsová Zuzana, Janotková Lívia, Potočňáková Marianna, Kreps František Vplyv prídavku rakytníkovej šťavy na rast potravinársky významných mikrobiálnych kultúr	173



Staruch Ladislav, Šoucová Paula	
Dusitany v mäsových výrobkoch a ich účinky	180
Šajbidor Ján	
Oleje a tuky v ľudskej výžive	189
Valková Veronika, Ďúranová Hana, Bilčíková Jana, Žofajová Alžbeta, Havrlentová Michaela	
Determinácia obsahu a kvality škrobu v odrodách farebnej pšenice	195

VETERINÁRSKA SEKCIA

Fečkaninová Adriána, Koščová Jana	
The sustainable development of aquaculture: probiotics and plant essential oils as fish diet additives	200
Jevinová Pavlina, Demjanová Soňa, Regecová Ivana, Pipová Monika, Kožárová Ivona	
Penicillium chrysogenum ako kontaminant slepačích vajec	204
Koréneková Beáta, Petříková Dominika, Marcinčák Slavomír, Marcinčáková Dana, Klemková Tatiana	
Účinok prídavku fermentovaného krmiva vo výžive brojlerov na fyzikálno - chemické zmeny vo svalovinách	208
Kožárová Ivona, Juščáková Daniela, Marcinčák Slavomír	
Vplyv úpravy kŕmneho režimu nosníc na prítomnosť inhibičných látok vo vajciach	212
Maľová Jana, Semjon Boris, Výrostková Jana, Žakarovská Martina	
Kryoskopické meranie mlieka	217
Marcinčák Slavomír, Bartkovský Martin, Semjon Boris, Marcinčáková Dana, Bujňák Lukáš	
Účinok prírodných humínových látok podávaných vo výkrme brojlerových kurčiat na kvalitu mäsa prsnej svaloviny	222
Novotný Jaroslav, Marcinčák Slavomír, Macák Vladimír, Kyzeková Petronela, Reichel Peter	
Vplyv suplementácie klinoptilolitu na konzistenciu výkalov u ošípaných v podstavovom období	226
Regecová Ivana, Pipová Monika, Jevinová Pavlina, Výrostková Jana, Demjanová Soňa, Šugarek Denis	
Zmeny fenotypového prejavu antimikrobiálnej rezistencie u druhu <i>S. aureus</i> vplyvom mraziarenského skladovania potravín	230
Semjon Boris, Mokányová Andrea, Maľová Jana, Bujňák Lukáš, Marcinčák Slavomír	
Vplyv modifikácie proteínového zloženia vstupnej suroviny na fermentačné procesy experimentálne vyrobených vzoriek acidofilného mlieka	233

PEDOLOGICKÁ SEKCIA

Hecl Ján, Šoltysová Božena, Danielovič Igor, Danilovič Martin	
Vplyv obrábania na emisie oxidu uhličitého z pôdy	239
Kobza Jozef, Barančíková Gabriela, Dodok Rastislav, Makovníková Jarmila, Pálka Boris, Styk Ján, Širáň Miloš	
Degradačné procesy poľnohospodárskych pôd Slovenska v zmenených spoločensko-ekonomických podmienkach po roku 1993	243
Polláková Nora, Šimanský Vladimír, Juriga Martin, Horvátová Mária	
Porovnanie vybraných fyzikálnych vlastností hnedozeme obrábanej konvenčne a bezorbovo	249
Sobocký Igor, Dodok Rastislav, Kusý Dalibor	
Zber údajov pre modelovú predikciu sucha na Záhorskej nížine	253
Šoltysová Božena, Danilovič Martin	
Dlhodobý vplyv rozdielnej agrotechniky na vybrané parametre pôdy	258

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a
veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

Poľnohospodárska sekcia





STANOVENIE AROMATICKÉHO PROFILU ŠUNKY POMOCO U E-NOSA

DETERMINATION OF AROMA PROFILE OF HAM BY E-NOSE

Lucia Benešová, Silvia Jakabová, Tomáš Vlčko, Patrícia Martišová, Jozef Golian

Abstract: One way to ensure the maximum level of food safety and quality is to develop accurate and reliable detection systems throughout the food chain. The use of e-nose and olfactory techniques appears to be a promising alternative for the detection of metabolic processes causing spoilage. Based on the already published literature, these systems are indeed the most promising candidates for the detection and monitoring of volatile compounds in various foods. The aim of this work was to characterize aromatic profile of ham samples by application of the electronic nose.

Keywords: ham, e-nose, sensory analysis, aroma profile

Úvod

V súčasnosti je bezpečnosť potravín celosvetovým problémom verejného zdravia, ktorý zohľadňuje rôzne aspekty, ktoré by mohli podporiť hygienu a zdravie spoločnosti. Prítomnosť patogénov pochádzajúcich z potravy predstavuje hlavnú globálnu hrozbu pre verejné zdravie a je jednou z podstatných obáv od reťazca výroby až po spotrebu (Pinu, 2016). Zabezpečenie maximálnej úrovne bezpečnosti a kvality potravín pre spotrebiteľa vytvára požiadavku na vývoj a používanie spoľahlivých a presných detekčných systémov v potravinovom dodávateľskom reťazci. Tradičné metódy na zisťovanie znehodnotenia potravinových výrobkov majú určité obmedzenia a nevýhodami sú náročnosť na čas, prácnosť a cena. Na zisťovanie zmien v potravinách sa preto vyvíjajú systémy a metódy, ktoré sa vyznačujú rýchlosťou, spoľahlivosťou, presnosťou a nižšími nákladmi (Ghasemi-Varnamkhasti et al., 2018). V súčasnosti sa do popredia záujmu dostávajú diagnostické prístroje ako elektronické nosy, elektronické jazyky a biosenzory, ako potenciálna alternatíva vo vzťahu k detekcii znehodnotenia potravín či stanovenia senzoričných vlastností potravín (Ghasemi-Varnamkhasti a Aghbashlo, 2014). Elektronický nos (e-nos) je zariadenie na detekciu zápachu využívajúce pole senzorov (Delgado-Rodríguez et al., 2012). Mnoho priemyselných odvetví používa e-nos na rôzne aplikácie, ako je kontrola kvality (Buratti et al., 2018), proces monitorovania, hodnotenie trvanlivosti, hodnotenie pôvodu a originality (Li et al., 2017). Elektronický nos a simulácie ľudských zmyslových orgánov sa preukázali ako vysoko efektívne alternatívy oproti bežným analytickým metódam v oblasti detekcie potravín (Qiu et al., 2015). Princíp fungovania e-nosu Heracles II je založený na plynovej chromatografii, ktorá detekuje aromatické zlúčeniny veľmi malých koncentrácií v reálnom čase za niekoľko minút a identifikuje ich porovnaním retenčných indexov Kovats s knižnicou NIST. Na získanie dôležitých informácií z analýzy vzoriek sa najčastejšie používa multivariačná štatistika (Buratti et al., 2018). Vnímanie arómy nastáva čuchom, keď sú čuchové receptory umiestnené na strope nosnej dutiny stimulované aktívnymi zlúčeninami arómy. Pokiaľ ide o rozpoznávanie arómy počas konzumácie potravín alebo nápojov, sú aromaticky účinné látky vnímané retronazálne. Rôzne kombinácie širokej škály zlúčenín vrátane mastných kyselín s krátkym a stredným reťazcom, alkoholov, aldehydov, ketónov, esterov alebo sírnych zlúčenín vytvárajú charakteristickú vôňu a chuť každého syrového výrobku. Viaceré druhy syrov môžu pozostávať z rovnakých aroma-aktívnych zlúčenín, no na druhej strane sa navzájom líšia zmeneným množstvom, a teda percentuálnym obsahom konkrétnej zložky (Niimi et al., 2014). Hlavnými aplikáciami e-nosov



vzhľadom na matricu mäsa sú detekcia rozkladných procesov (kazenie mäsa), odhadovanie doby spotreby, detekcia off-flavours a ich klasifikácia (Ghasemi-Varnamkhasti et al., 2018). Štefániková et al. (2020a) vo svojej práci potvrdili aj koreláciu medzi údajmi z e-nosa a údajmi zo senzorickeho panelu a ako výhody e-nosa uvádzajú vysokú citlivosť, cenu a jednoduché použitie. Cieľom tejto práce bolo charakterizovať aromatický profil vzoriek šunky aplikáciou elektronického nosa.

Materiál a metódy

Vzorky 5 šuniek sa narezali na malé kúsky a 4 g sa odvážili do čistých 20 ml vialiek uzavretých pomocou magnetického uzáveru s PTFE/Sil septom. Aromatický profil sa analyzoval pomocou e-nosa (Heracles II, Alpha M.O.S., Toulouse, France). Nasýtený vzduch nad vzorkou v množstve 5 ml sa zaviedol do injektoru. Ako nosný plyn sa použil vodík. Teplotný gradient bol stanovený podľa metódy opísanej Štefánikovou et al. (2020b). Identifikácia zlúčenín sa uskutočnila porovnaním nameraných retenčných časov píkovo z vzorky s Kovatsovými retenčnými indexmi a s knižnicou NIST (The National Institute of Standards and Technology library) pomocou softvéru Alpha Soft V14 (Alpha M.O.S.). Dáta z aromatických profilov boli spracované štatistickým programom XL STAT (v 2020.4.1, Addinsoft). Meranie bolo vykonané v troch opakovaniach.

Výsledky a diskusia

Najdôležitejšie faktory ovplyvňujúce čerstvosť a kvalitu mäsa a mäsových výrobkov sú farba, textúra a chuť. Identifikovali sme 36 rôznych zlúčenín prítomných vo vzorkách šuniek (Tab. 1). Najbežnejšími zložkami boli dimetyléter, metoxyfenyloxím, d-limonén, (2-aziridinyetyl) amín, 3-metylbutanal, benzaldehyd, acetoín, 3-metyl-1-butanol a hexanal. Prchavé zlúčeniny, ktoré boli identifikované, patria k niekoľkým chemickým skupinám, konkrétne išlo o aldehydy, alkoholy, estery, étery, amíny, imíny, terpény a stilbény (Tab. 1).

Aldehydy (konkrétne 3-metylbutanal, hexanal, benzaldehyd, benzenacetaldehyd a nonanal) boli významnou skupinou prchavých zlúčenín v šunkách a boli prítomné vo viacerých vzorkách, výsledok je v súlade s výsledkami (Huan et al., 2005; Liu et al., 2020).

Tab. 1 Zlúčeniny identifikované vo vzorkách

Vzorka	Zlúčenina	Plošné percentá			Ø	±SD	Aróma
		1.	2.	3.			
1.	dimetyléter	4,75	6,29	6,21	5,75	0,87	éterická
	3-metyl butanal	0,94	1,45	1,52	1,30	0,32	aldehydová
	hexanal	0,23	0,73	0,49	0,48	0,25	svieža trávová
	1-hexanol	0,33	0,83	0,64	0,60	0,25	bylinková
	1-butanol-3-metyl-acetát	0,23	0,25	0,37	0,28	0,08	ovocná
	metoxyfenyloxím	2,33	2,85	3,73	2,97	0,71	neznáma
	benzaldehyd	1,23	2,12	1,62	1,66	0,45	ovocná
	beta-fellandrén	0,38	0,59	0,48	0,48	0,11	mätová
	bicyklo [3.1.1] heptán, 6,6-dimetyl-2-metylén	0,72	1,31	1,13	1,05	0,30	bylinková
	beta-myrcén	0,58	0,73	0,77	0,69	0,10	korenistá
	delta-3-karén	1,88	3,25	2,98	2,70	0,73	citrusová
	p-cymén	0,58	1	1,05	0,88	0,26	terpenická
	d-limonén	6,73	9,11	9,2	8,35	1,40	citrusová
	benzenacetaldehyd	0,23	0,61	0,62	0,49	0,22	kvetinový
gama-terpinén	0,61	0,75	0,93	0,76	0,16	terpenická	



Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

1	linalool	0,19	0,33	0,51	0,34	0,16	kvetinové
	terpinen-4-ol	1,27	1,85	1,69	1,60	0,30	zatuchnutá
2	dimetyléter	3,38	1,53	1,38	2,10	1,11	neznáma
	hexanal	0,39	0,71	0,58	0,56	0,16	svieža trávová
	1-butanol-3-metyl- acetát	0,81	0,85	0,83	0,83	0,02	ovocná
	metoxyfenyloxím	3,44	4,1	3,88	3,81	0,34	neznáma
	benzaldehyd	1,91	2,14	2,29	2,11	0,19	ovocná
	d-limonén	0,97	0,56	0,76	0,76	0,21	citrusová
	benzylalkohol	0,55	0,53	0,57	0,55	0,02	kvetinová
	nonanal	0,76	0,4	0,37	0,51	0,22	aldehydová
	hexanal	0,31	0,41	0,33	0,35	0,05	svieža trávová
	3-metyl-1-butyacetát	0,97	0,79	0,78	0,85	0,11	ovocná
	metoxyfenyloxím	2,7	2,03	1,98	2,24	0,40	neznáma
	trans-tujén	0,38	0,2	0,19	0,26	0,11	drevitá
	alfa-pinén	1,21	0,92	0,92	1,02	0,17	bylinková
	benzaldehyd	1,88	1,47	1,51	1,62	0,23	ovocná
	cis-sabinén	0,86	0,6	0,61	0,69	0,15	revitá
	beta-pinén	2	1,51	1,53	1,68	0,28	bylinková
	beta-myrcén	0,95	0,47	0,53	0,65	0,26	korenistá
	delta-3-karén	4,55	3,2	3,47	3,74	0,71	citrusová
	p-cymén	1,61	1,05	1,21	1,29	0,29	terpenická
	d-limonén	15,05	8,24	9,77	11,02	3,57	citrusová
	hydrobenzoín	0,55	0,73	0,8	0,69	0,13	gáfrova
	gama-terpinén	1,14	0,72	0,81	0,89	0,22	terpenická
	linalool	0,43	0,47	0,46	0,45	0,02	kvetinová
	nonanal	0,43	0,43	0,4	0,42	0,02	aldehydová
	2-oxo-4-fenyl-6- (4- chlórphenyl) -1,2- dihydropyrimidín	5,15	16,8	14,22	12,06	6,12	drevitá
	terpinen-4-ol	3,35	2,88	3,16	3,13	0,24	zatuchnutá
	delta-elemen	0,66	0,4	0,52	0,53	0,13	bylinková
	dimetyléter	17,26	10,86	11,21	13,11	3,60	neznáma
	3-metyl-1-butanol	0,66	1,07	0,71	0,81	0,22	koňaková
	1-hexanol	0,21	0,61	0,34	0,39	0,20	bylinková
	alfa-fellandén	0,25	0,19	0,21	0,22	0,03	mätová
	2-metyl-5- (1- metyletyl) -bicyklo [3.1.0] hex-2-én	1,15	1,05	1,26	1,15	0,11	drevitá
benzaldehyd	0,66	0,84	0,76	0,75	0,09	ovocná	
beta-fellandén	0,61	0,44	0,51	0,52	0,09	mätová	
(LS) -6,6-dimetyl-2- metylen-bicyklo [3.1.1] heptán	2,34	1,78	1,91	2,01	0,29	bylinková	
delta-3-karén	4,09	3,16	3,75	3,67	0,47	citrusová	
p-cymene	1,22	0,96	1,14	1,11	0,13	terpenická	
d-limonén	13,15	8,09	10,83	10,69	2,53	citrusová	
1-fenyl-1,2- propándiol	0,54	0,52	0,62	0,56	0,05	neznáma	
terpinen-4-ol	2,18	2,02	2,44	2,21	0,21	zatuchnutá	
karyofylén	3,5	2,83	3,49	3,27	0,38	korenistá	



Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

hexanal	1,26	1,35	1,16	1,26	0,10	svieža trávová
L-butanol-3-metyl- acetát	0,87	0,55	0,53	0,65	0,19	ovocná
metoxyfenyloxím	4,84	3,94	4,4	4,39	0,45	neznáma
benzaldehyd	1,92	1,58	1,74	1,75	0,17	ovocná
d-limonén	1,15	0,44	0,61	0,73	0,37	citrusová
benzylalkohol	0,55	0,46	0,56	0,52	0,06	kvetinová
nonanal	0,61	0,67	0,57	0,62	0,05	aldehydová

Kvôli ich nízkym prahovým hodnotám významne prispievajú k aromatickým vlastnostiam šunky. (Lorenzo et al., 2014; Sabio et al., 1998). V našich vzorkách sme identifikovali alkoholy ako 1-hexanol, benzylalkohol, dioly ako 1-fenyl-1,2-propándiol a tiež terpénové alkoholy ako linalool či terpinen-4-ol. Vo všetkých vzorkách šunky boli tiež identifikované terpény (konkrétne beta-fellandrén, alfa-fellandrén, beta-myrcén, delta-3-karén, p-cymén, d-limonén, gama-terpinén, trans-tujén, alfa-pinén, beta-pinén, cis-sabinén a karyofylén), pričom najviac ich bolo zistených vo vzorkách 1, 3 a 4.

Sirtori et al. (2019) identifikovali pomocou SPME/GC-MS metódy 97 prchavých zlúčenín vo vzorkách Toskánskych PDO šuniek, pričom tieto zlúčeniny boli rozdelené do 7 skupín (uhl'ovodíky, aldehydy, ketóny, estery, alkoholy, kyseliny a furány). Liu et al. (2020) vo svojich štúdiách analyzovali prchavé zlúčeniny v šunkách Jinhua za pomoci e-nosu a GC-IMS a zistili, že v procese starnutia šuniek sa zvyšuje množstvo alkoholov (oktanol, 2-metylbutanol), ketónov (2-butanón, 2-hexanón, 2-heptanón, acetoín, gama-butyrolaktón), aldehydov (butanal, 3-metylbutanal), esterov (propylacetát) a karboxylovej kyseliny (kyselina 3-metylbutánová). Radovčič et al. (2016) identifikovali 87 prchavých zlúčenín v Dalmatianskych šunkách pomocou GC-MS. Identifikované chemické skupiny boli aldehydy (35,6 %), fenoly (34,3 %), alkoholy (13,8 %), terpény (6,4%), aromatické uhl'ovodíky (2,6 %), alkány (2,2 %), ketóny (2,2 %), estery (1,7 %) a kyseliny (0,7 %).

Záver

Elektronický nos je možné použiť na rôzne aplikácie, ako je kontrola kvality, monitorovanie procesov, hodnotenie trvanlivosti a hodnotenie pôvodu alebo pravosti. Mnohé elektronické nosy boli vyvíjané prednostne pre použitie vo výrobe mäsových výrobkov a poskytujú benefity pre túto oblasť ako napr. krátky čas analýz či zapojiteľnosť do kontinuálnych operácií vo výrobe. Aplikácia e-nosa pri kontrole kvality mäsa a mäsových výrobkov je preto veľmi sľubná.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0508. Práca bola podporená projektom VEGA 1/0276/18.

Literatúra

- Buratti S, Malegori C, Benedetti S, Oliveri P, Giovanelli G (2018): E-nose, e-tongue and e-eye for edible olive oil characterization and shelf life assessment: A powerful data fusion approach. *Talanta*, 182, 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.096>
- Delgado-Rodríguez M, Ruiz-Montoya M, Giraldez I, López R, Madejón E, Díaz MJ (2012): Use of electronic nose and GC-MS in detection and monitoring some VOC. *Atmospheric Environment*, 51, 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.jfset.2018.11.004>
- García, C., Berdagué, J. J., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J. J., Ventanas, J. (1991): Volatile components of dry cured Iberian ham. *Food Chemistry*, 41(1), 23-32. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(91\)90128-B](https://doi.org/10.1016/0308-8146(91)90128-B)
- Ghasemi-Varnamkhasi, M., Apetrei, C., Lozano, J., & Anyogu, A. (2018): Potential use of electronic noses, electronic tongues and biosensors as multisensor systems for spoilage examination in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 71-92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.018>



5. Ghasemi-Varnamkhasti, M., Aghbashlo, M. (2014): Electronic nose and electronic mucosa as innovative instruments for real-time monitoring of food dryers. *Trends in food science & technology*, 38(2), 158-166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.004>
6. Huan, Y., Zhou, G., Zhao, G., Xu, X., Peng, Z. (2005): Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing. *Meat Science*, 71(2), 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.025>
7. Li Q, Yu XZ, Xu LR, Gao JM (2017): Novel method for the producing area identification of Zhonging Goji berries by electronic nose. *Food Chemistry*, 211, 1113-1119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.049>
8. Liu D, Bai L, Feng X, Chen YP, Zhang D, Yao W, Zhang H, Chen G, Liu Y (2020): Characterization of Jinhua ham aroma profiles in specific to aging time by gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS). *Meat Science*, 168, 108-178. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108178>
9. Lorenzo, J. M., Franco, D., Carballo, J. (2014): Effect of the inclusion of chestnut in the finishing diet on volatile compounds during the manufacture of dry-cured “Lacón” from Celta pig breed. *Meat science*, 96(1), 211-223. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.007>
10. Niimi J, Eddy AI, Overngton AR, Heeman SP, Silcock P, Bremer PJ, Delahunty CM (2014): Aroma-taste interactions between a model cheese aroma and five basic tastes in solution. *Food Quality and Preference*, 31, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.05.017>
11. Pinu FR (2016): Early detection of food pathogens and food spoilage microorganisms: Application of metabolomics. *Trends in Food Science & Technology*, 54, 213-215. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.018>
12. Radovčić NM, Vidaček S, Janči T, Medić (2016): Characterization of volatile compounds, physico-chemical and sensory characteristics of smoked dry-cured ham. *J. Food Sci. Technol.*, 53(11), 4093-4105. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2418-2>
13. Qiu, S., Wang, J., Gao, L. (2015): Qualification and quantisation of processed strawberry juice based on electronic nose and tongue. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.041>
14. Sabio, E., Vidal-Aragon, M. C., Bernalte, M. J., Gata, J. L. (1998): Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries. *Food Chemistry*, 61(4), 493-503. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00079-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00079-4)
15. Sirtori F, Dimauro C, Bozzi R, Aquilani C, Franci O, Calamai L, Pezzati A, Pugliese C (2019): Evolution of volatile compounds and physical, chemical and sensory characteristics of Toscano PDO ham from fresh to dry-cured product. *European Food Research and Technology*, 246, 409-424. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03410-0>
16. Štefániková J, Árvay J, Miškeje M, Kačániová M (2020b): Determination of volatile organic compounds in Slovak bryndza cheese by the electronic nose and the headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14(1), 767-773. <https://doi.org/10.5219/1300>
17. Štefániková J, Nagyová V, Hynšt M, Kudláková D, Árvay J, Dráb Š (2020a): A comparison of sensory evaluation and an electronic nose assay in the assessment of aroma in dry hopped beers. *Kvasný prumysl*, 66(1), 224-231. <https://doi.org/10.18832/kp2020.66.224>

Kontaktné adresy: Ing. Lucia Benešová, Ing. Tomáš Vlčko, prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: xbenesova@uniag.sk, tomasvlcko01@gmail.com, jozef.golian@uniag.sk. Ing. Patrícia Martišová, Katedra technológií a kvality rastlinných produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: xmartisova@uniag.sk. PaedDr. Silvia Jakobová, PhD., Centrum BioFood, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: silvia.jakabova@uniag.sk



KVALITA TRÁVNÝCH PORASTOV V RÔZNYCH EKOLOGICKÝCH PODMIENKACH SLOVENSKÝCH POHORÍ

GRASSLAND QUALITY UNDER DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS OF SLOVAK MOUNTAINS

Norbert Britaňák, Janka Martincová, Lubomír Hanzes, Jozef Čunderlík

Abstract: This article presents monitoring of herbage quality in selected Slovak mountains. Herbage quality under cutting and mulching management (crude protein, crude fibre, and elements content – phosphorus, potassium, sodium, magnesium and calcium, and their ratios) was compared with results of long-term experiment with these technics. Results shows that for future management need application of some organic and mineral fertilizers to mitigate negative effects of nutrients in shortage or excessive amounts.

Keywords: nutrients, nutrients ratios in herbage, permanent grassland, mountains

Úvod

Vznik a existenciu trávnych porastov v miernom pásme podmienili dva hlavné biologické činitele: zoobiotický faktor – pôsobnosť stád divého dobytku, a fytoobiotický faktor – prirodzený boj podrastu tráv s lesným porastom (alebo iným vegetačným krytom). A v nemalej miere tomu napomáha i človek – antropický faktor (Maloch, 1952). V miernom pásme, kam patrí aj územie Slovenskej republiky, ide často o azonálny bióm (Mucina, 2019). Navyše Slavíková (1986) uvádza, že v našej krajine už neexistuje vegetácia, ktorá by bola celkom bez vplyvu človeka, v rovnováhe s prostredím a túto vegetáciu nazýva pôvodnou. Častejšie sa vyskytuje prirodzená vegetácia, zložená z druhov, ktorých ekologické nároky sú síce v súlade s podmienkami stanovišťa, avšak je aspoň čiastočne ovplyvňovaná hospodárskymi zásahmi. Preto Mucina (2019) dodáva, že žiadny organizmus nemá vyslovene taký vplyv na zloženie a dynamiku biotických spoločenstiev ako človek, ktorý chráni, modifikuje a ničí. Dôsledkom čoho je aj formovanie „nových ekosystémov“ (napr. Morse et al., 2014).

Dobrovodská (2012) uvádza históriu vzniku trvalých trávnych porastov z kultúrno-historickej perspektívy, ako aj z ekologickej významnosti. Kultúrno-historická významnosť je v súčasnosti nízka a je aj dôvodom extenzifikácie využívania trvalých trávnych porastov. Vyjadrenie „človek chráni, modifikuje, ničí“ (Mucina, 2019) pri obhospodarovaní práve trávnych porastov je dôležité, pretože tento vegetačný kryt je prírodným dedičstvom Slovenska, kde sa konaním generácií zvýšila diverzita rastlín z približne 200 druhov na jednom kilometri štvorcovom na 500 (Ružičková a Kalivoda, 2007). Nízke ohodnotenie trávnych porastov v spoločnosti (Dobrovodská, 2012) viedlo k celoplošnej unifikácii obhospodarovaniu jednou pratotechnickou operáciou (mulčovaniu), ktoré bolo možné vidieť nielen na poľnohospodárskom, ale aj v lesnom pôdnom fonde. Využívanie jednou formou obhospodarovania namiesto rôznych (kosenie, pasenie, ich rôzne kombinácie i intenzity) chronicky kumuluje živiny a vytvára tým nové, stále sa zhoršujúce prostredie pre rast rastlín a ich diverzitu (Smith et al., 2011).

V predložennom príspevku hodnotíme koncentráciu živín a látok v sušine nadzemnej fytohmoty a ich vzájomné pomery z troch pohorí, v ktorých sa obhospodarovali mulčovaním a porovnáваме ich s vybraným rokom dlhodobého experimentu, ktorý sa zaoberá pratotechnickými zásahmi.



Materiál a metódy

V troch pohoriach východného Slovenska sa odoberali pôdne vzorky, sledovala diverzita vyšších rastlín, produkcia a kvalita trvalých trávnych porastov. Na tomto mieste hodnotíme koncentráciu živín a látok a ich vzájomné pomery, ktorými na jednej strane charakterizujeme stanovišťa, na strane druhej slúžia ako podklady pre zmenu z jednostranného využívania na manažment, ktorý bude prírodu chrániť a udržiavať. Pohoriami boli: Slovenský raj (šesť lúk ($n = 6$) využívaných prevažne kosením), Slanské vrchy ($n = 14$, kosenie aj mulčovanie) a Čergov ($n = 27$, mulčovanie). V trávnej hmote boli hodnotené: hrubá vláknina (VL), dusíkaté látky (NL), minerálne prvky – fosfor (P), draslík (K), sodík (Na), vápnik (Ca) a horčík (Mg). Uvedené látky a živiny sa bežne hodnotia vo výžive prežúvavcov. Pomery však môžu slúžiť na širšie posúdenia environmentálnych charakteristík (limitovanie produkcie N alebo P – Koerselman a Meuleman (1996); priebehu poveternostných podmienok do času vykonania kosby (K:Na), ako aj vhodnosti pre využívanie pasiením (tetanový pomer K:(Ca+Mg)). Získané údaje sa porovnávali z hodnotami nameranými na dlhodobom pokuse v Liptovskej Tepličke (pohorie Nízke Tatry), kde sa sleduje dlhodobý vplyv kosenia, mulčovania a porovnáva sa so spontánnou sukcesiou (variant bez akéhokoľvek využívania).

Odber vzoriek nadzemnej fytohmoty vo všetkých pohoriach sa vykonal v roku 2019. Porovnania sa urobili z experimentu z rovnakého roka, pritom predstavovali už v poradí 14. rok sledovaní jednostranných zásahov.

Výsledky boli spracované neparametrickou analýzou variancie Kruskal-Wallisovým testom, pričom na stanovenie rozdielov sa použil Dunne-ov test mnohonásobného porovnávania. Všetko v prostredí štatistického softvéru STATIT Custom QC (Corvallis, Oregon).

Výsledky a diskusia

Vo všetkých sledovaných koncentráciách živín a látok boli zaznamenané vysoko preukazné rozdiely. Množstvo vlákniny v Slovenskom raji bolo preukazne nižšie než v ostatných sledovaných pohoriach ($\chi^2 = 14,0$; Df = 3; P = 0,0029). Najnižšou koncentráciou NL bolo charakteristické pohorie Čergov, ktoré sa množstvom odlišovalo od ostatných pohorí ($\chi^2 = 29,88$; Df = 3; P > 0,000 00). Naopak najvyššie množstvo NL bolo zaznamenané v Slovenskom raji, pričom táto koncentrácia sa neodlišovala od Nízkych Tatier. Rovnako najvyššia koncentrácia fosforu (ako aj draslíka) bola zaznamenaná v Slovenskom raji (sprievodná štatistika: ($\chi^2 = 16,42$; Df = 3; P = 0,000 93). Diferencie medzi jednotlivými pohoriami uvádza tabuľka 1, pretože boli zaznamenané preukazné rozdiely ($\chi^2 = 32,15$; Df = 3; P > 0,000 00). Z údajov vyplýva, že trávna hmota má vysokú koncentráciu draslíka, viac než sú odporúčania pre chov prežúvavcov. Množstvo sodíka nie je dostatočné v žiadnom zo sledovaných pohorí, pričom medzi Nízkymi Tatrami a Čergovom nie sú diferencie, ale odlišujú sa od Slovenského raja a Slanských vrchov ($\chi^2 = 34,63$; Df = 3; P > 0,000 00). Koncentrácia vápnika, s výnimkou Čergova kde bola preukazne najnižšia ($\chi^2 = 25,63$; Df = 3; P = 0,000 01), bola vyššia ako 9 g.kg⁻¹. Pohorie Čergov malo aj najnižšiu koncentráciu horčíka. Najvyššou sa prezentovali Nízke Tatry. Rozdiely boli štatisticky preukazné ($\chi^2 = 23,97$; Df = 3; P = 0,000 03).

Tab. 1 Koncentrácia živín a látok v nadzemnej fytohmote

Pohorie	VL	NL	P	K	Na	Ca	Mg
Nízke Tatry	284,93 ^b	107,90 ^{bc}	2,37 ^a	18,41 ^a	0,24 ^a	9,62 ^b	4,69 ^c
Slovenský raj	270,08 ^a	146,29 ^c	4,02 ^b	30,66 ^c	0,28 ^b	9,62 ^b	2,99 ^{bc}
Slanské vrchy	306,28 ^b	101,55 ^b	2,22 ^a	23,57 ^{bc}	0,32 ^b	9,39 ^b	2,57 ^{ab}
Čergov	303,85 ^b	87,21 ^a	2,13 ^a	18,94 ^{ab}	0,23 ^a	5,98 ^a	2,35 ^a



Z výsledkov je zrejme to, že najlepšie parametre pre prežúvavce sa získali v pohorí Slovenský raj. V tomto prípade ide o kosné využívanie vysokohorských lúčnych ekosystémov. Nasledované sú Nízkymi Tatrami. Tu je však potrebné povedať, že ide o priemer dvoch typov manažmentu (kosenie a mulčovanie, oba varianty raz ročne) a neobhospodarovanej kontroly, ktorá je ponechaná na samovoľný, sukcesný vývoj (bez zásahov v roku 2019 to predstavovalo už 29 rokov). Najmenej kvalitatívne vhodnú nadzemnú fyto masu poskytl trávne porasty z pohorí Slanské vrchy a Čergov. V oboch pohoriach sa obhospodarovalo v prevažnej miere mulčovaním (Slanské vrchy), alebo len mulčovaním (Čergov).

V spôsobe využívania sa koncentrácia vlákny ($\chi^2 = 9,50$; Df = 2; P = 0,008 65) a dusíkatých látok ($\chi^2 = 18,74$; Df = 2; P = 0,000 09) štatisticky odlišovala. Koncentrácia vlákny pri trávnom poraste ponechanom na samovoľný vývoj bola najnižšia (263,81 g.kg⁻¹), pri kosnom využití mierne narástla na 282,70 g.kg⁻¹ a preukazne najvyššia voči predchádzajúcim dvom spôsobom ošetrovania bola pri mulčovaní (304,07 g.kg⁻¹). Naopak, najvyššie množstvo NL bolo zaznamenané pri kosnom využívaní trávnych porastov (128,11 g.kg⁻¹). Toto využívanie sa preukazne odlišovalo od variantu bez využívania (pozvoľným poklesom na 121,44 g.kg⁻¹), k najnižšej hodnote, ktorá bola zaznamenaná pri spôsobe obhospodarovania mulčovaním (92,139 g.kg⁻¹). Avšak treba uviesť, že koncentrácia vlákny a NL je tu iba na ilustráciu, pretože minimálne počty pre vyhodnocovanie neparametrickými meraniami sú $n \geq 5$. Preto pri ostatných znakoch údaje nevyhodnocujeme.

Tab. 2 Porovnanie priemerných koncentrácií medzi experimentálnym nastavením (E) a terénnym zisteniami (T) v rámci jednotlivých manažmentov

		VL	NL	P	K	Na	Ca	Mg
Kosba	E	281,64	105,41	2,73	17,04	0,24	8,95	4,57
	T	285,41	133,78	3,59	29,30	0,29	9,15	2,86
Mulč	E	309,33	96,85	2,08	16,78	0,24	9,47	4,29
	T	303,80	91,90	2,15	20,29	0,26	7,11	2,42

Tabuľka 2 uvádza priemerné hodnoty koncentrácií živín a látok v trávnej hmote, kde porovnávame experimentálne kosenie s hodnotami zaznamenanými v rámci monitoringu. Rovnakým spôsobom porovnávame mulčovanie. Použili sme nepárový t-test, ktorý odhalil to, že len pri jednomocných katiónoch a kosnom využití boli zaznamenané preukazné rozdiely. V prípade týchto katiónov môže ísť o efekt substrátu, nakoľko trvalý trávny porast v experimente je vyvinutý na alúviu, kým monitorované trávne porasty predstavujú porasty vyvinuté na elúviách a delúviách. Ďalej pri dvojmocnom katióne, horčíku, sa zistili rozdiely pri oboch manažmentoch, pričom vždy vyššie koncentrácie na experimentálnom trávnom poraste v porovnaní s monitorovanými. Uvedené súvisí s materskou horninou, ktorá v Nízkych Tatrách (experiment) predstavuje dolomitický vápenec, kým v ostatných monitorovaných pohoriach je to vápenec (Slovenský raj), kyslé vulkanické horniny (Slanské vrchy), alebo karpatský flyš (Čergov). Zo starnutím geologického substrátu dochádza k ochudobňovaniu živín prirodzene (de TOMBEUR et al., 2020), pravidelným kosením situáciu urýchľujeme.

Pomer koncentrácie dusíka k fosforu poukazuje na to, ako sú stanovišťa limitované dvoma hlavnými prvkami zodpovednými za tvorbu úrod (KOERSELMAN and MEULEMAN, 1996), kde hranica pre prostredie s nedostatkom dusíka je nižšia ako 14 a prostredie s nedostatkom fosforu je vyššia ako 16. Oba prvky znižujú produkciu v rozsahu pomerov od 14 do 16. Z vypočítaných koncentrácií pomerov vyplýva, že všetky sledované pohoria majú nedostatok dusíka (tabuľka 3 a 4). Pričom pomery v Slovenskom raji a Čergove sú preukazne nižšie ako v Nízkych Tatrách či Slanských vrchoch ($\chi^2 = 14,77$; Df = 3; P = 0,002 02). Pomery v experimente sú vždy vyššie než hodnoty zaznamenané pri terénnom prieskume. WASEN et al. (2005) uvádzajú, že pri takomto pomere by malo rásť maximálne množstvo druhov. Pomer



draslíka a sodíka udáva aj stupeň aridity, resp. či porasty zažívajú stres so sucha. Pomer >100 je spájaný s nedostatkom vody. Aj pri tomto pomere boli zaznamenané štatisticky preukazné rozdiely medzi pohoriami ($\chi^2 = 17,63$; Df = 3; P = 0,000 52) s najvyššou hodnotou zaznamenanou v Slovenskom raji. Vykonané odbery boli v tomto pohorí ako prvé zo všetkých, ešte v máji, ktorý bol charakteristický zaznamenaný najvyššími teplotami. Tento pomer je adaptáciou, resp. prvou ochranou pred nedostatkom vody v rastlinách či porastoch. Hodnoty pomerov v experimente a v terénnom monitoringu nezaznamenali žiadne štatistické diferencie. Pomer jednomocného draslíka k sume dvojmocných vápnika a horčíka, tzv. tetanový pomer by nemal prekročiť kritickú hodnotu 2,2. V Slovenskom raji a v Čergove ju prekročil, pričom obe spomenuté pohoria vrátane Slanských vrchov mali preukazne vyššie pomery než boli stanovené pomery v Nízkych Tatrách ($\chi^2 = 18,97$; Df = 3; P = 0,000 28). Pri uvedenom ukazovateli (kvality pasienkového porastu) mali experimentálne hodnoty nepárovým porovnávaním vždy štatisticky nižšie hodnoty než hodnoty zaznamenané pri monitoringu v teréne. Navyše terénne hodnoty boli vyššie než kritická hodnota 2,20 aj pri kosnom spôsobe obhospodarovania a aj pri mulčovaní.

Tab. 3 Pomery elementov charakterizujúce rôzne vlastnosti stanovišť

Pohorie	N:P	K:(Ca+Mg)	K:Na
Nízke Tatry	7,56 ^b	1,29 ^a	77,99 ^{ab}
Slovenský raj	5,82 ^a	2,48 ^b	109,28 ^c
Slanské vrchy	7,44 ^b	2,02 ^b	74,45 ^a
Čergov	6,63 ^a	2,40 ^b	84,19 ^b

Tab. 4 Porovnanie pomerov medzi experimentálnym nastavením a terénnymi zisteniami pri jednotlivých manažmentoch

		N:P	K:(Ca+Mg)	K:Na
Kosba	E	6,69	1,27	70,98
	T	6,11	2,47	101,14
Mulč	E	7,59	1,22	69,90
	T	6,90	2,26	81,08

Záver

V predloženej práci hodnotíme koncentráciu látok, živín a ich pomerov v nadzemnej fytomase trávnych porastov. Zo zistených výsledkov vyplýva, že pri zmene manažmentu trávnych porastov v prevažnej miere mulčovaním na kosbu bude potrebné v niektorých rokoch či lokalitách aplikovať aj hnojivá (organické či priemyselné), aby sa zmiernili nedostatky a nadbytky prvkov v nadzemnej fytomase. Z dvoch typov obhospodarovania, ktoré boli predmetom skúmania vyplýva, že kosné využívanie produkuje trávnu hmotu vhodnejšiu pre prežúvavce (vrátane lesnej zveri) s nižšou koncentráciou VL a vyšším obsahom NL.

Pod'akovanie: Táto práca vznikla vďaka projektu „Spoločne za zachovanie a obnovu biodiverzity karpatských horských ekosystémov“ realizovaného v rámci programu Interreg V-A Poľsko – Slovensko 2014 – 2020 a spolufinancovaného Európskou úniou z prostriedkov Európskeho fondu regionálneho rozvoja. Výhradnú zodpovednosť za obsah tejto publikácie nesú jej autori a nedá sa stotožniť s oficiálnym stanoviskom Európskej únie.



Literatúra

1. de TOMBEUR F., TURNER B.L., LALIBERTÉ E., LAMBERS H., MAHY G., FAUCON M.-P., ZEMUNIK G., CORNELIS J.-T. 2020. Plants sustain the terrestrial silicon cycle during ecosystem retrogression. *Science* 2020 (369) 6508: 1245-1248.
2. DOBROVODSKÁ M. 2012. Trvalé trávne porasty na Slovensku – spoločné dedičstvo agrárnej kultúry v dunajskom regióne. *Životné prostredie* 2012 (46) 6: 300-306
3. KOERSELMAN W., MEULEMAN A.F.M. 1996. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *Journal of Applied Ecology* 1996 (33) 6: 1441-1450
4. MALOCH M. 1952. Krmovinarstvo. Základy náuky o pestovaní lúk a pasienkov. Bratislava: Oráč, 446 s.
5. MORSE N.B., PELLISSIER P.A., CIANCIOLA E.N, BRERETON R., SULLIVAN M.M., SHONKA N.K., WHEELER T.B., McDOWELL W.H. 2014. Novel ecosystems in the Anthropocene: a revision of the novel ecosystem concept for pragmatic applications. *Ecology and Society* 19: art. 12.
6. MUCINA L. 2019. Biome: evolution of a crucial ecological and biogeographical concept. *New Phytologist* 2019 (222) 1: 97-114
7. RUŽIČKOVÁ H., KALIVODA H. 2007. Kvetnaté lúky – prírodné bohatstvo Slovenska. Bratislava: Veda, 136 s.
8. SLAVÍKOVÁ J. 1986. Ekologie rostlin. Praha: SPN, 368 s.
9. SMITH M.D., KNAPP A.K., COLLINS S.L. 2009. A framework for assessing ecosystem dynamics in response to chronic resource alterations induced by global change. *Ecology* 2009 (90) 12: 3279-3289
10. WASSEN M.J., OLDE VENTERINK H., LAPSHINA E.D., TANNEBERGER F. 2005. Endangered plants persist under phosphorus limitation. *Nature* 2005 (437) 7058: 547-550.

Kontaktné adresy: Ing. Norbert Britaňák, PhD.¹, Ing. Janka Martincová, PhD.², Mgr. Lubomír Hanzes, PhD.¹, Ing. Jozef Čunderlík, PhD.², ¹ Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Regionálne výskumné pracovisko Liptovský Hrádok, Dr. Gašperíka 599, 033 01 Liptovský Hrádok Slovensko. ² Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumnú ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, Slovensko. E-mail: norbert.britanak@nppc.sk, janka.martincova@nppc.sk, lubomir.hanzes@nppc.sk, jozef.cunderlik@nppc.sk



REAKCIA JAČMEŇA SIATEHO NA PODMIENKY PESTOVANIA A APLIKÁCIU STIMULÁTORA RASTU RESPONSE OF BARLEY TO GROWING CONDITIONS AND APPLICATION OF GROWTH STIMULATOR

Eva Candráková

Abstract: In 2012 and 2013, a small-plot field experiment was established at the Dolná Malanta site. Spring barley variety Kangoo and winter barley variety Casanova were cultivated. Three fertilization variants were used: H1 = control, H2 = 60 kg N, H3 = 60 kg N + Sunagreen (growth stimulator). The grain yield was high significantly influenced by the year. Over a period of two years, the average yield of winter barley was 5.29 t.ha⁻¹. The yield of spring barley was only 2.13 t.ha⁻¹ due to lack of moisture during the growing season. The application of nitrogen boosted a significant increase in grain yield, but the growth stimulator had no effect on the increase in grain yield. The thousand grains weight reached an average value of 44.82 g in 2012 but it was a significantly higher in 2013 (47.61 g). The effect of fertilization variants was insignificant TGW. The Casanova variety achieved significantly higher thousand grains weight (50.19 g) in comparison to the Kangoo variety (42.24 g).

Keywords: spring barley, winter barley, variety, fertilization, yield

Úvod

Obilniny sú najvýznamnejšou skupinou poľných plodín pestovaných na Slovensku a ich podiel v osevných postupoch je viac ako 50 %. Najvýznamnejšou obilninou je pšenica a hneď po nej jačmeň. Pri jačmeni prevláda pestovanie jarnej formy, ktorej využitie sa predpokladá hlavne v sladovníckom priemysle na výrobu sladu ako základnej suroviny pre výrobu piva. V ostatných rokoch plochy pestovania jačmeňa kolíšu a hlavne klesajú. Hlavným dôvodom sú nestabilné úrody zrna jačmeňa.

Na Slovensku sa v roku 2012 zberal jačmeň siaty z plochy 148,0 tis. ha s úrodou 3,18 t.ha⁻¹ (Masár, 2017). V ostatných rokoch sa plocha postupne znižovala a v roku 2019 bola zberová plocha jačmeňa siateho 126,4 tis. ha, ale úroda zrna sa zvýšila na 4,74 t.ha⁻¹ (Masár, 2020). O produkciu jačmeňa je stále záujem a preto by sa mohli plochy pestovania zvyšovať. Klesanie pestovateľských plôch jačmeňa spôsobujú klimatické podmienky. Jačmeň veľmi citlivo reaguje na nevyvážené zdroje vody počas vegetačného obdobia, čo sa prejavuje kolísaním úrod a kvality zrna. Týka sa to najmä jarnej formy jačmeňa. Okrem jačmeňa siateho jarného je záujem aj o zrna jačmeňa siateho ozimného, ak dosahuje parametre požadovanej kvality na výrobu sladu. Úrody zrna ozimných foriem jačmeňa sú obyčajne vyššie a stabilnejšie. V súčasnosti sa pestujú a využívajú na výrobu sladu dvojradové odrody jačmeňa siateho ozimného, ktoré za vhodných podmienok dosahujú požadovanú kvalitu.

Cieľom príspevku je poukázať na rozdielnu reakciu dvoch foriem jačmeňa siateho (jarného a ozimného) na aplikáciu dusíkatých hnojív a stimulátora rastu v rovnakých podmienkach pestovania.

Materiál a metódy

Na Výskumno-experimentálnej báze Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre, nachádzajúcej sa v lokalite Dolná Malanta, východne od mesta Nitry, v nadmorskej výške 170 m, bol založený poľný polyfaktorový pokus s jačmeňom siatym jarným a ozimným. Územie spadá do teplého, veľmi suchého, nížinného klimatického regiónu. Zeminy z orníc na



lokalite sú prachovito-hlinité s objemovou hmotnosťou 1500-1680 kg.m⁻³ (Tobiášová a Šimanský, 2009). Pokus bol založený metódou dlhých pásov s kolmo delenými blokmi. Veľkosť pokusnej plochy variantu bola 12 m² (6 x 2) s tromi opakovaniami. Vysiate boli odrody Kangoo (jačmeň jarný) a Casanova (jačmeň ozimný) po predplodine repe cukrovej v množstve 4,5 miliónov klíčivých zŕn na hektár v rokoch 2012 a 2013.

Variety hnojenia:

A = kontrola,

B = 60 kg N + 30 kg P + 120 kg K (bez stimulátora)

C = 60 kg N + 30 kg P + 120 kg K so stimulátorom Sunagreen

Termín sejby jačmeňa siateho jarného: 21. 3. 2012; 8. 4. 2013 a termín zberu: 19. 7. 2012; 28. 7. 2013. Termín sejby jačmeňa siateho ozimného: 14. 10. 2011; 8. 10. 2012 a termín zberu: 20. 7. 2012; 2. 7. 2013.

Charakteristika odrôd a stimulačného prípravku:

Kangoo je poloneskorá odroda jačmeňa, stredne vysoká s dobrou odolnosťou proti poliehaniu. Zrno má pomerne veľkú HTZ. Má výberovú sladovnícku kvalitu. Je vhodná na pestovanie vo všetkých výrobných oblastiach.

Casanova je dvojradová odroda. Má krátke steblo, dobrú odolnosť proti poliehaniu a dobrý zdravotný stav. Vyznačuje sa vysokým podielom zrna 1. triedy.

Sunagreen je rastový stimulátor, ktorý obsahuje 5 g.l⁻¹ kyseliny 2-aminobenzoovej a 2-hydroxybenzoovej. Pomáha k tvorbe odnoží a zvyšuje odolnosť proti poliehaniu.

Fosforečné a draselné hnojivá boli aplikované pred sejbou jačmeňov. Dusíkaté hnojivo vo forme LAV 27 bolo aplikované na konci odnožovania porastov jačmeňa.

Všetky varianty boli ošetrené fungicídnym prípravkom Bumper Super v dávke 1,0 l.ha⁻¹ na konci odnožovania.

Získané výsledky boli vyhodnotené štatistickým softwarom Statgraphics *Plus*. Pre vyhodnotenie významnosti jednotlivých faktorov na sledované parametre bola použitá viacfaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Rozdiely medzi variantmi boli posúdené LSD testom s minimálnou hladinou významnosti P 0,05. Na zistenie vzájomných vzťahov medzi skúmanými faktormi sme použili korelačnú analýzu.

Výsledky a diskusia

V poľnohospodárskej praxi sa všetci pestovatelia snažia vyvinúť maximálne úsilie pre dosiahnutie vysokých úrod za primeranej kvality produktov. Vo väčšine prípadov je ich úsilie ovplyvnené priebehom poveternostných podmienok, ktoré sú v každom roku iné. Dôkazom sú aj výsledky z našich pokusov, ktoré prezentujeme. Hlavne jačmeň siaty citlivo reaguje na teplotné a hlavne vlhové podmienky počas celého vegetačného obdobia. Rozdiely sa prejavujú aj medzi jarnou a ozimnou formou pestovaného jačmeňa, čo potvrdzujú aj naše výsledky. Pre porovnanie sme vybrali dva ročníky s rôznymi podmienkami.

Vývoj poveternostných podmienok spôsobil, že jačmeň jarný sme mohli siať v roku 2012 už v mesiaci marec, ale v roku 2013 až začiatkom apríla. V roku 2012, po veľmi vlhkom januári, nastúpil suchý február a mimoriadne suchý marec. Mesiac apríl bol normálny, ale v mesiaci máj bol zaznamenaný deficit zrážok. Nedostatok vlahy zvýraznili ešte zvýšené teploty vzduchu v priemere o 2 °C oproti normálu.

V roku 2013 boli podmienky opačné. Mesiace január, február a marec boli mimoriadne vlhké. Po veľmi suchom apríli nasledoval vlhký máj, ale po ňom zase suchý jún. Teploty v mesiaci apríl a jún boli vyššie ako dlhoročný normál (Tab. 1). Ako uvádza Molnárová a Pepó



(2010), ak po teplom a suchom marci nasleduje chladnejší a zrážkovo bohatší apríl a jún, možno očakávať bohatú a kvalitnú úrodu.

Tab. 1 Teploty a zrážky v rokoch 2012 a 2013 v porovnaní s normálom 1961 – 1990

Rok	Zrážky (mm)											
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
1961-1990	31,0	32,0	30,0	39,0	58,0	66,0	52,0	61,0	40,0	36,0	55,0	40,0
2011								152,3	92,1	36,7	1,2	42,0
2012	49,2	17,8	0,9	35,3	17,5	54,4	100,0	10,0	28,2	72,3	22,9	41,0
2013	66,1	74,4	97,0	17,8	73,3	42,0	0,8	62,2	67,4	27,8	73,4	9,0
	Teploty (°C)											
1961-1990	-1,7	0,7	5,0	10,4	15,1	18,0	19,8	19,3	15,6	10,4	4,5	0,1
2011								20,9	17,7	9,9	3,0	2,2
2012	1,3	-2,8	7,2	11,8	17,2	20,6	22,8	22,2	17,4	10,7	7,6	-1,0
2013	-0,8	1,6	3,2	22,9	15,9	19,5	22,9	22,2	14,6	11,7	6,8	2,3

Jačmeň siaty ozimný sme siali v októbri a v roku 2011 nastúpil po sejbe mimoriadne suchý mesiac november, čo sa prejavilo na horšom vzhádzaní zrna, ktorého výsledkom bol menší počet rastlín na jednotku plochy. Blaha a i. (2012) uvádzajú, že v suchších podmienkach po sejbe jačmeň lepšie zakorení a je odolnejší voči nízkym teplotám. Dvojradowé odrody jačmeňa siateho ozimného sa považujú za najmenej zimuvzdorné. Nakoľko v roku 2012 bol január aj marec teplý a v roku 2013 boli normálne teploty, jačmeň nevymrzol. V ďalšom období vegetácie pokračovali výkyvy teplotných a vlhových podmienok, ktoré zasiahli obidve formy jačmeňa.

Pretože podmienky neboli ideálne ani v jednom roku, prejavilo sa to na konečnej úrode zrna jačmeňa. Najcitlivejšie reagoval jačmeň siaty jarný, ktorý v obidvoch rokoch dosiahol priemernú nízku úrodu zrna 2,22 t.ha⁻¹ (2012) a 2,04 t.ha⁻¹ (2013). Výsledky sú uvedené v tabuľke 2. Jakubecová, Molnárová a Žembery (2004) uvádzajú, že na úrodu negatívne vplyva teplý máj a jún, kedy sa zakladajú generatívne orgány. Potvrdilo sa to aj v našich výsledkoch.

Tab. 2 Úroda zrna a HTZ jačmeňa siateho jarného a ozimného v rokoch 2012 a 2013

Odroda	Varianty hnojenia	HTZ (g)		Priemer	Úroda zrna (t.ha ⁻¹)		Priemer
		2012	2013		2012	2013	
Kangoo	A (kontrola)	41,40	48,45	44,93	2,06	1,80	1,93
	B (NPK)	41,50	47,30	44,40	2,48	2,22	2,35
	C (NPK+Sunagreen)	41,60	48,70	45,15	2,13	2,10	2,12
	Priemer	41,50	48,15	44,83	2,22	2,04	2,13
Casanova	A (kontrola)	43,53	52,99	48,26	3,44	6,12	4,78
	B (NPK)	42,20	52,83	47,52	4,47	7,89	6,18
	C (NPK+Sunagreen)	42,93	51,23	47,08	3,90	5,89	4,90
	Priemer	42,89	52,35	47,62	3,94	6,63	5,29

Jačmeň siaty ozimný dosiahol v roku 2012 priemernú úrodu zrna 3,94 t.ha⁻¹, čo je o 77,4 % viac ako jačmeň jarný. V roku 2013 bol rozdiel ešte väčší, pretože úroda zrna jačmeňa ozimného bola 6,63 t.ha⁻¹, ktorá bola trojnásobne vyššia ako pri jarnej forme jačmeňa. Jačmeň ozimný sa lepšie prispôbil vlhovým a teplotným podmienkam pestovania. Mal k dispozícii zimnú vlhu z jesenných a prvých troch jarných mesiacov, čo mu pomohlo prekonať výkyvy v množstve vlhy v ďalších mesiacoch vegetačného obdobia.



Ako uvádza Molnárová (2014), akumulácia vody v zimnom období umožňuje ozimným formám obilnín lepšie prekonávať stresové podmienky a pri dodržaní zásad technológie pestovania sa môžu dosiahnuť stabilné úrody dvojradoových aj viacradoových odrôd jačmeňa siateho ozimného.

Rozdiely v úrode sa prejavili aj medzi odrodami, ktoré ale porovnávať veľmi nemôžeme, pretože sa jedná o dve formy jačmeňa. Molnárová a Pepó (2010) považujú výber odrody za jeden z najvýznamnejších faktorov, ktorý vplýva na výšku úrody a kvality zrna jačmeňa. Potvrdila to vo svojich prácach aj Candráková, Žembery a Illéš (2019); kedy odroda jačmeňa jarného Marthe, v roku 2012 a 2013, prevýšila úrodou zrna odrodu Kangoo o 0,84 t.ha⁻¹ a odrodu jačmeňa ozimného Casanova prevýšila úrodou odroda Malwinta o 0,63 t.ha⁻¹ Candráková (2019).

Významnou živinou, ktorá rozhoduje o dynamike tvorby sušiny a kvality zrna, je dusík (Zimolka, 2006). Aplikácia čistých živín dusíka v dávke 60 kg.ha⁻¹ pôsobila na výšku úrody zrna jačmeňov pozitívne. Vo variante B, bez použitia stimulátora rastu, bola vysokopreukazná (4,26 t.ha⁻¹), (Tab. 3). Stimulátor rastu Sunagreen ani v jednom roku nezvýšil úrodu zrna jačmeňov. Potvrdil sa poznatok autorov Vašák et al. (2013), ktorí poukazujú na kolísanie účinku Sunagreenu v jačmeni jarnom, v porovnaní so pšenicom. Odôvodňujú to menšou kompenzačnou schopnosťou jačmeňa dohnať výpadok v počte klasov na jednotku plochy. V našom prípade ani ozimná forma jačmeňa nereagovala na stimulátor zvýšením úrody, čo bolo spôsobené tiež menším počtom rastlín a odnoží, ako by si to porast vyžadoval. Křováček a Hnilička (2008) zistili, že stimulátory rastu spôsobujú zvýšený obsah chlorofylu v rastline a tým zvýšenú fotosyntetickú aktivitu, čo zvyšuje celkovú úrodu. V našom pokuse, z hodnotených rokov, sa to nepotvrdilo. Najmenšia priemerná úroda zrna jačmeňov bola dosiahnutá na kontrolnom variante (3,35 t.ha⁻¹) a najvyššia po aplikácii priemyselných hnojív.

Ak je to potrebné, jačmeň siaty sa môže v rastovej fáze odnožovania až začiatku steblovania prihnojiť dusíkom, ale Kováčik (2007) uvádza, že jačmeň na sladovníckej účely je lepšie dusíkom nedohnojiť, ako prehnojiť. Benčíková a Slamka (2010) odporúčajú dávku dusíka pre jačmeň 60 – 100 kg.ha⁻¹.

Tab. 3 Štatistické vyhodnotenie úrody zrna a HTZ jačmeňa siateho jarného a ozimného

Faktor	Úroda zrna (t.ha ⁻¹)	HTZ (g)
Rok	2012	44,82a
	2013	47,61b
Odroda	Kangoo	42,24a
	Casanova	50,19b
Varianty hnojenia	A (kontrola)	46,03a
	B (NPK)	46,04a
	C (NPK+Sunagreen)	46,89a

Rozdielne písmená znamenajú štatistickú preukaznosť na hladine P<0,05.

Pre úrodu a spôsob zhodnotenia zrna jačmeňa je dôležitá hmotnosť tisíc zrn (HTZ). Hmotnosť tisíc zrn bola vysokopreukazne ovplyvnená podmienkami ročníka. Lepšie hodnoty boli dosiahnuté v roku 2013 (47,61 g) ako v roku 2012 (44,82 g). Medzi odrodami bol rozdiel až 7,95 g v prospech odrody Casanova (50,19 g). Z variantov hnojenia bola preukazne vyššia úroda po aplikácii priemyselných hnojív. Prípravok Sunagreen pôsobil nepreukazne. Po aplikácii stimulátora rastu sa zvýšila iba HTZ o 0,85 g v porovnaní s variantom hnojeným priemyselnými hnojivami (Tab 3).

Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov, z pestovania jačmeňa siateho jarného a ozimného, môžeme konštatovať, že formy jačmeňa rozdielne reagujú na teplotné a vlhové podmienky



ročníka. Prejavuje sa to hlavne vtedy, keď vzniknú disproporcie vlhky počas vegetačného obdobia. Ozimná forma jačmeňa, je v porovnaní s jarnou formou vo výhode, pretože počas zimného obdobia sa naakumuluje viac vlhky v pôde a tak prípadný nedostatok vody v ďalšom období porasty lepšie zvládajú. Výsledkom je vyššia priemerná úroda zrna jačmeňa siateho ozimného za obdobie rokov 2012 a 2013 (5,29 t.ha⁻¹) oproti jačmeňu siatemu jarnému (2,13 t.ha⁻¹). Ak nemá jačmeň siaty jarný k dispozícii pravidelný zdroj vody potrebný k rastu, dochádza k zníženiu úrody a väčšinou aj kvality zrna. Z intenzifikačných faktorov bol použitý stimulátor rastu Sunagreen, ktorý ani pri jednej forme jačmeňa siateho nepodporil preukazne zvýšenie úrody zrna. Pri pestovaní plodín má veľký význam správny výber odrody. Každá odroda reaguje rozdielne na pestovateľské podmienky a preto je potrebné vyberať odrody, ktoré sa najlepšie adaptujú v konkrétnej lokalite pestovania jačmeňa siateho.

Pod'akovanie: VEGA: 1/0530/18 2018 - 2020. Výskum produkcie a kvality významných druhov poľných plodín v klimaticky meniacich sa podmienkach.

Literatúra

1. Blaha, J. 2012. Nutnost vénovat se celistvosti rostlin na širokou adaptabilitu růstu. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin (recenzovaný sborník příspěvků. Česká zemědělská univerzita v Praze, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně. 2012, s. 1-5, ISBN 978-80-213-2247-9
2. Benčíková, M. – Slamka, P. 2010. Hnojenie ozimného jačmeňa pestovaného na sladovníčke a kýmne účely dusíkom. Nitra : SPU 2010. ISBN 978-80-552-0363-8.
3. Candráková, E. 2019. Vplyv podmienok pestovania a vybraných faktorov na úrodu zrna jačmeňa siateho ozimného. In Vedecké práce katedry rastlinnej výroby. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2019, s. 15 – 21. ISBN 978-80-552-2019-2.
4. Candráková, E., Žembery, J., Illéš, L. 2019. Použitie stimulátora rastu pri pestovaní jačmeňa siateho jarného. In Vedecké práce katedry rastlinnej výroby. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2019, s. 22 – 27. ISBN 978-80-552-2019-2.
5. Jakubecová, H. - Molnárová, J. - Žembery, J. 2004. Produkcia a kvalita sladovníckeho a nahého jačmeňa v dvoch pestovateľsky odlišných ročníkoch. In. Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe. Zb. CDs. SPU Nitra, 2004, s. 115-123, ISBN 80-8069-488-6
6. Kováčik, P. 2007. Výživa a úroveň hnojenia rastlín. Nitra : Ústav vedeckotechnických informácií pre pôdohospodárstvo, 2007, 96 s. ISBN 978-80-89088-59-1.
7. Křováček, J. – Hnilička, F. 2008. Hergit a sunagreen v pěstitelské technologii jarního ječmene. In Sborník z konference „Český ječmen pro světový trh – slad je duší piva“.Libčany, 2008, s. 33 – 34, ISBN 978-80-213-1751-2.
8. Masár, I. 2017. OBILNINY. Situačná a výhľadová správa k 30.6.2017. NPPC-VÚEPP, 2017. Roč. XXIV, č. 2, ISSN 1338-483X
9. Masár, I. 2020. OBILNINY. Situačná a výhľadová správa k 31.12.2019. NPPC-VÚEPP, 2020. Roč. XXVI, č. 1, ISSN 1338-483X
10. Molnárová, J. – Pepó, P. 2010. Udržateľné pestovanie jačmeňa siateho v podmienkach klimatických zmien. In Sustainable, environmental friendly field crops production in changing climate conditions (monograph). Nitra, 2010, s. 6 – 7, ISBN 978-80-552-0515-1.
11. Molnárová, J. 2014. A fenntartható fejedást, termést és a minoségiét befolyásoló tényezék az árpatermesztésben. In A fenntarthatónövénytermesztés feljesztési lehetőségei Debrecen, 2014, s. 144 – 151. ISBN 978-963-473-741-4.
12. Tobiašová, E. - Šimanský, V. 2009. Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou. 1. vydanie. Nitra: SPU. p. 114. ISBN 978-80-552-0196-2.
13. Vašák, J. a i. 2013. Sunagreen v obilninách. Dostupné na internete www.chemapagro.sk/clanky-sunagreen-v-obilninach.html
14. Zimolka, J. a i. 2006. Ječmen- formy a úžitkové smery v České republice. Praha, 2006, 199 s. ISBN 80-86726-18-5.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Eva Candráková, PhD., Katedra rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: Eva.Candrakova@uniag.sk



CORNUS MAS L. MÔŽE POZITÍVNE OVPLYVNÍŤ GLYKÉMIU ZDF POTKANOV CORNUS MAS L. MAY POSITIVELY AFFECT THE GLYCEMIA OF ZDF RATS

Rudolf Dupák, Anna Kalafová, Monika Schneidgenová, Ján Brindza, Marcela Capcarová

Abstract: The aim of the present study was to determinate the effect of Cornelian cherry on the glycemia and insulin parameters of rat blood. In the experiment 25 Zucker diabetic fatty rats (ZDF) were used. ZDF rats were divided into 5 groups: lean, control, K, D and DD and received the accurate dose of Cornelian cherry using the sterile oral rodent gavage. Blood glucose levels in ZDF rats treated by Cornelian cherry's stone have significantly lower values ($P < 0.001$) when compared to the diabetic control. The results suggest that Cornelian cherry's stone would provide promising use in the management of *Diabetes mellitus*.

Keywords: Cornelian cherry, glycemia, insulinemia, diabetes, ZDF rats

Úvod

V súčasnosti patrí *Diabetes mellitus* medzi celosvetovo závažné ochorenia, nakoľko počet jedincov s týmto ochorením stále vzrastá. Z tohto dôvodu je dôležité hľadať nové a účinné prostriedky, ktoré by pomohli pri prevencii a liečbe ochorenia. Je známe, že mnoho rastlín sa vyznačuje svojimi liečivými účinkami vďaka ich vysokému obsahu bioaktívnych látok. V našej práci sme sledovali účinok driená obyčajného (*Cornus mas* L.) na vnútorné prostredie ZDF potkanov, ktoré slúžia ako vhodný biologický model pre monitorovanie *Diabetes mellitus* 2. typu.

Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

Diabetes mellitus (DM) je metabolické ochorenie charakterizované dočasným alebo kompletným nedostatkom inzulínu. Odhaduje sa, že do roku 2035 bude na svete približne 592 miliónov ľudí trpiacich na *Diabetes mellitus* (Sen a Chakraborty, 2015). Najčastejšou príčinou vzniku DM je dedičnosť, sedavý spôsob života, nezdravé stravovanie, obezita a starnutie (Hosseinpour et al., 2017). *Diabetes mellitus* 2. typu (DMT2) je najčastejšie sa vyskytujúcim typom a predstavuje približne 93% zo všetkých jedincov trpiacich na DM. DMT2 je charakterizovaný inzulínovou rezistenciou z dôvodu dysfunkcie pankreatických β -buniek (Halban et al., 2014; Dabelea et al., 2014). Drieň obyčajný (*Cornus mas* L.) je rastlina, ktorá má chutné, sladko-kyslé plody. Moderné štúdie preukázali, že tieto plody sú bohatým zdrojom organických kyselín, cukrov, vitamínu C, polyfenolov a tanínov. Všetky tieto zlúčeniny majú antioxidantné, antidiabetické, protirakovinové, protizápalové, antibakteriálne účinky a ochranný účinok na kardiovaskulárny systém (Moldovan et al., 2016).

Materiál a metódy

Do experimentu bolo zaradených 25 samčích potkanov línie ZDF (Dobrá Voda, Slovenská republika). Experiment bol schválený Etickou komisiou a Štátnou veterinárnou a potravinovou správou Slovenskej republiky pod číslom 2288/16-221. Potkany boli rozdelené do 5 skupín: lean (nediabetická kontrola), kontrola (diabetická kontrola) a experimentálne diabetické skupiny K, D a DD. Všetky zvieratá boli kŕmené kompletnou kŕmnou zmesou – KKZ-P/M (Dobrá Voda, Slovenská republika) a mali zabezpečený *ad libitum* prístup k vode a potrave.



Experimentálne skupiny dostávali sterilnou gastrickou sondou priamo do žalúdka presné dávky drieňa obyčajného každý deň. V skupine K dostávali potkany rozdrvenú kôstku drieňa v dávke 250 mg.kg^{-1} , skupina D dostávala dužinu drieňa v množstve 1500 mg.kg^{-1} a skupina DD dužinu drieňa v množstve 2000 mg.kg^{-1} telesnej váhy po dobu 4 mesiacov. Kontrolné skupiny dostávali počas sondovania vodu. Drieň obyčajný bol získaný z Inštitútu ochrany biodiverzity a biologickej bezpečnosti Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre (Slovenská republika). Čerstvé plody boli umyté, oddelené od kôstky, následne rozdrvené a zmrazené pri $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Počas experimentu boli z drieňa pripravované presné dávky, vhodné na podávanie ZDF potkanom. Každý týždeň bola odobratá kvapka krvi z chvosta každého potkana na stanovenie hladiny glukózy prostredníctvom prístroja FreeStyle Optimum Neo (Abbott Diabetes Care Ltd., Spojené kráľovstvo) využitím testovacích prúžkov. Na konci experimentu boli potkany humane usmrtené intraperitoneálne injekciou obsahujúcou xylazín v kombinácii so zoletilom. Krv bola odobratá priamo zo srdca a slúžila na stanovenie konečnej hladiny glukózy a inzulínu. Koncentrácia inzulínu bola stanovená z krvného séra pomocou metódy ELISA a využitím komerčných kitov (Biotech, Slovenská republika). Na základe získaných hodnôt glukózy a inzulínu boli vyrátané HOMA-IR (insulin sensitivity index), QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index) indexy a pomer glukózy a inzulínu (G:I). Signifikantné rozdiely medzi kontrolnými a experimentálnymi skupinami boli zaznamenané v štatistickom programe GraphPad Prism 5 (GraphPad Prism 5 ISO, USA) prostredníctvom ANOVA testu. Výsledky boli vyjadrené ako priemer \pm štandardná chyba priemeru a signifikantné rozdiely boli porovnávané na hladinách $P < 0,05$, $P < 0,01$ a $P < 0,001$.

Výsledky a diskusia

ZDF potkany sa javia ako cenný model výskumu prevencie a liečenia *Diabetes mellitus* a jeho komplikácií. Súčasnú lieky proti DM majú určité obmedzenia, nepriaznivé účinky a vysokú mieru sekundárnych zlyhaní (Shapiro a Gong, 2002). Z tohto dôvodu sú diskutované alternatívne terapie ako využívanie prírodných látok bez nežiaducich účinkov (Sacan et al., 2004). V našich experimentoch sme sledovali pri stanovení glykémie signifikantné zníženie hladiny glukózy medzi experimentálnou skupinou K v porovnaní s diabetickou kontrolnou skupinou v 15. týždni experimentu (Obrázok 1).

Znížené hladiny glukózy a antidiabetické účinky sú pravdepodobne spojené s prítomnosťou polyfenolických zložiek ako sú flavonoidy a antokyány, ktoré sú schopné inhibovať aktivitu α -amylázy a α -glukozidázy (Shishehbor et al., 2016), čo potvrdzujú aj naše výsledky kedy nedošlo k nárastu hladín glukózy po podávaní kôstky drieňa obyčajného. Úroveň glykémie môžu byť ovplyvnené aj prítomnosťou kyseliny ursolovej, ktorá sa nachádza v kôstke drieňa a vyznačuje sa antidiabetickými a antioxidačnými účinkami (Lee et al., 2014).

Signifikantné zvýšenie hodnôt inzulínu bolo zistené v experimentálnej skupine K v porovnaní s kontrolnou diabetickou skupinou (Tabuľka 1).

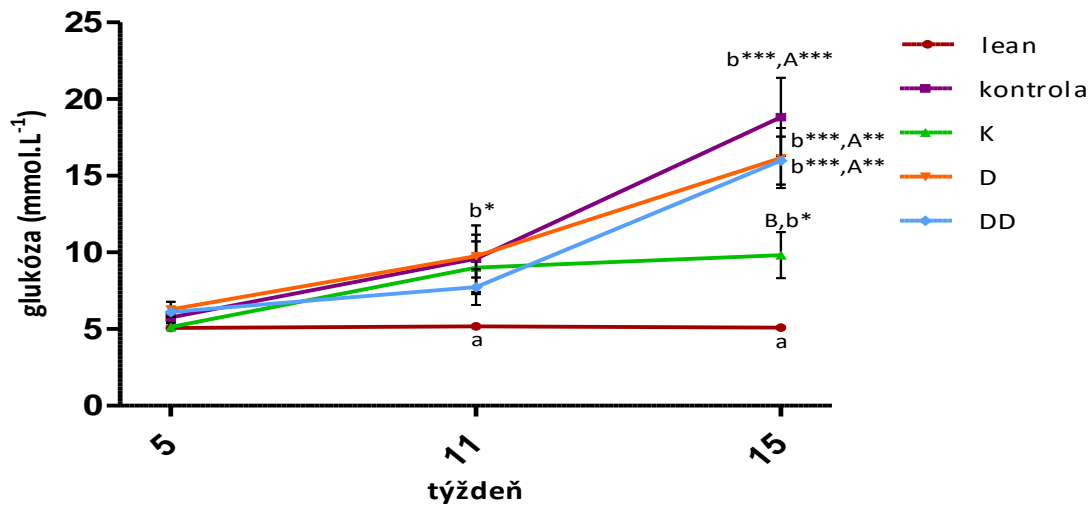
Tab. 1 Vplyv drieňa obyčajného na hladinu inzulínu, HOMA-IR, G:I pomer, QUICKI ZDF potkanov

Ukazovateľ	lean	kontrola	K	D	DD
Inzulín ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	9,31 \pm 0,45	4,60 \pm 0,69 ^{a**}	7,95 \pm 1,19 ^{b*}	4,98 \pm 0,69 ^{a**}	6,80 \pm 0,63
HOMA-IR	1,84 \pm 0,08	3,61 \pm 0,42	4,57 \pm 0,53 ^{a**}	4,7 \pm 0,01 ^{a**}	7,03 \pm 0,94 ^{a***}
G:I pomer	0,20 \pm 0,01	5,11 \pm 1,41 ^{a**}	2,12 \pm 0,72	4,67 \pm 0,83 ^{a**}	3,54 \pm 0,52 ^{a*}
QUICKI	0,37 \pm 0,004	0,35 \pm 0,005 ^{a*}	0,36 \pm 0,002	0,31 \pm 0,003 ^{a*}	0,32 \pm 0,002 ^{a*}

Údaje sú vyjadrené ako priemer \pm štandardná chyba priemeru; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ^a znamená signifikantný rozdiel v porovnaní s lean skupinou v radoch; ^b znamená signifikantný rozdiel v porovnaní s kontrolnou skupinou v radoch



Obrázok 1 Vplyv drieňa obyčajného na hladinu glukózy ZDF potkanov



a-b alebo A-B znamená signifikantný rozdiel v konkrétnom týždni experimentu, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

HOMA-IR je jedným z najbežnejšie používaných metód na stanovenie a výpočet inzulínovej rezistencie (Vaccaro et al., 2004). V našom pokuse sme zaznamenali vyššie hodnoty HOMA-IR vo všetkých experimentálnych skupinách v porovnaní s kontrolnou diabetickou skupinou, avšak tieto rozdiely neboli štatisticky významné (Tabuľka 1). G:I pomer a QUICKI index sú vhodnými parametrami na posúdenie inzulínovej citlivosti (Chen et al., 2005; Katz et al., 2000). V našich predchádzajúcich štúdiách (Capcarova et al., 2019) pomer glukózy a inzulínu u ZDF potkanov mal signifikantné zvýšenie v experimentálnej skupine s dávkou drieňa 500 mg.kg^{-1} v porovnaní s lean skupinou avšak dávka 1000 mg.kg^{-1} ostala nesignifikantná voči lean skupine. V našej práci sme v parametri pomer glukózy a inzulínu (G:I) a QUICKI nezaznamenali signifikantné rozdiely medzi experimentálnymi skupinami a diabetickou kontrolou ZDF potkanov (Tabuľka 1). Z toho vyplýva, že vyššie dávky drieňa obyčajného významne neovplyvnili inzulínové parametre. Z našich predchádzajúcich štúdií a v porovnaní s touto štúdiou vyplýva, že efektívna dávka drieňa obyčajného, ktorá pozitívne a signifikantne ovplyvnila glykémiu diabetických potkanov bola 500 resp. 1000 mg.kg^{-1} .

Záver

V našom experimente sme pozorovali výrazné zníženie hladín glukózy u ZDF potkanov po prídavku kôstky drieňa obyčajného. Môžeme konštatovať, že konzumácia kôstky drieňa obyčajného (*Cornus mas* L.) má pozitívne účinky na hladiny glykémie a inzulínu u ZDF potkanov. Predpokladáme, že kôstka drieňa by mohla mať pozitívnejšie výsledky pri prevencii diabetických komplikácií, pokiaľ sa podáva pravidelne u mladých jedincov. Naše výsledky posilňujú záujem o používanie prírodných látok, ako je *Cornus mas*, v liečbe a prevencii 2. typu *Diabetes mellitus* a podporujú potrebu ďalšieho výskumu s rôznymi dávkami a trvaním experimentu.

Literatúra

1. Capcarova, M., Kalafova, A., Schwarzova, M., Schneidgenova, M., Prnova, M. S., Slovak, L., Kovacik, A., Lory, V., Zorad, S., Brindza, J. 2019. Cornelian cherry fruit improves glycaemia and manifestations of diabetes in obese Zucker diabetic fatty rats. In Research in Veterinary Science, vol. 126, p. 118–123.



2. Chen, H., Sullivan, G., Quon, M.J. 2005. Assessing the Predictive Accuracy of QUICKI as a Surrogate Index for Insulin Sensivity Using a Calibration Model. In American Diabetes Association, vol. 54, p. 1914–1925.
3. Dabelea, D., Ma, Y., Knowler, W.C., Marcovina, S., Saudek C.D., Arakaki, R., White, N.H., Kahn, S.E., Orchard, T.J., Goldberg, R., Palmer, J., Hamman, R.F. 2014. Diabetes autoantibodies do not predict progression to diabetes in adults: the Diabetes Prevention Program. *Diabetic Medicine*. 31: 1064–1068.
4. Halban, P.A., Polonsky, K.S., Bowden, D.W., Hawkins, M.A., Ling, C., Mather, K.J., Powers, A.C., Rhodes, C.J., Sussel, L., Weir, G.C. 2014. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. In *Diabetes Care*, vol. 37, p. 1751–1758.
5. Hosseinpour, F.J., Shomali, T., Rafieian, M.K. 2017. Hypocholesterolemic activity of cornelian cherry (*Cornus mas L.*) fruits. In *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, vol. 2017, p. 1–10.
6. Katz, A., Nambi, S.S., Mather, K., Baron, A.D., Follmann, D.A., Sullivan, G., Quon, M.J. 2000. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. In *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, p. 2402–2410.
7. Lee, J., Lee, H., Seo, K., Cho, H.W., Kim, M., Park, E., Lee, M. 2014. Effects of ursolic acid on glucose metabolism, the polyol pathway and dyslipidemia in non-obese type 2 diabetic mice. In *Indian Journal of Experimental Biology*, vol. 52, p. 683–691.
8. Moldovan, B., Filip, A., Clichici, S. 2016. Antioxidant activity of Cornelian cherry (*Cornus mas L.*) fruits extract and the in vivo evaluation of its anti-inflammatory effects. In *Journal of Functional Foods*, vol. 26, p. 77–87.
9. Sacan, O.O., Bulan, O.K., Bolkent, S., Yanardag, R., Ozgey, Y. 2004. Effects of chard (*Beta vulgaris L. var cicla*) on the liver of the diabetic rats: a morphological and biochemical study. In *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, vol. 68, p. 1640–1648.
10. Sen, S., Chakraborty, R. 2015. Treatment and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Its Complication: Advanced Approaches. In *Mini reviews in medicinal chemistry*, vol. 15, p. 1132–11333.
11. Shapiro, K., Gong, W. C. 2002. Natural products used for diabetes. In *Journal of the American Pharmacists Association*, vol. 42, p. 217–226.
12. Shishehbor, F., Azemi, M.E., Zamani, D., Saki, A. 2016. Inhibitory effects of hydroalcoholic extracts of barberry, sour cherry and Cornelian cherry on α -amylase and α -glucosidase activities. In *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, vol. 5, p. 423–428.
13. Vaccaro, O., Masulli, M., Cuomo, V., Rivellese, A.A., Ussitupa, M., Vessby, B., Hermansen, K., Tapsell, L., Riccardi, G. 2004. Comparative evaluation of simple indices of insulin resistance. In *Metabolism*, vol. 53, p. 1526–1552.

Kontakné adresy: Rudolf Dupák, Anna Kalafová, Monika Schneidgenová, Marcela Capcarová, Katedra fyziológie živočíchov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: xdupak@uniag.sk, anna.kalafova@uniag.sk, monika.schneidgenova@uniag.sk, marcela.capcarova@uniag.sk. Ján Brindza, Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: jan.brindza@uniag.sk



NUTRIČNÝ VÝZNAM VEDĽAJŠÍCH PRODUKTOV SPRACOVANIA HROZNA VO VÝŽIVE ZVIERAT: PREHĽADOVÁ ŠTÚDIA

NUTRITIONAL MEANING OF GRAPE BY-PRODUCTS IN ANIMAL NUTRITION: A review

**Gálik Branislav, Kolláthová Renata, Rolinec Michal, Hanušovský Ondrej,
Juráček Miroslav, Šimko Milan, Kolesárová Adriana, Barantal Samuel, Brek
Pavol**

Abstract: In the World, there is an important by-products production from winery. From the environmental point of view, possible using of these products in animal nutrition is looking. By-products are rich in the content of many organic nutrients and minerals, as well as in some biological compounds. However, from the nutritional point of view, contents of crude fibre and ADF are important. Many studies reported, that the supplementation of diets by grape pomace can increase the body weight and nutrients utilization in ruminants nutrition. In horses nutrition, adequate dosage of grape pomace in feed ration can increase nutrients digestibility. In the future, additional research with the effect of these by-products is needed.

Keywords: feeding, grape, impact, livestock, pomace

Úvod

Svetová produkcia vedľajších produktov priemyselného spracovania hrozna sa pohybuje ročne na úrovni 10 miliónov ton (Katalinic et al., 2010, Gálik et al., 2019b). O tieto organické suroviny je stále väčší záujem pre ich rôznorodé pozitívne účinky, najmä pre ich antimikrobiálny a antioxidačný benefit (Mildner-Szkudlarz et al., 2013, Park et al., 2008). Viaceré práce publikované vo svete poukazujú na možné zhodnotenie najmä výliskov, samotných šúp a semien vo výžive potravinových druhov zvierat ako kŕmnych doplnkových látok. Najmä z praktického hľadiska sú vo výžive zvierat využiteľné hlavne výlisky a semená, ktoré môžu zvýšiť využiteľnosť živín krmiva, kŕmnej dávky, alebo kŕmnej zmesi (Gálik et al., 2019a). Vo svete bolo publikovaných pomerne málo prác, ktoré sa zaoberali nutričným zhodnotením hroznových vedľajších surovín vo výžive hospodárskych zvierat, publikované boli najmä práce s ovcami a hydinou.

Vedľajšie produkty spracovania hrozna sú nutrične bohaté na obsah viacerých látok, živín, alebo špecifických zlúčenín s pozitívnym účinkom na živočíšny organizmus (Gálik et al., 2019b). Tieto suroviny sú bohaté napríklad na obsah dusíkatých látok a bielkovín, vlákniny, ako aj jej NDF frakcie. Z hľadiska obsahu energie sú medzi jednotlivými surovinami značné rozdiely. Stráviteľnosť organickej hmoty sa vo vedľajších hroznových produktoch pohybuje zväčša medzi 30 a 90 % a dusíkatých látok medzi 50 a 80 % (Molina-Alcaide et al. 2008).

Obsahové a biologicky hodnotné látky vo vedľajších produktoch spracovania hrozna

Obsah živín a biologicky aktívnych zlúčenín v hroznových výliskoch, šupách a semenách je veľmi rozmanitý a podmienené veľkým množstvom rôznorodých faktorov. Spravidla je v týchto surovinách vyšší obsah vlákniny a lignínu a pomerne nízky obsah dusíkatých látok a bielkovín. Pomerne veľké rozdiely je možné detekovať v obsahu minerálnych látok. Hroznové výlisky sú živinovo bohaté na obsah tuku, viacerých aminokyselín a mastných kyselín, vápnika, draslíka a medi (Gálik et al. 2018). Na obsah dusíkatých látok a bielkovín sú výlisky chudobné (Marchiani et al., 2016). Nardoia et al. (2017) však uvádzajú, že v červených



varietách je obsah bielkovín vyšší a to až do 18 %). Avšak Hanušovský et al. (2020), ktorí vo svojej práci porovnávali obsah živín v hroznových výliskoch pochádzajúcich z rôznych krajín, zistili výrazne odlišné hodnoty.

Tab. 1 Obsah niektorých živín v hroznových výliskoch rôznych kultivarov

Pôvod		Sušina	NL	T	VL	ADV	NDV
SK		g.kg ⁻¹					
	GV	353,6	100,4	50,4	157,8	269,8	276,6
	PB	371	105,4	82,9	181	347,8	384
	ZG	393,7	109,8	100,9	233,3	440,7	529,6
AT	GV	327	73,1	30,6	120,1	210,9	221,6
	PB	360,6	89,5	47,6	171,1	292,9	335,5
	ZG	384,1	131,1	64,6	246,2	364,3	381,3

SK: Slovensko, AT: Rakúsko, GV: veltlínske zelené, PB: rulandské biele, ZG: zweigelt, NL: dusíkaté látky, T: tuk, VL: vláknina, ADV: acidodetergentná vláknina, NDV: neutrálne detergentná vláknina. Hanušovský et al. (2020)

Okrem obsahových látok sú hrozno, ale aj vedľajšie produkty jeho priemyselného spracovania hodnotné aj pre obsah iných, špecifických biologicky hodnotných a aktívnych zlúčenín. Patria sem hlavne polyfenolické zlúčeniny, látky ako resveratrol, quercetín, antokyaníny a podobne. Tieto látky sa vyznačujú výraznými antimikrobiálnymi a antioxidačnými účinkami.

Možným vedľajším produktom priemyselného spracovania hrozna na výrobu vína sú aj semená obsiahnuté v bobuliach. Podľa variety a pôvodu môžu hroznové semená obsahovať až do 20 % tuku a do 35 % vlákniny. Obsah bielkovín sa pohybuje spravidla okolo 11 % a obsah minerálnych látok do 3 % (Beveridge et al., 2005, Luque-Rodriguez et al., 2005, Cao a Ito 2003, Schrieber et al., 2002). Okrem obsahu viacerých živín sú tieto semená typické aj svojimi antioxidačnými účinkami, resp. modulačnými účinkami expresie antioxidačných enzýmov (Puiggros et al., 2005). Maier et al. (2009) spolu s Shi et al. (2003) potvrdili, že hroznové semená sú bohaté aj na obsah kyseliny gálovej, katechínu, epikatechínu.

Potenciál využitia vedľajších produktov spracovania hrozna vo výžive hospodárskych zvierat

Vo svete bolo doposiaľ publikovaných viacero prác, ktoré sa zaoberali nutričným zhodnotením najmä hroznových výliskov vo výžive hospodárskych druhov zvierat. Väčšina prác sa zaoberala vplyvom týchto vedľajších produktov na využiteľnosť živín krmnej dávky u oviec. Napríklad Chikwanha et al. (2019) sledovali vplyv hroznových výliskov pochádzajúcich z červených kultivarov na stráviteľnosť živín a kvalitu mäsa u výkrmových oviec. Zistili však iba nepreukazné rozdiely, avšak vo svojej práci uvádzajú, že limitujúcim faktorom možného pozitívneho vplyvu je koncentrácia výliskov v krmnej dávke. S týmto tvrdením súhlasia aj Gálik et al. (2019a), podľa ktorých sú rastlinné aditíva často bohaté aj na rôzne antinuričné látky a práve ich kvantitatívny denný príjem je rozhodujúci z hľadiska možného pozitívneho, alebo negatívneho vplyvu. Ako vyplýva aj z práce Hanušovský et al. (2020), hroznové výlisky sú pomerne bohaté na obsah hrubej vlákniny, ale aj je frakcie ADV, ktorá je v negatívnej korelácii so stráviteľnosťou živín krmiva. Avšak podľa Zhao et al. (2018) môžu hroznové výlisky z červených kultivarov pozitívne zvýšiť živú hmotnosť, aj denný prírastok a zároveň zlepšiť efektívnosť zhodnotenia krmiva u výkrmových oviec. K podobným záverom vo svojich prácach dospeli viacerí autori. Ako možná krmná surovina sa hroznové výlisky javia aj pre výživu koní. Pomerne detailne spracovali možný vplyv sušených hroznových výliskov u športových koní Kolláthová et al. (2020). Vo svojej práci sledovali rôznu koncentráciu



sušených hroznových výliskov v kŕmnych diétach dospelých športových koní v dlhodobom experimente, na konci ktorého bol urobený test zdanlivej stráviteľnosti živín rôznymi metódami. Autori tejto práce zistili, že možný pozitívny efekt skrmovania hroznových výliskov možno očakávať iba do ich určitej koncentrácie v kŕmnej dávke. Vyšší príjem takejto suroviny spravidla pôsobí depresívne, znižuje sa stráviteľnosť živín kŕmnej dávky pod úroveň kontrolnej skupiny. Citovaní autori vo svojej práci zistili pri nižšej hladine výliskov v kŕmnej dávke tendenciu vyššej sérovej koncentrácie celkových bielkovín a sérovej hladiny draslíka, ako aj tendenciu vyššej zdanlivej stráviteľnosti sušiny, organickej hmoty a dusíkatých látok. Pri vyššej testovacej hladine hroznových výliskov bol spozorovaný negatívny prejav a to z hľadiska sledovaných parametrov krvného séra, ako aj stráviteľnosti sledovaných živín.

Záver

Poľnohospodárska produkcia musí do budúcnosti zohľadňovať aj svoj environmentálny dopad. Pri priemyselnom spracovaní takmer všetkých poľnohospodársky významných plodín vzniká aj veľké množstvo vedľajších produktov, ktoré môžu mať za určitých podmienok nutričný potenciál pre výživu hospodárskych zvierat. Vedľajšie produkty priemyselneho spracovania hrozna sú bohaté na viaceré živiny, minerálne látky, ako aj biologicky účinné zlúčeniny. Pozornosť je potrebné venovať najmä hroznovým výliskom, ktoré pri adekvátnom zaradení do kŕmnych diét prežúvavcov môžu stimulovať ich rast a zlepšovať transformáciu živín do živočíšnych produktov. Vo výžive koní môžu hroznové výlisky pozitívne zvýšiť stráviteľnosť živín celej kŕmnej dávky.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou pre podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-16-0170.

Literatúra

1. Beveridge, T.H.J. et al. 2005. Yield and composition of grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, 2005, p. 1799-1804.
2. Cao, X., Ito, Y. 2003. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. In *Journal of Chromatography*, vol. 1021, 2003, p. 117-124.
3. Gálik, B. et al. 2018. Grape pomace as a possible bioactive compounds source for animal nutrition: a preliminary result. In *Book of abstract of the 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Production*, 2018, Wageningen, p. 635.
4. Gálik, B. et al. 2019a. The effect of plant origin feed additives on non-ruminants performance: A review. In *Hygiene Alimentorum XL*, Košice: University of Veterinary Medicine and Pharmacy, 2019, p. 312-319.
5. Gálik, B. et al. 2019b. Grape by-products as bioactive substances in animal nutrition: A review. In *Agriculture and Food*, vol. 7, 2019, p. 167-172.
6. Hanušovský, O. et al. 2020. The nutritional potential of grape by-products from the area of Slovakia and Austria. In *Emirates Journal of Food and Agriculture*, vol. 32, 2020, p. 1-10.
7. Chikwanha, O.C. et al. 2019. Grape pomace (*Vitis vinifera* L. cv. Pinotage) supplementation in lamb diets: effect of growth performance, carcass and meat quality. In *Meat Science*, vol. 142, 2019, p. 6-12.
8. Katalinic, V. et al. 2010. Polyphenolic profile antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extract of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). In *Food Chemistry*, vol. 119, 2010, p. 715-723.
9. Kolláthová, R. et al. 2020. The effect of dried grape pomace supplementation on biochemical blood serum indicators and digestibility of nutrients in horses. In *Czech Journal of Animal Science*, vol. 65, 2020, p. 58-65.
10. Luque-Rodriguez, J.M., Luque de Castro, M.D., Perez-Juan, P. 2005. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. In *Talanta*, vol. 68, 2005, p. 126-130.
11. Maier, T. et al. 2009. Residues of grape (*Vitis vinifera*, L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. In *Food Chemistry*, vol. 112, 2009, p. 551-559.
12. Marchiani, R. et al. 2016. Physicochemical and nutritional qualities of grape pomace powder-fortified semi-hard cheeses. In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 53, 2016, p. 1585-1596.



13. Mildner-Szkudlarz, S. et al. 2013. White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuit. In *Journal of the Science and Food and Agriculture*, vol. 93, 2013, p. 362-370.
14. Molina-Alcaide, E. et al. 2008. By-products from viticulture and the wine industry: potential as sources of nutrients for ruminants. In *Journal of the Society of Food and Agriculture*, vol. 88, 2008, p. 597-604.
15. Nardoia, M. et al. 2017. Effect of polyphenols dietary grape by-products on chicken patties. In *European Food Research and Technology*, vol. 244, 2017, p. 367-377.
16. Park, S.H. et al. 2008. Grape seed extract (*Vitis vinifera*) partially reserves high fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice. In *Nutrition Research and Practise*, vol. 2, 2008, p. 227-233.
17. Puiggros, E. et al. 2005. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 6080-6086.
18. Shi, J. et al. 2003. Polyphenolics in grape seeds – biochemistry and functionality. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 64, 2003, p. 291-199.
19. Schrieber, A. et al. 2002. Influence of grape cultivar and processing method on the quality of cold-pressed grape seed oils. In *Mitteilungen Klosterneuburg*, vol. 52, 2002, p. 29-33.
20. Zhao, J.X. et al. 2018. Effect of dietary grape pomace on growth performance, meat quality and antioxidant activity in ram lambs. In *Animal Feed Science and Technology*, vol. 236, 2018, p. 76-85.

Kontaktná adresa: prof. Ing. Branislav Gálik, PhD., Katedra výživy zvierat, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. E-mail: Branislav.Galik@uniag.sk



PRODUKČIA SUCHEJ NADZEMNEJ FYTOMASY MEDZIRODOVÝCH HYBRIDOV TRÁV (*FESTULOLIUM A. ET GR.*) V NÍZINNÝCH PODMIENKACH DRY MATTER YIELD OF INTERGENERIC HYBRIDS OF GRASSES (*FESTULOLIUM A. ET GR.*) IN LOWLAND CONDITIONS

Peter Hric, Luboš Vozár, Peter Kovár

Abstract: The aim of this experiment was to compare production potential of *xFestulolium* cultivars. The experiment was realized at the Demonstrating and research base of Department of Grassland Ecosystems and Forage Crops in Nitra in 2018 - 2019. There were watch out 3 cultivars of *Festulolium pabulare* (fescue type) - Felina, Hykor and Slovak newly bred cultivar Lenor. In the 1st cut the highest dry matter (DM) yield was measured by Felina (3,25 t ha⁻¹). In the 2nd and 3rd cut had higher DM yield new intergeneric hybrid Lenor than Felina and Hykor. In sum of three cuts reached Lenor non significant highest dry matter yield (6.97 t ha⁻¹) in compare Felina (6.95 t ha⁻¹) and Hykor (6.67 t ha⁻¹).

Keywords: grasses, *Festulolium*, dry matter yield, Lenor

Úvod

V poslednom období sa sortiment kŕmnych tráv rozrastá o medzirodové hybridy tráv - *Festulolium A. et Gr.* (Boberfeld a Banzhaf, 2006). Majú širokospektrálne využitie. Uplatnenie nachádzajú vo výžive zvierat formou čerstvej hmoty, alebo ako konzervované krmivá (Nesheim and Bronstad, 2000). Okrem iného môžu byť využité aj v bioplynových staniciach (Prochnow et al., 2009). Všestranné využitie a vhodnosť na kŕmne účely vyplýva z ich chemického zloženia, pomeru a štruktúry živín, ale aj ich biologickej hodnoty a dietetických vlastností (Gálik et al., 2018).

xFestulolium A et Gr. je prirodzený alebo syntetický medzirodový hybrid medzi druhmi rodu *Festuca L.* a *Lolium L.* Šľachtiteľským cieľom medzirodovej hybridizácie tráv je kumulácia pozitívnych vlastností rodičov v novo vytváranom genotype. Pri krížení dochádza ku kombinácii vlastností rodu mätonoh (*Lolium L.*) - vysoká úrodnosť, kvalita (chutnosť, vysoký obsah vodorozpustných cukrov) a dobrá konkurenčná schopnosť. Od rodu kostrava (*Festuca L.*) pochádza väčšia trvácnosť a odolnosť voči chorobám. Taktiež poskytuje vlastnosti ako napr. vysoká trvácnosť, mrazuvzdornosť, zimovzdornosť, bohatý koreňový systém, dobrá reakcia na dodané živiny, široké prispôsobenie ekologickým podmienkam, odolnosť voči utužovaniu pôdy a erózii. V strednej Európe a v Škandinávii tieto hybridy začínajú čoraz viac uplatňovať v praxi a postupne vytláčajú rodičovské druhy (Casler, 2002; Humphreys et al., 2003; Gutmane and Adamovich, 2004; Skládanka et al., 2014). Tieto vlastnosti oboch druhov sú skĺbené v danom hybride, v ktorom prevládajú vlastnosti jedného z nich. Medzirodové hybridy sa podľa toho rozdeľujú do dvoch skupín. Prvú skupinu tvoria tzv. loloidné (mätonohového charakteru) napr. Perun, Bečva a Lofa. Ďalšou skupinou sú tzv. festucoidné (kostravového charakteru) napr. Felina, Fojtan a Hykor (Kováč, 2002; Humphreys et al., 2003).

Cieľom experimentu bolo porovnať produkčný potenciál skôr vyšľachtených odrôd a prvého slovenského medzirodového hybridu tráv.



Materiál a metódy

Experiment sa realizoval v Demonštračnej a výskumnej báze Katedry trávnych ekosystémov a kŕmnych plodín FAPZ SPU v Nitre (Slovenská republika) v rokoch 2018 a 2019. Experimentálna plocha sa nachádza v miernom klimatickom pásme teplej a suchej oblasti. Priemerná ročná teplota dosahuje 9,7 °C a priemerný ročný úhrn zrážok je 561 mm (Babošová a Noskovič, 2014). Pribeh poveternostných podmienok v sledovanom období znázorňuje tabuľka 1. Pôdnym typom je ílovito-hlinitá fluvizem.

Tab. 1 Priemerné mesačné teploty a zrážky za vegetačné obdobie v rokoch 2018 – 2019

Rok	Indikátor	Mesiace								Vegetačné obdobie	
		III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	Σ	Ø
2018	Ø teplota (°C)	3,4	16,0	19,4	21,0	22,3	23,4	17,0	12,9	-	16,93
	Σ zrážky (mm)	48,6	12,4	26,0	109,0	43,1	73,7	68,9	14,1	395,8	-
2019	Ø teplota (°C)	8,0	13,1	13,3	22,4	22,1	22,7	16,3	12,2	-	16,26
	Σ zrážky (mm)	18,1	10,8	120,1	62,8	41,3	106,7	66,9	16,2	442,9	-

Σ – suma, Ø – priemer.

Zdroj: Bulletin Meteorológia a Klimatológia (upravené)

V experimente sa sledovali 3 odrody:

1. *Festulolium pabulare* (festucoidný charakter) cv. Felina
2. *Festulolium pabulare* (festucoidný charakter) cv. Hykor
3. *Festulolium pabulare* (festucoidný charakter) cv. Lenor

Felina (registrovaná v roku 1988) je prvý český medzirodový hybrid tráv. Vznikla krížením mätonohu mnohokvetého a kostravy trst'ovníkovitej (kostravový charakter). Je vzrastovo vyššia, trváca, odolná voči vymŕzaniu a dobre znáša sucho (Kováč et al., 2002).

Hykor (registrovaný v roku 1991) vznikol krížením mätonohu mnohokvetého a kostravy trst'ovníkovitej (kostravový charakter). Patrí medzi vzrastovo vyššie a vytrvalé trávy. Je odolný voči vymŕzaniu, dobre znáša sucho (Kováč et al., 2002).

Lenor (registrovaný v roku 2015) je prvý slovenský medzirodový hybrid tráv. Vznikol krížením mätonohu mnohokvetého a kostravy trst'ovníkovitej (kostravový charakter). Má rýchly jarň rast s dobrou odolnosťou voči mrazu a suchu. Má jemné listy a je vhodný aj na pastvu (Bašta, 2017).

Nami zvolené kontrolné odrody (Felina a Hykor) boli taktiež zaradené v Štátnych odrodových skúškach ÚKSÚP (VCU a DUS skúšky) pri hodnotení Lenoru.

Pokus bol založený 4. apríla 2017. Veľkosť parcelky bola 1,5 x 2 m (3 m²) v troch opakovaníach. Výsevok bol 30 kg.ha⁻¹. Na jeseň 2017 sa aplikovalo hnojivo Slovcerit (14-9-10) v dávke 50 kg.ha⁻¹ N. Na jar v roku 2018 a 2019 sa hnojilo Travceritom (15-10-8) v množstve 60 kg.ha⁻¹ dusíka. Následne sa aplikoval dusík aj po 1. a 2. kosbe v dávke po 50 kg.ha⁻¹ N.

Termín kosby sa určoval podľa fenofázy začiatku klasenia, resp. metania. V oboch sledovaných rokoch na porastoch medzirodových hybridov tráv festucoidného charakteru (Felina, Hykor a Lenor) boli realizované 3 kosby. Termíny kosieb sú uvedené v tabuľke 2. V jesennom období sa realizovala jesenná kosba. Pokosená čerstvá nadzemná fytomasa sa



odvážila a sušila pri teplote 105 °C. Následne sa vážením a prepočtom určila produkcia suchej nadzemnej fytomasy jednotlivých odrôd.

Tab. 2 Termíny kosieb porastov v roku 2018 a 2019

Rok	1. kosba	2. kosba	3. kosba
2018	7. máj	18. jún	7. august
2019	13. máj	13. jún	19. september

Výsledky boli vyhodnocované pomocou štatistického softvéru STATISTICA 7.1 complete CZ jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) s následným testovaním preukaznosti rozdielov Fisherovým LSD testom pri 95 % hladine pravdepodobnosti ($\alpha = 0,05$).

Výsledky a diskusia

Zhodnotením produkcie suchej nadzemnej fytomasy medziorodových hybridov tráv festucoidného charakteru (tabuľka 3) v sume rokov 2018 a 2019 sme na prvej kosbe zistili nepreukazne nižšiu úrodu prvého slovenského medziorodového hybridu Lenor (2,96 t.ha⁻¹) v porovnaní so skôr vyšľachtenými odrodami Felina (3,25 t.ha⁻¹) a Hykor (3,07 t.ha⁻¹).

Tab. 3 Produkcia suchej nadzemnej fytomasy (t.ha⁻¹) odrôd *xFestulolium* (festucoidný charakter) v rokoch 2018 – 2019

Odroda	1. kosba	2. kosba	3. kosba	Suma
Felina	3,25 ^a	1,90 ^a	1,80 ^a	6,95 ^a
Hykor	3,07 ^a	1,94 ^a	1,66 ^a	6,67 ^a
Lenor	2,96 ^a	2,14 ^a	1,87 ^a	6,97 ^a

Rozdielne indexy (a) pri hodnotách v stĺpcoch znamenajú štatisticky preukazný rozdiel (Fisherov LSD test; $\alpha = 0,05$).

V poľných pokusoch v termíne prvej kosby Gáborčík a Žibritová (2006) zistili vyššiu produkciu sušiny odrody Hykor ako Felina. V Štátnych odrodových skúškach dosiahol hybrid Lenor približne o 7 % nižšiu úrodu suchej nadzemnej fytomasy ako kontrolné odrody Felina a Hykor (Bašta, 2015). Druhá kosba mala opačný trend. Nepreukazne najvyššiu produkciu suchej nadzemnej fytomasy dosiahol Lenor (2,14 t.ha⁻¹) v porovnaní s Felinou (1,90 t.ha⁻¹) a Hykorom (1,94 t.ha⁻¹). Podobné rozdiely produkcie sušiny medzi danými odrodami sa dosiahli aj v nádobovom pokuse (Hric et al., 2018). Posledná kosba bola charakteristická opätovne najvyššou úrodou slovenskej odrody Lenor ako hybridy Felina a Hykor. V sume všetkých troch kosieb v rokoch 2018 až 2019 bola zistená nepreukazne najvyššia produkcia suchej nadzemnej fytomasy na odrode Lenor (6,97 t.ha⁻¹) v porovnaní so skôr vyšľachtenými hybridmi Felina (6,95 t.ha⁻¹) a Hykor (6,67 t.ha⁻¹). Bašta (2015) v Štátnych odrodových skúškach zistil o 5 % nižšiu produkciu nadzemnej fytomasy pri odrode Lenor v porovnaní s kontrolnými odrodami Felina a Hykor. V poľných pokusoch s medziorodovými hybridmi Boberfeld a Banzhaf (2006), Gáborčík a Žibritová (2006) zistili vyššiu produkciu suchej nadzemnej fytomasy na odrode Hykor ako na Feline. Rataj et al. (1997), Houdek a Jambor (2010) dospeli k opačnému zisteniu.

Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že novovyšľachtený slovenský medziorodový hybrid tráv Lenor dosiahol vyššiu, resp. porovnateľnú produkciu suchej nadzemnej fytomasy v porovnaní so skôr vyšľachtenými odrodami *Festulolium* A. et Gr. Felina a Hykor.



Pod'akovanie: Tento príspevok bol podporený projektom GA SPU 23/2019 Potenciál využitia slovenských novovyšľachtených medzirodových hybridov tráv v meniacich sa podmienkach klímy.

Literatúra

1. Babošová, M., Noskovič, J. 2014. Kvalita atmosférických zrážok v oblasti mesta Nitra-Dolná Malanta, Nitra: SPU, 65 s.
2. Bašta, E. 2015. Výsledky hospodárskej hodnoty odrody Lenor. ÚKSUP: Bratislava.
3. Bašta, E. 2017. Nové odrody ďateliny lúčnej a tráv. In: Naše pole, roč. 21, č. 7, 2017, s. 26 – 27.
4. Boberfeld, W. O. and Banzhaf, K. 2006. Yield and Forage Quality of Different *xFestulolium* Cultivars in Winter. In Journal of Agronomy and Crop Science, vol. 192, no. 4, 2006, p. 239 – 247.
5. Bulletin Meteorológia a Klimatológia (dostupné na http://www.shmu.sk/sk/?page=161_3&id= [cit. 2020-04-12]).
6. Casler, M.D., Peterson, P. R., Hoffman, L. D., Ehlke, N. J., Brummer, E. C., Hansen, J. L., Mlynarek, M. J., Sulc, M. R., Henning, J. C., Undersander, D. J., Pits, P.G., Bilkey, P.C. and Rose-Fricke, C.A. 2002. Natural selection for survival improves freezing tolerance, forage yield and persistence of *Festulolium*. In Crop Science, 42: 1421–1426.
7. Gaborčík, N., Žibritová, I. 2006. Produkčná schopnosť kostravy trst'ovitej (*Festuca arundinacea* Schreb.) a jej medzirodových hybridov I. Analýza produkčného porcesu a primárna produkcia. In Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 9, č. 1, 2006, s. 14 – 20.
8. Gálik, B., Bíro, D., Šimko, M., Juráček, M., Rolinec, M., Hanušovský, O. Krmivá vo výžive prežúvavcov a neprežúvavcov. 2018. Nitra: SPU, 2018, 134 s.
9. Gutmane, I., Adamovics, A. 2005. Use of *Festulolium* and *Lolium x boucheanum* for forage and seed production. In Proceedings of the 13th Occasional Symposium of the European Grassland Federation vol. 10. Tartu, Estonia, 29-31 August 2005. Tartu: Greif printhouse, p. 503 – 506.
10. Houdek, I., Jambor, V. 2010. *Festulolium* Hybrids from Breeding Station Hladké Životice and their Quality. In: Proceedings of the 17th International Symposium of Forage Conservation, 17 – 19th March, 2010 Mendel University Brno. UVPS: Brno, p. 22 – 24.
11. Hric, P., Vozár, E., Kovár, P., Hric, J. 2018. Growth-Production Parameters of the First Slovak Cultivar of *Festulolium* A. et Gr. In Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 66(3): 825–828
12. Humphreys, M.W., Canter, P.J. and Thomas, H.M. 2003. Advances in introgression technologies for precision breeding within the *Lolium-Festuca* complex. In Annals of Applied Biology, 143: 1–10.
13. Kováč, L., Houdek, I., Gejguš, J. 2002. Krmovinárske využitie rodových hybridov tráv v špecifických podmienkach Východoslovenskej nížiny. Michalovce: Grafex. 2002, 119 s.
14. Nesheim, L., Bronstad, I. 2000. Yield and winter hardiness of *Festulolium* (*Festuca x Lolium*) in Norway. In Grassland Science in Europe, 5, p. 238–240.
15. Prochnow, A. – Heiermann, M. – Plochl, M. – Linke, B. – Idler, C. – Amon, T. 2009. Bioenergy from permanent grassland – a review: 1. Biogas. In Bioresour Technol, vol. 100, no. 21, 2009, p. 4931 – 4944.
16. Rataj, D., Ilavská, I., Žiláková, J., Strežo, P. 1997. Funkcia medzirodových hybridov tráv (*Festulolium*) v krmovinárstve horských a podhorských regiónov. In Poľnohospodárstvo (Agriculture), roč. 43, č. 4 – 5, 1997, s. 252 – 263.
17. Skládanka, J., Cagaš, B., Doležal, P., Havlíček, Z., Hejduk, S., Horký, P., Jančovič, J., Klusoňová, I., Knot, P., Kovár, P., Mejija, J. E. A., Mikyska, F., Nawrath, A., Pokorný, R., Sláma, P., Szwedziak, K., Tukiendorf, M., Šeda, J., Vozár, E., Vyskočil, I., Zeman, L. 2014. Pícninárství. Brno: MENDELU, 2014, 368 s.

Kontaktná adresa: Ing. Peter Hric, PhD., Ing.-Paed.IGIP, Katedra rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. E-mail: peter.hric@uniag.sk



CHARAKTERISTIKA PROFILU MAKROPRVKOV V SILÁŽACH HROZNOVÝCH VÝLISKOV S PRÍDAVKOM MOČOVINY GRAPE POMACE SILAGE MACROELEMENT PROFILE CHARACTERISTICS AFTER UREA ADDITION

Miroslav Juráček, Daniel Bíro, Milan Šimko, Branislav Gálik, Michal Rolinec,
Ondrej Hanušovský, Renata Kolláthová, Eva Mixtajová, Mária Kalúzová

Abstract: The aim of the experiment was to determine the effect of urea addition on the content of macroelements in grape pomace silages. The grape pomace (*Vitis vinifera* L.) *Pinot Gris* variety with dry matter content 450 g.kg^{-1} was ensilaged in two variants ($n=3$). In control variant, silage matter without additive and in variant with the addition of urea (0.4 % per 100 kg) in mini silo bags was ensilaged and under laboratory conditions ($t 22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) stored. The average samples of silages from each variant after 5 weeks of storage were taken for chemical analysis. Of the monitored macroelements, grape pomace silages, whatever the method of treatment, were characterized by the highest K content and the lowest Na content. The results did not confirm the effect of urea addition on the content of Ca in grape pomace silages. Silages with urea addition had significantly ($P<0.05$) higher P content. In grape pomace silages with urea, a significantly ($P<0.05$) higher Mg content compared to untreated silages was observed. The addition of urea did not affect the Na content of the analyzed silages. Silages with urea addition had significantly ($P<0.05$) lower K content. The results confirmed, that the addition of urea as silage additive influences the macroelement profile of grape pomace silages.

Keywords: silage additive, urea, grape pomace, silage, macroelement

Úvod

Hroznové výlisky predstavujú zvyšok pri spracovaní hrozna, pričom z 1 kg je 200-250 g hroznových výliskov (Charalampia a Koutelidakis, 2016). Ako doplnkové krmivo majú svoje uplatnenie vo výžive prežúvavcov a neprežúvavcov (Chedea et al., 2019; Haščík et al., 2020; Ianni a Martino, 2020; Kara et al. 2020; Turcu et al., 2020). Hroznové výlisky sú cenené z hľadiska obsahu bioaktívnych látok, lepšieho využitia dusíkatých látok v tenkom čreve, redukujú výskyt endoparazitov a stimulujú rozvoj zástupcov rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* v tráviacej sústave (Cieslak et al., 2012; Brindza et al., 2015; Ivanišová et al., 2019; Ianni a Martino, 2020). Vyznačujú sa vysokým obsahom celkových cukrov, ale zároveň aj vysokým obsahom acidodergentného lignínu, čo ovplyvňuje ich nízku energetickú hodnotu (Hanušovský et al., 2019; Vašeková, 2020). Hroznové výlisky je možné skrmovať v čerstvom stave, čo je však veľmi problematické z hľadiska rýchleho znehodnotenia najmä činnosťou kvasiniek, alebo sa skrmujú v konzervovanom stave po sušení, príp. silážovaní (Dinić et al., 2015; Kolláthová et al., 2020). Obsah živín v hroznových výliskoch ovplyvňuje množstvo faktorov, jednak odroda, lokalita, pôdnoklimatické podmienky, agrotechnika pestovania, vinohradnícke postupy, stupeň zrelosti, technologický postup spracovania s dôrazom na výsledný produkt, podiel semien, šupiek a stopiek a i. (Charalampia a Koutelidakis, 2016; Maner et al., 2017; Pérez Cid et al., 2019; Hanušovský et al., 2020). Cieľom práce bolo determinovať vplyv prídavku močoviny ako silážneho aditíva na profil makroprvkov siláží hroznových výliskov.



Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

Prídavok silážnych aditív ovplyvňuje minerálny profil siláží (Juráček et al., 2018). Močovina ako silážna prísada zvyšuje kvalitu a nutričnú hodnotu siláží najmä zvýšením obsahu nebielkovinovej frakcie dusíkatých látok (Kang et al., 2018; Bíro et al., 2020a). Je možné ju skrmovať len u dospelých kategórií prežúvavcov a ako silážna prísada sa najčastejšie pridáva v čase silážovania sacharidových krmovín (Gálik et al., 2018). Priaznivo ovplyvňuje fermentačný proces najmä zvýšením obsahu konzervačnej kyseliny mliečnej a znížením obsahu kyseliny octovej (Doležal et al., 2012). Prídavok močoviny redukuje straty sušiny počas silážneho fermentačného procesu a zlepšuje aeróbnú stabilitu siláží (Calixto et al., 2017; Dos Santos et al., 2018).

Materiál a metódy

V experimentálnych podmienkach sa silážovali hroznové výlisky (*Vitis vinifera* L.) odrody rulandské šedé, ktoré pochádzali z Vysokoškolského poľnohospodárskeho podniku SPU s.r.o. Kolíňany farma Oponice. Lisované hroznové výlisky obsahovali 45 % sušiny a boli zasilážované v dvoch variantoch (n=3). V kontrolnom variante, bez prídavku aditíva a vo variante s prídavkom aditíva (silážnej prísady) močoviny v dávke 0,4 % na 100 kg. Hmota sa uskladnila v plastových sáčkoch (mini silách), ktoré sa vákuovo uzavreli a uskladnili v klimatizovanom Laboratóriu konzervovaných krmív pri teplote 22 ± 1 °C. Po 5 týždňoch od naskladnenia sa mini silá otvorili a odobrali sa priemerné vzorky na chemické analýzy. Vzorky siláží hroznových výliskov sa upravili predsušením v sušiarňi pri teplote 55 ± 5 °C a následne sa mechanicky upravili na laboratórnom šrotovníku. Obsah sušiny sa stanovil po sušení vzoriek pri teplote 103 ± 2 °C vázkovo, obsah popola sa stanovil vázkovo po spálení vzoriek v Muflovej peci pri teplote 550 °C. Z chloridového výluhu popola sa následne stanovil obsah makroprvkov. Obsah Ca, Na, K a Mg sa stanovil pomocou atómového absorpčného spektrofotometra ContrAA 700. Spektrofotometrickou metódou pomocou spektrofotometra 6400 JENWAY pri vlnovej dĺžke 666 nm sa stanovil obsah P. Dáta boli štatisticky spracované pomocou programu SPSS Statistics 20.0 (IBM SPSS Statistics, New York, USA) s použitím štatistickej metódy analýzy rozptylu (ANOVA) s viacnásobným porovnaním primerov hodnôt Tukeyho testom, a taktiež aj metódu T-testu.

Výsledky a diskusia

Obsah popola v silážach hroznových výliskov (Tabuľka 1) bol porovnateľný s obsahom v kukuričných silážach (Vršková a Bencová, 2011), ale nižší ako v silážach lucernových (Bíro et al., 2020a) a v silážach d'ateliny lúčnej (Gallo et al., 2008). Winkler et al. (2015) uvádzajú vyšší obsah popola v silážach hroznových výliskov bez prídavku aditív ($93,00 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny) ako aj v silážach s prídavkom chemického aditíva ($79,00 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny). Z analyzovaných makroprvkov sa v silážach hroznových výliskov oboch variantov zaznamenal najvyšší obsah K a najnižší obsah Na, čo je v zhode s výsledkami Bíro et al. (2020b). Prídavok močoviny neovplyvnil obsah Ca a Na v silážach hroznových výliskov. Obsah Ca v silážach hroznových výliskov bol nižší v porovnaní s lucernovými silážami (Skalická et al., 2013), avšak vyšší ako sú hodnoty uvádzané v kukuričných silážach (Juráček et al., 2018). Martins Flores et al. (2020) zaznamenali v silážach hroznových výliskov (*Vitis vinifera* cv. Bordeaux) nižší obsah Ca ($4,80 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny) v porovnaní s analyzovanými vzorkami. Siláže s prídavkom silážnej prísady – močoviny mali štatisticky preukazne ($P < 0,05$) vyšší obsah P ($4,36$ vs. $4,26 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny). Martins Flores et al. (2020) zistili výrazne nižší obsah P ($2,60 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny) v silážach hroznových výliskov (*Vitis vinifera* cv. Bordeaux) v porovnaní s uvedenými výsledkami. Rozdielne v porovnaní s analyzovanými vzorkami Yan a Kim (2011) zaznamenali vyšší obsah vápnika ($6,0 \pm 1,90 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny) a fosforu ($5,3 \pm 2,10 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny) vo fermentovaných



hroznových výliskoch. Pomer Ca:P v silážach kontrolného variantu dosiahol hodnotu 1,37:1 a v pokusných silážach 1,33:1. Siláže s prídavkom močoviny sa vyznačovali štatisticky preukazne ($P < 0,05$) vyšším obsahom Mg v porovnaní so silážami bez prídavku aditív (1,41 vs. 1,36 g.kg⁻¹ sušiny). Rovnako Bíro et al. (2020b) potvrdili vyšší obsah Mg v silážach s prídavkom močoviny, avšak bez štatistickej významnosti rozdielov. Po prídavku močoviny sa v silážach hroznových výliskov zaznamenal štatisticky preukazne ($P < 0,05$) nižší obsah K, čo potvrdili aj výsledky Bíro et al. (2020b) v silážach hroznových výliskov s prídavkom močoviny, s nižšou aplikačnou dávkou (0,2 %). Pomer K:Na bol 41,44:1 v kontrolných silážach a 25,30:1 v silážach s močovinou. Moate et al. (2014) uvádzajú priemerný obsah Mg 1,20 g, Na 0,20 g a K 19,40 g v kilograme sušiny siláží hroznových výliskov. Tieto zaznamenané hodnoty sa odlišujú od priemerných hodnôt v analyzovaných silážach.

Tab. 1 Obsah popola a makroprvkov v silážach hroznových výliskov

v g.kg ⁻¹ sušiny	Kontrola bez aditíva	S prídavkom močoviny	Priemer z oboch variantov
	$\bar{x} \pm S.D.$	$\bar{x} \pm S.D.$	
Popol	50,42 ± 0,757	49,01 ± 1,416	49,71
Ca	5,82 ± 0,349	5,82 ± 0,357	5,82
P	4,26 ± 0,082*	4,36 ± 0,090*	4,31
Mg	1,36 ± 0,041*	1,41 ± 0,028*	1,39
Na	0,41 ± 0,114	0,56 ± 0,182	0,48
K	16,99 ± 2,013*	14,17 ± 0,404*	15,58

*hodnoty s rovnakým indexom v riadku sú štatisticky preukazné na hladine $P < 0,05$

Záver

Siláže hroznových výliskov sa vyznačujú nízkym obsahom minerálnych látok. Výsledky potvrdili, že prídavok močoviny ako silážnej prísady ovplyvňuje obsah makroelementov v silážach hroznových výliskov, štatisticky preukazne nižším obsahom K a štatisticky preukazne vyšším obsahom P a Mg.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-16-0170 a projektom VEGA č. 1/0474/19.

Literatúra

1. BÍRO, D. - JURÁČEK, M. - ŠIMKO, M. - GÁLIK, B. - ROLINEC, M. 2020a. Konzervovanie a úprava krmív. 1. vyd. Nitra: SPU, 223 s. ISBN 978-80-552-2149-6.
2. BÍRO, D. - JURÁČEK, M. - VAŠEKOVÁ, P. - ŠIMKO, M. - GÁLIK, B. - ROLINEC, M. - HANUŠOVSKÝ, O. - KOLLÁTHOVÁ R. - MIXTAJOVÁ E. - JANJIĆ A. 2020b. The effect of urea addition on mineral profile of grape pomace silage. In Nutrinet 2020, Nitra: SAU, pp. 8-18. ISBN 978-80-552-2200-4.
3. BRINDZA, J. - IVANIŠOVÁ, E. - GRYGORIEVA, O. - ABRAHAMOVÁ, V. - SCHUBERTOVIČ, Z. 2015. Antioxidants from plants in human nutrition and improving of health. In Acupuncture and Natur. Medicine, vol. 3, no. 2, pp. 40-51. ISSN 1339-4703.
4. CALIXTO, M.JR. - JOBIM, C.C. - OSMARI, M.P. - TRES, T.T. 2017. Nutritional additives in high moisture corn silage. Agrária. In Revista Brasileira de Ciências Agrárias, vol. 12, no. 1, pp. 105-111. ISSN 1981-1160.
5. CIESLAK, A. - ZMORA, P. - PERS-KAMCZYC, E. - SZUMACHER-STRABEL, M. 2012. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. In Animal Feed Science and Technology, vol. 176, no. 1-4, pp. 102-106. ISSN 0377-8401.
6. DINIĆ, B. - ĐORĐEVIĆ, N. - MARKOVIĆ, J. - SOKOLOVIĆ, D. - BLAGOJEVIĆ, M. - TERZIĆ, D. - BABIĆ, S. 2015. Impact of non-protein nitrogen substances on grape pomace silage quality. In Biotechnology in Animal Husbandry vol. 31, no. 3, p 433-440. ISSN 1450-9156.
7. DOLEŽAL, P. - DVOŘÁČEK, J. - LOUČKA, R. - MIKYSKA, F. - MUDŘÍK, Z. - VON BOBERFELD, W.O. - PROKEŠ, K. - PŘIKRYL, J. - SKLÁDANKA, J. - STRAKOVÁ, E. - SUCHÝ, P. - SZWEDZIAK, K. - TUKIENDORF, M. - ZEMAN, L. - ČERVINKA, J. 2012. Konzervace krmiv a jejich využití ve výživě zvířat. 1. vyd. Olomouc: Baštan, 307 s. ISBN 978-80-87091-33-3.



8. DOS SANTOS, A.P.M. - SANTOS, E.M. - DE OLIVEIRA, J.S. - RIBEIRO, O.L. - PERAZZO, A.F. - PINHO, R.M.A. - MECÊDO, A.J.D.S. - PEREIRA, G.A. 2018. Effects of urea addition on the fermentation of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. In African Journal of Range & Forage Science 2018, vol. 35, no. 1, pp. 55-62. ISSN 1022-0119.
9. GÁLIK, B. - BÍRO, D. - ŠIMKO, M. - JURÁČEK, M. - ROLINEC, M. - HANUŠOVSKÝ, O. 2018. Krmivá vo výžive prežúvavcov a neprežúvavcov. 1. vyd. Nitra: SPU, 134 s. ISBN 978-80-552-1949-3.
10. GALLO, M. - RAJČÁKOVÁ, E. - MLYNÁR, R. 2008. Application effect of various chemical additives on fermentation quality of red clover silage. In Forage conservation, Nitra: SARC, pp. 108-109. ISBN 978-80-88872-78-8.
11. HANUŠOVSKÝ, O. - BÍRO, D. - GÁLIK, B. - ŠIMKO, M. - JURÁČEK, M. - ROLINEC, M. 2019. The effect of locality on the grape pomace nutritional value from the different locations of Slovakia. In Agriculture & Food, vol. 7, pp. 282-288. ISSN 1314-8591.
12. HANUŠOVSKÝ, O. - GÁLIK, B. - BÍRO, D. - ŠIMKO, M. - JURÁČEK, M. - ROLINEC, M. - ZÁBRANSKÝ, L. - PHILIPP, CH. - PUNTIGAM, R. - ANDREA SLAMA, J. - GIERUS, M. 2020. The nutritional potential of grape by-products from the area of Slovakia and Austria. In Emirates Journal of Food and Agriculture, vol. 32, no. 1, pp. 1-10. ISSN 2079-0538.
13. HAŠČÍK, P. - ČECH, M. - ČUBOŇ, J. - BOBKO, M. - ARPÁŠOVÁ, H. - PAVELKOVÁ, A. - KAČÁNIOVÁ, M. - TKÁČOVÁ, J. - ČERYOVÁ, N. 2020. Effect of grape pomace supplementation on meat performance of broiler chicken ROSS 308. In Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences, vol. 10, no. 1, pp. 140-144. ISSN 1338-5178.
14. CHARALAMPIA, D. - KOUTELIDAKIS, A. 2016. Grape pomace: a challenging renewable resource of bioactive phenolic compounds with diversified health benefits. In Food Processing & Technology, vol. 3, no. 1, pp. 262-265. ISSN 2157-7110.
15. CHEDEA, V.S. - PALADE, L.M. - PELMUS, R.S. - DRAGOMIR, C. - TARANU, I. 2019. Red grape pomace rich in polyphenols diet increases the antioxidant status in key organs - kidneys, liver, and spleen of piglets. In Animals, vol. 9, no. 4, pp. 1-17. ISSN 2076-2615.
16. IANNI, A. - MARTINO, G. 2020. Dietary grape pomace supplementation in dairy cows: Effect on nutritional quality of milk and its derived dairy products. In Foods, vol. 9, no. 2, pp. 168. EISSN 2304-8158. Available at: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.3390%2Ffoods9020168>
17. IVANIŠOVÁ, E. - KÁNTOR, A. - KAČÁNIOVÁ, M. 2019. Antioxidant activity and total polyphenol content of different varieties of grape from the Small Carpathians wine region of Slovakia. In Scientific Papers: Animal Science & Biotechnologies, vol. 52, no. 2, pp. 78-82. ISSN 1841-9364.
18. JURÁČEK, M. - BÍRO, D. - GÁLIK, B. - ROLINEC, M. 2018. Konzervačné aditíva a ich vplyv na nutričnú a fermentačnú kvalitu siláží. 1. vyd. Nitra: SPU, 67 s. ISBN 978-80-552-1886-1.
19. KANG, S. - WANAPAT, M. - NUNOI, A. 2018. Effect of urea and molasses supplementation on quality of cassava top silage. In Journal of Animal and Feed Sciences, vol. 27, no. 1, pp. 74-80. ISSN 1230-1388.
20. KARA, K. - KOCAOĞLU GÜÇLÜ, B. - BAYTOK, B. - ŞENTÜRK, M. 2020. Effects of grape pomace supplementation to laying hen diet on performance, egg quality, egg lipid peroxidation and some biochemical parameters. In Journal of Applied Animal Research, vol. 44, no. 1, pp. 303-310. ISSN 0974-1844.
21. KOLLÁTHOVÁ, R. - GÁLIK, B. - HALO, M. - KOVÁČIK, A. - HANUŠOVSKÝ, O. - BÍRO, D. - ROLINEC, M. - JURÁČEK, M. - ŠIMKO, M. 2020. The effects of dried grape pomace supplementation on biochemical blood serum indicators and digestibility of nutrients in horses. Czech Journal of Animal Science, vol. 65, no. 2, pp. 58-65. ISSN 1212-1819.
22. MANER, S. - KUMAR SHARMA, A. - BANERJEE, K. 2017. Wheat flour replacement by wine grape pomace powder positively affects physical, functional and sensory properties of cookies. In Proceedings of the National Academy of Sciences, India - Section B: Biological Sciences, vol. 87, no. 7, pp. 109-113. ISSN 0369-8211.
23. MARTINS FLORES, R. D. - FRANCO DA FONSECA, A. P. - SCHMITT, J. - TONETTO, J. C. - JUNIOR, R. G. A. - HAMMERCHMITT, K. R. - FACCO, B. D. - BRUNETTO, G. - NÖRBERG, L. J. 2020. Lambs fed with increasing levels of grape pomace silage: Effects on productive performance, carcass characteristics, and blood parameters. In Livestock Science [online], vol. 240, [cit. 2020-09-30]. ISSN 1871-1413. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104169>
24. MOATE, P.J. - WILLIAMS, S.R.O. - TOROK, V.A. - HANNAH, M.C. - RIBAU, B.E. - TAVENDALE, M.H. - ECKARD, R.J. - JACOBS, J.L. - AULDIST, M.J. - WALES, W.J. 2014. Grape marc reduces methane emissions when fed to dairy cows. In Journal of Dairy Science [online], vol. 97, no. 8, pp. 5073-5087 [cit. 2020-09-30]. ISSN 0022-0302. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7588>
25. PÉREZ CID, B. - MARTÍNEZ, M. M. - VÁZQUEZ, V. A. F. - SEGADÉ, R. S. 2019. Content and bioavailability of trace elements and nutrients in grape pomace. In Science of Food and Agriculture [online],



- vol. 99, no.15, pp. 6713-6721 [cit. 2020-09-30]. ISSN 1097-0010. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9953>
26. SKALICKÁ, M. - MASKAĽOVÁ, I. - BUJŇÁK, L. 2013. Profil vybraných minerálnych prvkov v krmivách pre dojnice. In X. Kábrtovy dietetické dny, Brno: VFU, s. 45-48. ISBN 978-80-263-0365-7.
 27. TURCU, R.P. - PANAIT, T.D. - UNTEA, A.E. - SOICA, C. - IUGA, M. - MIRONEASA, S. 2020. Effects of supplementing grape pomace to broilers fed polyunsaturated fatty acids enriched diets on meat quality. In *Animals*, vol. 10, no. 6, pp. 1-17. ISSN 2076-2615.
 28. VAŠEKOVÁ, P. 2020. Vedľajšie produkty spracovania hrozna ako zdroj bioaktívnych látok vo výžive oviec: doktorandská dizertačná práca. Nitra: SPU. 99 s.
 29. VRŠKOVÁ, M. - BENCOVÁ, E. 2011. Kvalita kukuričných siláží v SR. In IX. Kábrtovy dietetické dny. Brno: VFU, s. 148-153. ISBN 978-80-7399-125-8.
 30. WINKLER, A. - WEBER, F. - RINGSEIS, R. - EDER, K. - DUSEL, G. 2015. Determination of polyphenol and crude nutrient content and nutrient digestibility of dried and ensiled white and red grape pomace cultivars. In *Archives of animal nutrition* [online], vol. 69, no. 3, pp. 187-200 [cit. 2020-09-30]. EISSN 1477-2817. Available at: <https://doi.org/10.1080/1745039X.2015.1039751>
 31. YAN, L. - KIM, I. H. 2011. Effect of dietary grape pomace fermented by *Saccharomyces boulardii* on the growth performance, nutrient digestibility and meat quality in finishing pigs. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* [online], vol. 24, no. 12, pp. 1763 - 1770 [cit. 2020-09-30]. ISSN 1011-2367. Available at: <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11189>.

Kontaktné adresy: Miroslav Juráček, Daniel Bíro, Milan Šimko, Branislav Gálik, Michal Rolinec, Ondrej Hanušovský, Renata Kolláthová, Eva Mixtajová, Mária Kalúzová, Katedra výživy zvierat, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. E-mail: miroslav.juracek@uniag.sk, daniel.biro@uniag.sk, milan.simko@uniag.sk, branislav.galik@uniag.sk, michal.rolinec@uniag.sk, ondrej.hanusovsky@uniag.sk, xkollathova@uniag.sk, xmixtajova@uniag.sk, xkaluzova@uniag.sk



MONITORING ZÁSObY ORGANICKÉHO UHLÍKA NA SIATYCH A TRVALÝCH TRÁVNÝCH PORASTOCH MONITORING OF ORGANIC CARBON STOCK IN TEMPORARY AND PERMANENT GRASSLANDS

Miriam Kizeková, Zuzana Kováčiková, Jozef Čunderlík, Zuzana Dugátová,
Vladimíra Vargová, Ľubica Jančová, Mariana Jančová, Štefan Pollák

Abstract: This study presents results of short term monitoring of total carbon storage in temporary and permanent grasslands in central Slovakia. Results showed that pasture stored the most carbon, the lowest content of total carbon stock had temporary grassland on arable land. For all grasslands, soil stored more than 90 % of organic carbon.

Keywords: carbon stock, grasslands, arable land, cambisols, planosols

Úvod

Akumulácia uhlíka je významná ekosystémová služba trávnych porastov. V porovnaní s ornou pôdou, vyššia koncentrácia pôdneho organického uhlíka je charakteristická najmä pre trvalé trávne porasty. Zvyšovanie zásoby uhlíka v pôde alebo naopak jeho úbytok podmieňuje systém hospodárenia. Udržateľný manažment spojený s používaním stredných dávok minerálnych hnojív, prísedom vyšľachtených tráv a d'atelinovín zvyšuje sekvestráciu uhlíka (Conant et al., 2001). Naopak úbytok pôdneho organického uhlíka na trvalých trávnych porastoch súvisí s vysokým zaťažením zvierat, vysokými dávkami minerálnych živín, opúšťaním hospodárenia a rozširovaním invázných druhov. Krmoviny na ornej pôde sú dôležitým zdrojom organickej hmoty (Šoltýsová a Danilovič, 2008) a ich pestovanie v rámci osevného postupu prispieva k zvyšovaniu zásoby uhlíka v ornej pôde (Acharya et al., 2012). Podobne ako pri trvalých trávnych porastoch, obsah organického uhlíka ovplyvňuje spôsob hospodárenia na pôde a kultivačné zásahy. Hodnotenie zmien obsahu uhlíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska je predmetom pravidelného monitoringu pôd SR ako aj ďalších štúdií (Hábová et al., 2019; Kobza et al., 2019). Avšak porovnaniu celkovej zásoby uhlíka v trávnych ekosystémoch sa venuje menšia pozornosť. Cieľom príspevku je prezentovať výsledky jednoročného monitoringu celkovej zásoby uhlíka na siatom a trvalom trávnom poraste.

Materiál a metódy

Pre porovnanie zásoby uhlíka v trávnych porastoch sme vybrali 3 lokality s odlišným spôsobom využívania: dočasný trávny porast na ornej pôde, trojkosný lúčny trávny porast a pasienkový porast. Dočasný trávny porast na ornej pôde bol založený v poloprevádzkových podmienkach v Detve. Pôdny typ je pseudoglej. Stanovište Detva sa nachádza v Zvolenskej kotline v nadmorskej výške 370 m n. m. Priemerná ročná teplota je 10,1 °C, ročný úhrn zrážok je 650 mm. Lokalita patrí do teplej klimatickej oblasti. Do pokusu bolo zaradených 12 variantov d'atelinotravných zmesí. Zloženie zmesí a prevedenie pokusu uvádza Kizeková (2020). Lúčny porast reprezentuje trojkosný trvalý trávny porast na stanovišti Suchý vrch v Banskej Bystrici. Pôdny typ je kambizem. Lokalita Suchý vrch leží v Kremnických vrchoch v nadmorskej výške 420 m n. m. Patrí do teplej klimatickej oblasti s priemernou ročnou teplotou je 8,1 °C, ročným úhrnom zrážok 795 mm. Pasienkový trávny porast sa nachádza v Ráztoke v okrese Brezno. Stanovište Ráztoka leží v Nízkych Tatrách v nadmorskej výške 480 m n. m., v mierne teplej klimatickej oblasti. Priemerná ročná teplota je 6,6 °C, ročný úhrn zrážok je 750 mm. Pôdny typ je kambizem. Na jeseň 2019 sa na všetkých stanovištiach odobrali pôdne vzorky z hĺbky



0-150 mm na stanovenie zrnitostného zloženia (Tabuľka 1) a základných agrochemických vlastností pôdy (výmenná pôdna reakcia (pH_{KCl}), humus, celkový dusík (N_t), rastlinám prijateľné živiny – P, K, Mg) (Tabuľka 2).

Objemová hmotnosť pôdy sa stanovila na základe vzťahu:

$$\text{OH} = \text{OHm} \times (1 - C) + C \times 0,224$$

kde OHm - hodnota OH podľa trojuholníka minerálnej objemovej hmotnosti pôdy (Makovníková a Širáň, 2020), C - C_{ox} (%) / 100; 0,224 = objemová hmotnosť organickej hmoty v pôde ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Tab. 1 Objemová hmotnosť a zrnitostné zloženie pôdy

Stanovište	OH ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Íl (%)	Prach (%)	Piesok (%)
Detva	1,15	17,64	68,11	14,26
Ráztoka	1,22	14,58	55,60	29,82
Suchý vrch	1,00	18,33	44,99	36,69

Chemické rozborý pôdných vzoriek sa uskutočnili podľa Vyhlášky Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR z 21. marca 2016 Z. z. č 151/2016.

Vzorky nadzemnej fytomasy sa odobrali pri každom využití. V prípade dočasného trávneho porastov to bolo dvakrát, v júni a septembri. Pri lúčnom poraste to bolo trikrát (prvá kosba sa uskutočnila na začiatku metania trávnych druhov, druhá kosba prebehla 6 týždňov po prvej kosbe a tretia kosba sa uskutočnila šesť až osem týždňov po druhej kosbe. V prípade pasienkového porastu sa vzorky nadzemnej fytomasy odobrali šesťkrát počas vegetačného obdobia. Obsah živín vo fytomase sa vykonal v laboratóriu NPPC - VÚTPHP Banská Bystrica v zmysle platných legislatívnych predpisov Výnosu MP SR č. 2145/2004-100.

Zásoba pôdneho organického uhlíka (SOCstock) sa vypočítala podľa vzťahu:

$$\text{SOCstock} (\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}) = (\text{OH} \times \text{C}_{\text{ox}} \times 10) / 10.$$

Zásoba organického uhlíka nadzemnej fytomasy (ABGC) sa vypočítala podľa vzťahu:

$$\text{ABGC} (\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}) = \text{Úroda sušiny} (\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}) \times 0,47, \text{ kde } 0,47 \text{ je prepočítavací koeficient odporučený IPCC (2006).}$$

Na výpočet celkovej zásoby uhlíka (CS) sa použil nasledovný vzorec:

$$\text{CS} (\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}) = \text{SOCstock} + \text{ABGC}.$$

Výsledky a diskusia

Pre stanovište Suchý vrch bola charakteristická silne kyslá pôdna reakcia (Tabuľka 2). Nízke pH pravdepodobne nepriaznivo ovplyvnilo nízku koncentráciu prijateľného fosforu na tejto lokalite. Priaznivými pôdnymi pomermi sa vyznačoval pasienkový porast v Ráztoke. Pôda sa vyznačovala veľmi vysokou koncentráciou horčíka, vysokým obsahom draslíka a pôdneho organického uhlíka. Vyššia koncentrácia uhlíka v pôde je v súlade s autormi (Reeder a Schuman, 2002; Acharya et al., 2012), ktorí uvádzajú, že produkcia väčšieho množstva rastlinného opadu spolu s exkrementami zvierat urýchľujú redistribúciu uhlíka v rámci trávneho porastu a prispievajú k akumulácii uhlíka v pôde.

Koncentrácia C_{ox} na pseudogleji v Detve s dočasným trávnyim porastom na ornej pôde bola $12,90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a podľa údajov monitoringu pôd SR (Barančíková a Kobza, 2019) sa približuje priemerným hodnotám pôdneho organického uhlíka orných pôd na pseudogleji. Avšak v porovnaní s lúčnym trávnyim porastom na kambizemi na Suchom vrchu a pasienkom v Ráztoke bola o 51 % a 56 % nižšia.



Tab. 2 Agrochemické vlastností pôdy na trávnych porastoch

Stanovište	pH _{KCl}	C _{ox}	Humus	N	P	K	Mg	C:N
		g.kg ⁻¹			mg.kg ⁻¹			
Detva	6,08	12,90	22,24	1,39	28,38	189,76	142,63	9,28
Ráztoka	6,10	29,98	51,68	2,50	20,70	241,87	1038,03	12,13
Suchý vrch	4,68	26,38	45,47	2,21	1,62	127,82	751,00	11,94

Produkcia sušiny ani množstvo uhlíka v nej sa neodlišovali medzi stanovišťami. Avšak stanovišťa sa odlišovali v ukazovateli SOCstock (jednofaktorová ANOVA F=148,08, P < 0,001) (Tabuľka 3). Celková zásoba uhlíka sa pohybovala od 16,57 t.ha⁻¹ na siatom trávnom poraste v Detve do 38,73 t.ha⁻¹ na pasienkovom trávnom poraste v Ráztok. Percentuálny podiel pôdneho organického uhlíka na celkovej zásobe uhlíka predstavoval 90 % až 98 %. Podobne Wang et al. (2018) uvádza, že viac ako 90 % celkovej zásoby uhlíka na trávnych ekosystémoch predstavovala zásoba pôdneho organického uhlíka.

Tab. 3 Zásoba organického uhlíka nadzemnej fytomasy (ABGC), zásoba pôdneho organického uhlíka (SOCstock) a celková zásoba uhlíka (CS) trávnych porastoch

Stanovište	Úroda sušiny (t.ha ⁻¹)	ABGC (t.ha ⁻¹)	SOCstock (t.ha ⁻¹)	CS (t.ha ⁻¹)
Detva	3,91 ± 1,92	1,74 ± 0,44	14,83 ± 2,36 ^a	16,57
Ráztoka	4,61 ± 0,73	2,16 ± 0,34	36,57 ± 1,07 ^c	38,73
Suchý vrch	2,23 ± 0,47	0,47 ± 0,22	26,38 ± 0,69 ^b	25,85

Záver

Príspevok prezentuje výsledky monitoringu celkovej zásoby uhlíka na siatych a trvalých trávnych porastoch. Siaty trávny porast dosahoval priemerné hodnoty pôdneho organického uhlíka na ornej pôde, ale o polovicu nižšie v porovnaní s trvalými trávnyimi porastami. Pre všetky hodnotené trávne porasty bola charakteristický nízky podiel nadzemnej biomasy na celkovej zásobe uhlíka.

Pod'akovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Udržateľné systémy inteligentného farmárstva zohľadňujúce výzvy budúcnosti 313011W112, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. ACHARYA, B.S., RASMUSSEN, J., ERIKSEN, J. 2012. Grassland carbon sequestration and emissions following cultivation in a mixed crop rotation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, roč. 153, s. 33-39.
2. BARANČÍKOVÁ, G., KOBZA, J. 2019. Aktuálny stav pôdneho organického uhlíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska a návrh opatrení. *Agroporadenstvo*. [on-line]. [citované 2020-09-29]. Dostupné na: <http://www.agroporadenstvo.sk/nove-poznatky-poda?article=1386>
3. CONANT, R.T., PAUSTIAN, K., ELLIOTT, E.T. 2001. Grassland management and conversion into grassland: effects on soil carbon. *Ecological Application*, roč. 11, s. 343-355.
4. HÁBOVÁ, M., POSPÍŠILOVÁ, L., HLAVINSKA, P., TRNKA, M., BARANČÍKOVÁ, G., TARASOVIČOVÁ, Z., TAKÁČ, J., KOCO, Š., MENŠÍK, L., NERUŠIL, P. 2019. Carbon pool in soil under organic and conventional farming systems. *Soil & Water Research*, roč. 14, s. 145-152.
5. IPCC. 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Volume 4 Agriculture, Forestry and Other Land Use. Dostupné na <http://www.ipcc-nggip.iges.jp/public/2006gl/>
6. KIZEKOVÁ, M. 2020. Hodnotenie ekosystémových služieb rôzne obhospodarovaných trávnych porastov. *Priebežná správa: NPPC-VÚTPHP, Banská Bystrica*. 21s.
7. KOBZA, J., BARANČÍKOVÁ, G., MAKOVNÍKOVÁ, J., DODOK, R., PÁLKA, B., STYK, J., ŠIRÁŇ, M. 2019. Monitoring pôd Slovenskej republiky. Aktuálny stav a vývoj monitorovaných pôd ako podklad k ich obrane a ďalšiemu využívaniu. Bratislava : NPPC-VUPOP Bratislava, 1. vydanie. 254 s. ISBN 978-80-8163-033-0.



8. MAKOVNÍKOVÁ, J., ŠIRÁŇ, M. 2020. Odhad objemovej hmotnosti pôdy na základe textúrneho trojuholníka a obsahu organickej hmoty v pôde. [on-line]. [citované 2020-09-29]. Dostupné na internete: http://www.podnemapy.sk/portal/verejnost/obj_hmotnost/obj_hmotnost.aspx
9. REEDER, J.D., SCHUMAN, G.E., 2002. Influence of livestock grazing on C sequestration in semi-arid mixed-grass and short grass rangelands. *Environmental Pollution*, roč. 116, s. 457-463.
10. ŠOLTÝSOVÁ, B., DANILOVIČ, M. 2008. The balance of organic carbon in the different crop sequences and tillage. *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, roč. 54, s. 165-173.
11. VYHLÁŠKA MINISTERSTVA PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR z 21. marca 2016 Z. z. č 151/2016, ktorou sa ustanovujú podrobnosti o agrochemickom skúšaní pôd a o skladovaní a používaní hnojív.
12. VÝNOS MP SR č. 2145/2004-100 o úradnom odbere vzoriek a o laboratórnom posudzovaní a hodnotení krmív, ktorým sa mení a dopĺňa výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky č. 1497/4/1997-100 o úradnom odbere vzoriek a o laboratórnom skúšaní a hodnotení krmív v znení výnosu Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky č. 149/2/2003-100.
13. WANG, Y., DNES, L., WU, G., WANG, K., SHANGGUAN, Z. 2018. Estimates of carbon storage in grassland ecosystems on the Loess Plateau. *Catena*, roč. 164, s. 23-31.

Kontaktné adresy: Ing. Miriam Kizeková, PhD., Ing. Zuzana Kováčiková, PhD., Ing. Jozef Čunderlík, PhD., Ing. Zuzana Dugátová, Ing. Vladimíra Vargová, PhD., Ing. Ľubica Jančová, Ing. Mariana Jančová, PhD., RNDr. Štefan Pollák, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Mládežnícka 36, 974 21 Banská Bystrica, Slovensko. E-mail: miriam.kizekova@nppc.sk, zuzana.kovacikova@nppc.sk, jozef.cunderlik@nppc.sk, zuzana.dugatova@nppc.sk, vladimira.vargova@nppc.sk, lubica.jancova@nppc.sk, mariana.jancova@nppc.sk, stefan.pollak@nppc.sk



VPLYV VÝŽIVY A OBRÁBANIA PÔDY NA ÚRODY VIKY SIATEJ JARNEJ (*VICIA SATIVA* L.) V SUCHÝCH PODMIENKACH VÝCHODOSLOVENSKEJ NÍŽINY EFFECT OF NUTRITION AND SOIL TILLAGE ON SPRING COMMON VETCH (*VICIA SATIVA* L.) UNDER DRY CONDITIONS OF THE EAST SLOVAK LOWLAND

Ladislav Kováč, Jana Jakubová

Abstract: The field treatments with common vetch (*Vicia sativa* L.) were carried out in Milhostov on the Experimental work place of NAFC – Agroecology Research Institute in Michalovce, between 2016 and 2018. Two tillage technologies, namely conventional technology with ploughing and reduce technology without ploughing, were tested. Three treatments of nutrition were examined, as follows: control treated with NPK mineral fertilizer, NPK fertilizer + ammonium nitrate, NPK fertilizer + liquid organic fertilizer Riverm. Meteorological factors of each experimental year had the statistically significant effect on spring common vetch grain yields. Significantly higher yields of spring common vetch cultivated under conventional technology were determined. An average yield $1.62 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ was achieved on control. There is a significant increase in yield after application of ammonium nitrate during vegetation season. The significantly highest yield was obtained after the foliar application of liquid organic fertilizer Riverm (on average $1.91 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Keywords: common vetch, grain yields, soil tillage, reduced soil technology, fertilisation

Úvod

Vika siata jarná (*Vicia sativa* L.) patrí k alternatívnym bôbovitým plodinám, ktoré rozširujú ponuku najčastejšie pestovaných plodín (kukurica, pšenica, repky, slnečnica). Zvyšujú biodiverzitu pestovaných plodín, znižujú potrebu hnojenia dusíkom a v miešanke znižujú zaburinenie a potrebu použitia herbicídov.

Semeno viky siatej sa využíva na ako komponent do krmných zmesí (10-15 %), ako vtáčí zob a to najmä pre holuby, osivo viky má veľmi dobrý odbyt v štátoch západnej Európy a v Turecku. Semeno sa využíva aj v humánnej výžive. Na tento účel sú vhodné bielo kvitnúce odrody, so svetlým semenom a s vyššími hodnotami HTS 80-100 g (SZABÓNÉ CSALLÓ, 2010). Semeno viky má vysoký obsah bielkovín. MIHAILOVIČ et al. (2007) uvádzajú, že v podmienkach Srbska pri pestovaní viky jarnej dosahovali v pokusoch úrody $2500 - 2800 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ s obsahom bielkovín v priemere 31,3 %.

Cieľom príspevku bolo zistiť vplyv prípravy pôdy a výživy viky siatej jarnej na úrodu semena na ťažkých pôdach Východoslovenskej nížiny. Nulová hypotéza predpokladá, že neexistujú rozdiely obrábania pôdy na úrodu viky siatej jarnej a ani vplyvu minerálnej výživy uvedenej plodiny. Alternatívna hypotéza predpokladá, že úrody semena viky siatej jarnej sa odlišujú s intenzitou spracovania pôdy ako aj so stupňujúcou sa výživou.

Materiál a metódy

Pokus s vikou siatou jarnou bol zakladaný v rokoch 2016 až 2018 na experimentálnom pracovisku NPPC – VÚA v Milhostove. Pôdy sú charakterizované ako ťažké, ílovito-hlinité fluvizeme glejové s priemerným obsahom ílovitých častíc vyšším ako 53 %. Pokus sa zakladal



dvoma spôsobmi obrábania pôdy, a to konvenčnou agrotechnikou (KA) spojenou s orbou a redukovanou agrotechnikou (RA) bez orby.

Pri konvenčnom obrábaní pôdy sa po zbere predplodiny urobila podmietka, potom stredná orba, jarná predsejbová príprava radličkovým kypričom a sialo sa sejačkou PNEUSEJ. Pri redukovanom variante sa po zbere predplodiny urobila podmietka a na jar pred sejbou sa pôda pripravila radličkovým kypričom. Sledovali sa tri úrovne výživy: 1. NPK, 2. NPK+LAD a 3. NPK+Riverm. Kombinované priemyselné hnojivo NPK (15:15:15) sa aplikovalo pri predsejbovej príprave pôdy v dávke 200 kg.ha⁻¹ pod všetky varianty. Liadok amónny (LAD 27%) sa aplikoval vo fáze šiestich pravých listoch viky v dávke 100 kg.ha⁻¹. V tej istej fáze sa aplikovala tekutá organická výživa Riverm v 4 % koncentrácii. K sejbe sa využila odroda Emma. Výsevok bol vo výške 80 kg.ha⁻¹. Porasty sa zakladali v druhej polovici apríla. Zber sa vykonal maloparcelkovým kombajnom Seedmaster a úrody sa vyhodnotili viacfaktorovou analýzou variancie.

Výsledky a diskusia

Priebeh agro-meteorologických faktorov v pokusnom období je uvedený v tabuľkách 1 a 2. Hodnoty priemernej teploty vzduchu a sumy zrážok sú porovnávané s dlhodobým normálom (DN) týchto parametrov z rokov 1981 – 2010.

Priemerné teploty vzduchu a sumy zrážok monitoruje SHMÚ na monitorovacej meteorologickej stanici nachádzajúcej sa priamo v Milhostove. Dlhodobá priemerná teplota vzduchu v období apríl až september v Milhostove je 16,6 °C, za celý rok 9,4 °C. Ako vyplýva z údajov v tabuľke 1, vo vegetačných obdobiach rokov 2016 – 2018 bola priemerná teplota vzduchu vyššia ako dlhodobý 30-ročný priemer. Odchýlka od tohto teplotného normálu (od +0,6 °C do +2,6 °C) poukazuje na to, že vegetačné obdobie 2016 bolo teplé, v roku 2017 teplotne normálne a v roku 2018 bolo vegetačné obdobie mimoriadne teplé. Aj priemerné teploty vzduchu celého roka boli vyššie ako dlhodobý normál o 0,6 až 1,9 °C. Týmto odchýlkam zodpovedá teplý rok 2016 a 2017 a silne teplý rok 2018.

Tab. 1 Priemerné mesačné teploty vzduchu v Milhostove [°C]

Mesiac	DN	2016			2017			2018		
		° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.
\bar{x} I. – XII.	9,4	10,5	+1,1	T	10,0	+0,6	T	11,3	+1,9	ST
\bar{x} IV. – IX.	16,6	17,7	+1,1	T	17,2	+0,6	N	19,2	+2,6	MT

Kde: S – studený, N – normálny, T – teplý, VT – veľmi teplý, MT – mimoriadne teplý

Pre optimálny priebeh produkčného procesu pestovaných plodín sú veľmi dôležité zrážkové úhrny. Z tabuľky 2 vyplýva nielen variabilita zrážok v rokoch 2016 – 2018, ale aj ich nerovnomerné rozdelenie počas vegetačného obdobia. Vegetačné obdobie hodnotených rokov 2016 – 2018 so sumami zrážok dosahujúcimi 318 – 368 mm, t. j. 85,0 – 98,4 % dlhodobého normálu (ďalej DN), boli zrážkovo normálne. Z pohľadu celého roka bol rok 2016 so sumou zrážok 697 mm (t. j. 122,9 % DN) hodnotený ako vlhký. Sumy zrážok v rokoch 2017 a 2018 dosiahli 90,3 – 102,8 % DN, čo boli zrážkovo normálne roky.

Tab. 2 Mesačné úhrny zrážok v Milhostove [mm]

Mesiac	DN	2016			2017			2018		
		mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.
Σ I. – XII.	567	697	122,9	V	583	102,8	N	512	90,3	N
Σ IV. – IX.	374	350	93,7	N	368	98,4	N	318	85,0	N



Kde: MS – mimoriadne suchý, VS – veľmi suchý, S – suchý, N – normálny, V – vlhký, VV – veľmi vlhký, MV – mimoriadne vlhký

Úrody semena viky siatej jarnej za roky 2016 – 2018 sú uvedené v tabuľke 3. V roku 2016 sa úrody pohybovali od 1,74 t.ha⁻¹ až do 2,27 t.ha⁻¹. Nižšie úrody sa dosahovali pri samotnom NPK hnojení. Aplikáciou liadku amónneho resp. Rivermu sa úrody zvyšovali. V porovnaní s rokom 2016 sa v roku 2017 dosahovali vyššie úrody. Pri porovnaní obrábaní pôdy boli nižšie úrody na redukovanej agrotechnike a pri porovnaní variantov hnojenia na kontrole hnojnej len samotným priemyselným hnojivom NPK.

Tab. 3 Úrody semena viky siatej jarnej [t.ha⁻¹] pri 14 % vlhkosti

Obrábanie pôdy	Hnojenie	2016	2017	2018	Priemer
Konvenčné	NPK	1,83	2,15	1,14	1,71
	NPK+LAD	2,27	2,42	1,37	2,02
	NPK+Riverm	2,20	2,35	1,44	2,00
Redukované	NPK	1,74	1,88	0,95	1,52
	NPK+LAD	1,98	2,22	1,22	1,81
	NPK+Riverm	1,90	2,18	1,20	1,76

Najnižšie úrody viky siatej jarnej sa dosahovali v mimoriadne teplom roku 2018. Aj keď zrážkový úhrn za vegetáciu bol v roku 2018 normálny, jeho rozloženie počas vegetácie nezodpovedalo potrebám porastu viky. V čase sejby bolo mimoriadne teplé počasie, (apríl 2018 bol najteplejším aprílom od začiatku meteorologických pozorovaní na území Slovenska, v Milhostove s odchýlkou teploty vzduchu o +4,6 °C v porovnaní s normálom 1961-1990), ktoré pretrvávalo dlhú dobu po sejbe a malo za následok nekompletne vzídený a preriedený porast. Zrážky v neskoršom období už nemohli kompenzovať výpadok porastu, čo sa prejavilo na výške úrod, ktoré sa pohybovali od 0,95 do 1,44 t.ha⁻¹. Veľmi nízke úrody v roku 2018 ovplyvnili celkový priemer za tri roky 1,52 až 2,02 t.ha⁻¹. Podľa dosiahnutých výsledkov úrody semena viky siatej jarnej zvyšujú hnojenia minerálnymi hnojivami. ALBAYRAK et al. (2006) uvádzajú, že úrody viky zvyšuje aj inokulácia osiva baktériami *Rhizobium*, čo môže nahradiť aplikáciu dusíkatých hnojív. Podľa AYDEMIRA et al. (2019), okrem hnojenia na úrodu viky siatej významne vplývajú agroklimatické stanovište a genetický potenciál odrody. K podobným výsledkom dospeli aj KARADAG a YAVUZ (2010) v semiaridných podmienkach Turecka, GEORGIEVA et al. (2015) v podmienkach Bulharska a MIKIČ et al. (2013) v okolí Nového Sadu v Srbsku.

Produkčné parametre viky siatej jarnej boli vyhodnotené aj štatisticky (Tabuľka 4). Štatistické hodnotenia potvrdili preukazne vyššie úrody pri konvenčnej agrotechnike s orbou v porovnaní s redukovanou agrotechnikou, čiže zamietame nulovú hypotézu o tom, že medzi konvenčnou technológiou a redukovanou technológiou spracovania pôdy nie sú rozdiely. Rovako aj pri úrovni výživy zamietame nulovú hypotézu a platí alternatívna hypotéza o tom, že aplikácia liadku amónneho a Rivermu preukazne zvyšovala úrodu oproti kontrole, ktorou bola sólo aplikácia NPK. Pri porovnaní variantov NPK+LAD a NPK+Riverm, bola signifikantne vyššia úroda pri aplikácii prípravku Riverm. Na úrodu preukazne vplýval pestovateľský ročník. Preukazne vyššie úrody sa dosiahli v roku 2016, pred rokom 2017 a suchým a teplým rokom 2018. Podobne aj FIRINCIOGLU et al. (2009) uvádzajú preukazné rozdiely v úrodách semena viky v rokoch. Za zmienku stojí uviesť aj to, že v pokuse sa testovali aj ozimné sejby jarnej viky a porovnávali sa ich s jarnými sejbami. Avšak dosahovali sa nižšie úrody.



Tab. 4 Viacfaktorová analýza rozptylu a viacnásobné porovnanie úrod semena viky sietej jarnej LSD-testom

Zdroj variability	Stupne voľnosti	F-test	Preukaznosť	Úrody [t.ha ⁻¹]	Skupina homogenity			
Obrábanie pôdy	1	479,49	++	1,91 1,70	KA RA	x	x	
Hnojenie	2	381,51	++	1,62 1,88 1,91	NPK NPK+LAD NPK+Riverm	x	x	x
Roky	2	3810,20	++	1,99 2,20 1,22	2016 2017 2018		x	x
Rezíduá	63							
Celkom	71							

Záver

Z výsledkov dosiahnutých v pokusoch s vikou siatou jarnou vyplývajú nasledovné závery:

- Na úrody zrna viky sietej jarnej preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov.
- Pri porovnaní technológií zakladania porastov viky jarnej sa preukazne vyššie úrody dosahovali pri využití konvenčnej agrotechniky s orbou ako pri redukovanej agrotechnike bez orby.
- Preukazne najvyššia úroda sa dosiahla na variante NPK+Riverm, pred variantom NPK+LAD. Preukazne najnižšia bola úroda pri samotnom NPK hnojení.

PodĎakovanie: Práca bola podporovaná Agentúrou pre vedu a výskum na základe zmluvy č. APVV-15-0489: Analýza sucha viackriteriálnymi metódami štatistiky a data-miningu z pohľadu návrhu adaptačných opatrení v krajine.

Literatúra

1. ALBAYRAK, S. et al., 2006: Effects of Inoculation with Rhizobium on seed Yield and Yield Components of Common Vetch (*Vicia sativa* L.). Turk J.Agric For. 30: 31-37.
2. AYDEMIR, S. K. et al., 2019: Evaluation of Yield and Yield Components of Common Vetch (*Vicia sativa* L.) Genotypes grown in different locations of Turkey by GGE biplot analysis. Budapest. Applied ecology and environmental research 17(6):15203-15217. ISSN 1785 0037 (Online).
3. FIRINCIOGLU, H. K., et al, 2009: Relationships between seed yield and yield components in common vetch (*Vicia sativa* ssp. *sativa*) populations sown in spring and autumn in central Turkey. Field. Crops Research 116, 30-37.
4. GEORGIEVA, N. et al. 2015: Stability analysis for seed yield in vetch cultivars. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2015. 27(12): 903-910.
5. KARADAG, Y. – YAVUZ, M., 2010: Seed yields and biochemical compounds of common vetch (*vicia sativa* L.) lines grown in semi-arid regions of Turkey. African Journal of Biotechnology Vol. 9(49), pp. 8334-8338. ISSN 1684-5315.
6. MIHAILOVIĆ V. et al., 2007: Potential of annual legumes for utilisation in animal feeding. In: Biotechnology in animal Husbandry. Institute for animal Husbandry Belgrade-Zemun. 23 (5-6) p 573-581.
7. MIKIČ, A., et al., 2013: Agronomic characteristics related to grain yield and crude protein content in common vetch (*Vicia sativa*) accessions of diverse geographic origin. New Zealand Journal of Agricultural Research, 56:4, 297-308.
8. SZABÓNÉ CSALLÓ, K., 2010: Tavaszi bükköny (*Vicia sativa* L.). In: Az alternatív növények szerepe az Észak-alföldi Régióban (Szerk.: Gondola, I.), DE AGTC KIT Kutatóintézet, Nyíregyháza, 2010. pp. 159-173, ISBN 978-963-473-386-7.

Kontaktná adresa: Ing. Ladislav Kováč, PhD., Ing. Jana Jakubová. Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav agroekológie Michalovce, Špitálska 1273, 071 01 Michalovce, Slovensko. E-mail: ladislav.kovac@nppc.sk, jana.jakubova@nppc.sk



ÚČINOK HYDROGELU NA RAST KOREŇOVÉHO SYSTÉMU TRÁVNÍKA

EFFECT OF HYDROGEL ON GROWTH OF THE TURF ROOT SYSTEM

Peter Kovár, Ľuboš Vozár, Peter Hric

Abstract: In this paper, we present the results of a container experiment using the soil conditioner Hydrogel for the growth of the root system of the lawn. The effect of 4 doses of the preparation (0; 1.50; 3.00 and 4.50 g.dm⁻³ substrate) on the length and weight of the roots is evaluated. The length of the roots was positively and at the same time significantly influenced by the used conditioner, with the most pronounced manifestation when Hydrogel was applied at a dose of 3.00 g.dm⁻³ of substrate. The same dose of Hydrogel also had the best effect on the weight of the roots. A higher dose (4.50 g.dm⁻³) of Hydrogel than its recommended dose had an inhibitory effect on both parameters evaluated.

Keywords: Hydrogel, root length, root weight, lawn

Úvod

Koreňový systém sa vyznačuje množstvom funkcií, predovšetkým ukotvuje rastliny v pôde, zabezpečuje príjem živín a vody. Husté prekorenenie ornice a plytkého podorničia (do 0,40 – 0,50 m) umožňuje efektívne prijímať vodu zo zrážok a menej pohyblivé živiny, napr. fosfor a niektoré mikroprvky (Gewin, 2010). Do väčšej hĺbky postupne prenikajú jednotlivé korene, spočiatku menej rozvetvené, ktoré dokážu i pri menšej hustote využiť zásobu vody a niektorých živín (Haberle, Svoboda 2015a, 2015b; Haberle et al. 2015; Kuhlman et al., 1989). Hĺbka koreňov preto určuje potenciál pre významnú funkciu príjmu vody a živín z hlbších vrstiev podorničia (Kautz et al., 2013) a nepriamo sa tak podieľa na ovplyvňovaní nadzemnej časti rastlín. Okrem uvedeného aj globálna zmena klímy, sprevádzaná nerovnomerným rozdelením zrážok počas roka a vysokými dennými teplotami najmä v letných mesiacoch, sa významnou mierou podieľa na kvalite rastlinného pokryvu, trávniky nevyvíjajú. Práve trávniky majú nezastupiteľnú úlohu pri zlepšovaní životného prostredia nielen v okolí rodinných domov, ale aj v parkoch a ďalšej verejnej zeleni. Hľadajú sa spôsoby, ako zlepšiť alebo aspoň udržať primeranú kvalitu trávnikov porastov na miestach, kde rôzne (častoekonomické) príčiny zabráňujú poskytnúť trávniku všetko, čo potrebuje. Jednou z možností je používanie trávnych druhov odolných voči suchu. Na druhej strane sa pre zníženie negatívneho dopadu deficitu vlhky javí používanie pomocných pôdných látok, bežne označovaných ako pôdne kondicionéry. Tým, že zvyšujú vodnú kapacitu pôdy (viažu viac ako 100-násobné množstvo vody), prispievajú k redukcii nákladov na zavlažovanie a lepšej využiteľnosti živín z hnojenia trávnikov (Hrabě et al., 2003). Mnohé z nich zlepšujú aj fyzikálne vlastnosti pôd a substrátov používaných pri zakladaní trávnikov. Podporujú rast koreňového systému, čo vytvára predpoklady pre lepšiu regeneráciu a celkový vzhlad trávnikov aj pri nižších vstupoch. Pôdne kondicionéry nachádzajú uplatnenie pri zatravnovaní extrémnych stanovišť, zlepšovaní fyzikálnych vlastností degradovaných alebo problematických pôd (suché piesočnaté), kde sa ich účinok prejavuje jednoznačne pozitívne (Straka a Straková, 2003). Väčšinou sú to látky bez účinného množstva živín, ktoré pôdu biologicky, chemicky alebo fyzikálne ovplyvňujú, zlepšujú, alebo zvyšujú účinnosť hnojív. Podľa Ganderta a Bureša (1991) nesmú zaťažovať životné prostredie, musia byť hygienicky nezávadné, bez burín a cudzorodých látok a musia byť aplikovateľné bežnou technikou. Pôdnymi kondicionermi možno dosiahnuť viac účinkov



súčasne. Ich širšiemu uplatneniu však často bránia vyššie náklady. Cieľom príspevku bolo zistenie vplyvu Hydrogelu na rast koreňového systému trávnik.

Materiál a metódy

Nádobový experiment sa realizoval v roku 2016 vo Volkovciach (okres Zlaté Moravce) v podmienkach riadenej závlahy. Na pokus sa použili nádoby s objemom približne 1,45 dm³. Pokus bol založený v polovici apríla 2016, kedy bol do nádob nasýpaný trávnikový substrát s obsahom dusíka max. 1,5 %, fosforu ako P₂O₅ max. 0,3 %, draslíka ako K₂O max. 0,7 % a pH 5,5 – 6,5. Do substrátu bola primiešaná pôdna pomocná látka – Hydrogel v dávkach podľa stanovených variantov. Následne bola vysiatá trávniková miešanka obsahujúca 45 % mätonohu trváceho „Belida“, 25 % mätonohu trváceho „Esquire“, 20 % kostravy červenej dlhovýbežkatej „Gondolin“ a 10 % lipnice lúčnej „Geronimo“ v množstve 0,6 g na nádobu, t.j. 30 g.m⁻². Po výseve sa nádoby dostatočne zavlažili.

Spolu boli založené 4 varianty v 3 opakovaníach:

- V1 – kontrola (bez použitia Hydrogelu);
- V2 – Hydrogel v dávke 1,50 g.dm⁻³ substrátu;
- V3 – Hydrogel v dávke 3,00 g.dm⁻³ substrátu;
- V4 – Hydrogel v dávke 4,50 g.dm⁻³ substrátu.

Hydrogel je pôdny kondicionér, ktorý na seba viaže vodu spolu s rozpustenými živinami, znižuje zálievkový cyklus a zároveň chráni koreňový systém proti mrazom, zabraňuje šíreniu chorôb a hniloby, znižuje stres rastlín spôsobovaný suchom. V pôde plní svoju funkciu 7 až 9 rokov. Pod trávny koberec sa dávkuje 50 – 100 g.m⁻². Pri príprave substrátu na výsev trávnik je odporúčaná dávka 3 – 4 kg.m⁻³ (www.hydrogel.sk, 2015). Jeden kilogram Hydrogelu je schopný absorbovať až 250 litrov demineralizovanej vody a až 150 litrov pôdneho roztoku. Soli a ióny (Mg, Ca) v pôde alebo v závlahe znižujú mieru absorpcie tekutín (Akhter et al., 2004).

Nádoby sa zavlažovali dvakrát do týždňa (pondelok a štvrtok) jednorazovou dávkou 120 ml na nádobu.

Po vzídení bol porast pravidelne strihaný nožnicami pri dosiahnutí priemernej výšky 80 – 100 mm na výšku 50 mm.

Na konci vegetačného obdobia (3. dekáda októbra 2016) sa z nádob vybrala trávna mačica a pomocou vody boli z koreňovej sústavy odstránené zvyšky substrátu. Ostatné nečistoty ako drobné kamienky a pod. sa vyberali ručne. Po odstránení nečistôt sa koreňový systém oddelil od nadzemnej časti a zistila sa jeho dĺžka. Po vysušení sa zistila jeho hmotnosť v g.nádoba⁻¹ s následným prepočítaním na g.m⁻².

Výsledky dĺžky a hmotnosti koreňov boli spracované v programe MS Excel a STATISTICA (jednofaktorová analýza rozptylu s následným testovaním podľa Fischera – LSD test pri 95 % hladine významnosti).

Výsledky a diskusia

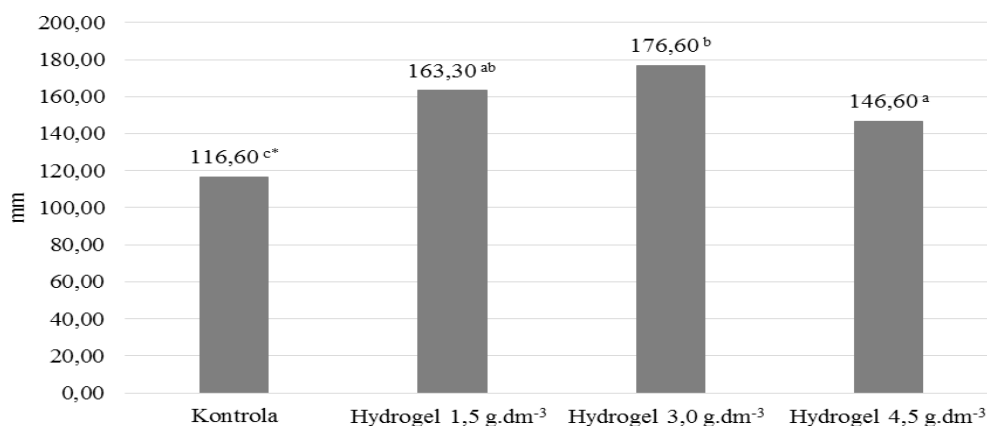
Zhodnotenie dĺžky koreňov trávnik po aplikácii Hydrogelu v rôznej dávke dokumentuje obrázok 1. Z prezentovaných hodnôt vidieť, že priemerná dĺžka koreňov bola od 116,60 mm v kontrolnom variante (V1) do 176,60 mm vo variante s aplikáciou 3,00 g Hydrogelu na 1 dm³ substrátu (V3). Celkovo však možno konštatovať pozitívny a zároveň štatisticky preukazný ($p = 0,0012$) vplyv použitého pôdneho kondicionéru na dĺžku koreňov. V porovnaní s kontrolným variantom sa v prítomnosti Hydrogelu v substráte zvýšila priemerná dĺžka koreňov o 30,00 mm – 60,00 mm s najvýraznejším prejavom vo variante V3 (3,00 g.dm³). Potvrdilo sa tak odporúčanie výrobcu aplikovať 3 – 4 kg Hydrogelu na 1 m³ substrátu (www.hydrogel.sk). Všeobecne by sa dalo predpokladať, že so zvyšovaním množstva hydroabsorbentu v substráte sa bude zvyšovať aj jeho účinnosť. V skutočnosti však môže



pôsobiť inhibične. Potvrdilo sa to aj v tomto experimente, keď vo variante s aplikáciou Hydrogelu v dávke $4,5 \text{ g.dm}^{-3}$ (V4) boli korene v priemere o 16,70 mm a 30,00 mm kratšie v porovnaní s variantmi V2 ($1,50 \text{ g.dm}^{-3}$) a V3 ($3,00 \text{ g.dm}^{-3}$). Podobne inhibičný účinok vyššej dávky hydroabsorbentov sme zaznamenali aj v našich predchádzajúcich pokusoch (Kovár et al., 2013, 2018).

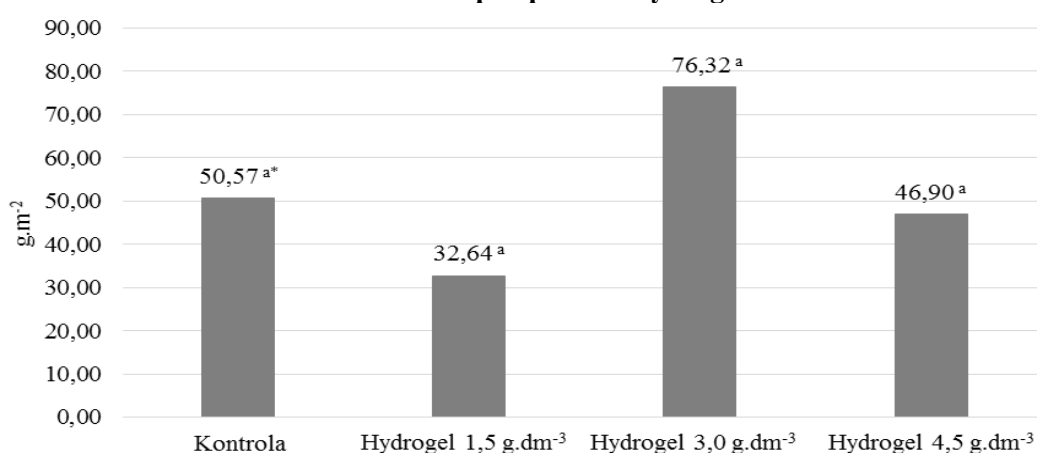
Celková produkcia (hmotnosť) koreňov trávniku bola použitým hydroabsorbentom (Hydrogel) ovplyvnená nepreukazne ($p = 0,3618$). Z priemerných hodnôt prezentovaných v obrázku 2 vidno redukciu hmotnosti koreňov vo variante V2 (o $17,93 \text{ g.m}^{-2}$) a variante V4 (o $3,67 \text{ g.m}^{-2}$) v porovnaní s kontrolou (V1). Stimulačný účinok Hydrogelu sa zaznamenal iba vo variante V3, kde sa v priemere vytvorilo $76,32 \text{ g.m}^{-2}$ koreňovej hmoty, t.j. o $25,75 \text{ g.m}^{-2}$ viac ako v kontrolnom variante bez použitia Hydrogelu. Podobne aj pri tomto hodnotenom znaku možno konštatovať, že aplikáciou iného množstva hydroabsorbentu ako je odporúčaná dávka môže byť jeho účinok negatívny. V zhode s uvedeným aj Beták (2016) vo svojom experimente s hydroabsorbentom Aquaholder nezistil pozitívny vplyv na koreňový systém, hoci na výšku a priemerný denný prírastok výšky a hmotnosti tráv sa prejavil stimulačný účinok uvedeného hydroabsorbentu.

Obrázok 1 Priemerná dĺžka koreňov trávniku po aplikácii Hydrogelu



*Rozdielne písmená (a-c) pri priemerných hodnotách znamenajú štatisticky preukazný rozdiel (Fischerov LSD test; $\alpha = 0,05$)

Obrázok 2 Hmotnosť koreňov trávniku po aplikácii Hydrogelu



*Rozdielne písmená (a-c) pri priemerných hodnotách znamenajú štatisticky preukazný rozdiel (Fischerov LSD test; $\alpha = 0,05$)



Záver

Na základe získaných výsledkov z nádobového pokusu možno konštatovať, že dĺžka koreňov trávniky bola štatisticky preukazne ovplyvnená použitým pôdnym kondicionérom (Hydrogel). Stimulačný účinok sa prejavil vo všetkých variantoch s aplikáciou Hydrogelu, avšak najvýraznejšie pri dávke $3,00 \text{ g.dm}^{-3}$ substrátu. Vyššia dávka ($4,50 \text{ g.dm}^{-3}$) Hydrogelu pôsobila inhibične. Pozitívny účinok Hydrogelu na hmotnosť koreňov sa zaznamenala iba pri dávke $3,00 \text{ g.dm}^{-3}$. Nižšia ($1,50 \text{ g.dm}^{-3}$) a vyššia ($4,50 \text{ g.dm}^{-3}$) dávka, ako je odporúčaná, pôsobila inhibične.

Pod'akovanie: Príspevok vznikol s podporou projektov KEGA 019SPU-4/2019 a KEGA 032SPU-4/2019. Pod'akovanie patrí aj Ing. Jozefovi Juríkovi za pomoc pri realizácii experimentu.

Literatúra

1. Akhter, J. – Mahmood, K. – Malik, K.A. – Mardan, A. – Ahmad, M. – Iqbal, M.M. 2004. Effects of hydrogel amendment on water storage of sandy loam and loam soils and seedling growth of barley, wheat and chickpea. In *Plant Soil Environ.*, 50: 463-469.
2. Beták, M. 2016. Vplyv hydroabsorbentu na rastovo-produkčný proces vybraných druhov tráv. Diplomová práca. Nitra: SPU, 2016, 55 s.
3. Gandert, K. D. – Bureš, F. 1991. *Handbuch rasen*. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag 1991, 365 s.
4. Gewin, V. 2010. Food: An underground revolution. *Nature*, 2010, 466, 7306, 552-553.
5. Haberle J. – Svoboda P. 2015a. Calculation of available water supply in crop root zone and water balance of crops. *Contributions to Geophy and Geodesy* 45, 285–298.
6. Haberle J. – Svoboda P. 2015b. Příčiny letošních rozdílných výnosů. *Zemědělec* 23 (38), 29- 31.
7. Haberle, J. – Vlček, V. – Kohut, M. – Středa, T. – Dostál, J. – Svoboda, P. 2015. Bilance a určení dostupné zásoby vody v kořenové zóně plodin. *Metodika pro praxi*, 2015. Dostupné z: <http://svt.pi.gin.cz/vuzt/koreny.php>
8. Hrabě et al. 2003. *Trávy a trávniky co o nich ještě nevíte*. Olomouc: ing. Petr Baštan-Hanácka reklamní, 158 s. ISBN 80-903275-08
9. Kautz, T. – Amelung, W. – Ewert, F. – Gaiser, T. – Horn, R. – Jahn, R. – Javaux, M. – Kemna, A. – Kuzyakov, Y. – Munch, J. 2013. Nutrient acquisition from arable subsoils in temperate climates: A review. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 1003–1022.
10. Kovár, P. – Vozár, E. – Hric, P. 2018. The effect of Stockosorb®500 Micro on the growth-production process of *Festuca arundinacea* Schreb. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, 21, 3(2018), pp. 125-128, ISSN 1336-9245
11. Kovár, P. – Vozár, E. – Jančovič, J. 2013. Vplyv hydroabsorbentov na rastovo-produkčný proces *Festuca arundinacea* Schreb. cv. Koreta. In *Agrochémia*, 17, 4(2013), s. 8-11, ISSN 1335-2415
12. Kuhlman, H. – Barraclough, P.B. – Weir, A.H. 1989. Utilization of mineral nitrogen in the subsoil by winter wheat. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 152, 291-295
13. Straka, J. – Straková, M., 2003. Zkušenosti s půdními kondicionéry při zatravnování svahů na extrémních stanovištích. In *Sborník Trávniky 2003*, Agentura Bonus Hrdějovice, Country Club Nová Amerika u Jaroměře, 2003, 43-44.
14. www.hydrogel.sk [cit. 2020-08-02]

Kontaktná adresa: Ing. Peter Kovár, PhD., doc. Ing. Ľuboš Vozár, PhD., Ing. Peter Hric, PhD., Ing.-Paed.IGIP, Katedra rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: Peter.Kovar@uniag.sk, Lubos.Vozar@uniag.sk, Peter.Hric@uniag.sk



BOTANICKÉ ZLOŽENIE A PRODUKČIA SUŠINY TRVALÉHO TRÁVNEHO PORASTU PO APLIKÁCIÍ KOMPOSTU

BOTANICAL COMPOSITION AND DRY MATTER PRODUCTION OF GRASSLAND AFTER THE COMPOST APPLICATION

Štefan Pollák, Mariana Jančová, Norbert Britaňák, Miriam Kizeková, Katarína Hrčková, Zuzana Dugátová

Abstract: The aim of the work was to investigate the effect of surface application of compost on the botanical composition and dry matter production of permanent grassland and also the assessment of compost usage in organic grassland management. Compost doses were specified according to the nitrogen content based on the chemical analysis. Unfertilized control grassland was compared to the fertilization levels of 40 kg, 80 kg, and 120 kg of pure nitrogen per hectare. The highest stability of phytomass production was reached at the lowest dose (40 kg of nitrogen per hectare). The highest variability of aboveground biomass was recorded in case of unfertilized grassland. Compost application increased the proportion of grasses in the stand and decreased the presence of the group of legumes. Also the overall productivity of fertilized grassland increased in comparison to control group.

Keywords: compost, botanical composition, dry matter production, permanent grassland

Úvod

Kompostovanie je pravdepodobne najstaršia recyklačná technológia, ktorá je súčasne najflexibilnejšou technológiou nakladania s biologicky rozložiteľnými odpadmi. Má veľký význam v poľnohospodárstve, lesníctve a komunálnej sfére. V súčasnosti sa kompostujú rôzne druhy surovín cez záhradné, domové či kuchynské produkty, čo pomáha redukovat' organické odpady na skládkach a zamedziť tvorbe skládkových plynov. Výsledkom procesu kompostovania je kompost obsahujúci minerálne látky a živiny, ktoré majú priaznivý vplyv na rast rastlín a môžu konkurovať umelým hnojivám. Zachovať a zvýšiť obsah pôdných organických látok (SOM) v poľnohospodárskej pôde je nevyhnutné pre dosiahnutie udržateľného poľnohospodárstva. Wolf a Snyder (2003) tvrdia, že udržateľné poľnohospodárstvo je nový spôsob riadenia poľnohospodárstva a predstavuje odlišný prístup k zabehnutej praxi. Existuje niekoľko možností, ako zlepšiť obsah SOM v pôde a znížiť tak riziko straty prirodzených vlastností pôdy (úrodnosť pôdy). Najdostupnejšou metódou je aplikácia organického odpadu, ktorý môže byť rôzneho pôvodu (napríklad: organický komunálny odpad, zvyšky po zbere plodín, organický odpad z bioplynu alebo organický odpad vznikajúci pri výrobe biopalív). Kládne sa dôraz na lokáciu výroby v blízkosti poľnohospodárskej pôdy, kde sa bude uplatňovať. Tento faktor je veľmi dôležitý pre ziskovosť aplikácie SOM (Wolf a Snyder, 2003; Halberg, 2006). Priemyselné krajiny v strednej Európe využívajú proces kompostovania predovšetkým na likvidáciu komunálneho odpadu, organického odpadu a organického odpadu z poľnohospodárstva. Naopak, rozvojové krajiny nemajú také zdroje a musia hľadať nové možnosti v poľnohospodárstve (Halberg, 2006; Chatuverdi et al., 2009).



Surový alebo čerstvý kompost možno pri intenzívnom rozklade použiť už po niekoľkých týždňoch. Táto forma obsahuje ešte veľa živých organizmov, ktoré sústavne zabezpečujú uvoľňovanie živín (Moňok, 2001). Predstavuje tak možnosť použitia čerstvého kompostu na krátkodobé rozprúdenie prísunu živín (Hejátková, 2003). Zrelý kompost napriek vyššiemu obsahu živín nepôsobí už tak rýchlo. Počas dlhšieho obdobia rozkladu sa však vytvorí viac humusu, ktorý stabilizuje štruktúru pôdy (Noskovič, 2003). Zrelý kompost sa pri najrýchlejšom priebehu rozkladu môže použiť po 4 mesiacoch, spravidla však až po 6-12 mesiacoch (Kompostforum Schweiz, 2008).

Správnym použitím kompostov sa predovšetkým zabezpečuje dostatok živín pre rastliny počas celej vegetácie vo vhodnej forme a pomere, súčasne sa udržiavajú a vylepšujú mechanicko-fyzikálne vlastnosti pôdy, jej pórovitosť, najmä schopnosť udržiavať vlhkosť. Aktivizuje sa biologická činnosť v pôde zvýšením množstva pôdných mikroorganizmov, zlepšujú sa chemické a fyzikálno-chemické vlastnosti pôdy obohatením o organické látky a humus (Moňok, 2002). Kompost je podľa Regala a Krajčoviča (1963) najvhodnejším a nutným predpokladom pre zapracovanie semien pri príseve prerednutých porastov, obohacuje mačinu o mikroorganizmy, ktoré tvorbou CO₂ zaisťujú uhlíkatú výživu porastu. Zohľadnením miestnych podmienok, minimálnych nákladov, revitalizáciou trávnych porastov a výrobou kompostu z fytomasy trávneho porastu sa zaoberali (Kollárová, Hájková, Stonawská, 2007) a tiež Pollák a Javorka (2010). Prihliadali aj na agroenvironmentálne hľadisko starostlivosti a údržby krajiny. Alexander (2008) vo svojej práci vidí naliehavú potrebu použitia kompostu, aby sa prostredníctvom jeho aplikácií do životného prostredia revitalizovali svahy, zadržovala dažďová voda. Zmeny obsahu dusíka (N) a uhlíka (C) v komposte hodnotili Griffin, Hutchinson (2007) v priebehu 130 dňovej aeróbnej inkubácie na piesčitohlinitej pôde. Účinok zrelosti kompostu na rast rastlín bol hodnotený v pokuse s trávami a inými plodinami. Vplyv kompostu na zmenu vlastností pôd na narušených stanovištiach v rôznych prostrediach skúmali Singer et al. (2006). Podľa ich štúdie povrchové použitie kompostov pri výstavbe a rekultivácii hrádzí môže zvýšiť zadržiavanie vody po daždi a podporiť rast rastlín.

Materiál a metódy

Pokusné stanovište sa nachádzalo v oblasti Kremnických vrchov, v katastri obce Radvaň. Lokalita Suchý vrch (480 m n. m.) má dlhodobú priemernú ročnú teplotu vzduchu 7,7 °C (počas vegetačného obdobia 13,6 °C) a priemerný ročný úhrn zrážok dosahuje úroveň 853 mm (441 mm za vegetáciu).

Geologický substrát stanovišťa tvoria zvetraliny andezitov, pôdny typ je kambizem, pôdny druh hlinitá pôda. Laboratórne rozbory pôdy sa uskutočnili podľa Vyhlášky MP SR č. 338/2005, čiastka 142 Z.z. zo 6. júla 2005, ktorou sa ustanovujú podrobnosti o postupe pre odber pôdných vzoriek, spôsobe a rozsahu vykonávania agrochemického skúšania pôd. Agrochemické vlastnosti pôdy pod trvalým trávny porastom sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1 Agrochemické vlastnosti pôdy pred založením experimentu (2010)

Hĺbka 0-100 mm	pH/KCl	NH ₄ _N	NO ₃ _N	Cox	Humus	N	P	K	Ca	Mg
	pH	mg.kg ⁻¹		g.kg ⁻¹			mg.kg ⁻¹		g/kg	mg.kg ⁻¹
	4,29	6,14	0,95	28,30	48,79	3,50	12,30	112,84	1,74	382,74

Poloprírodný trávny porast, ktorý sa vyvinul zatrávením ornej pôdy bol fytoecologicky zaradený do zväzu *Arrhenatherion* s dominanciou *Trisetum flavescens* L. V poraste dominovali trávy, ktorých priemerné zastúpenie dosahovalo 40 %. Bôbovité mali priemerné zastúpenie 30 % a byliny sa na zložení porastu podieľali 30 percentami. Pre trávny porast bola charakteristická druhová bohatosť, zaznamenaných bolo 37 druhov. Na stavbe



spoločenstva sa podieľali najmä *Arrhenatherum elatius*, *Trisetum flavescens*, *Dactylis glomerata*, *Avenula pubescens*, *Trifolium repens*, *Taraxacum officinale* a *Achillea millefolium*.

Polný pokus bol založený v roku 2010, ako jednofaktorový s randomizovaným usporiadaním variantov v štyroch opakovaníach. Varianty hnojenia boli nasledovné: nehnojená kontrola, 40 kg N. ha⁻¹, 80 kg N. ha⁻¹, 120 kg N. ha⁻¹ čistých živín v komposte. Kompost sa na trvalý trávny porast aplikoval povrchovo vo frakcii 0 – 15 mm jednorazovo na začiatku pokusu v jarom termíne 2010. Chemické zloženie aplikovaného kompostu je zobrazené v tabuľke 2.

Tab. 2 Chemické zloženie kompostu

pH/KCl	N _t	P	K	Na	Ca	Mg
	g.kg ⁻¹					
6,69	11,72	3,36	12,58	2,40	8,21	4,70

Množstvo aplikovaného kompostu a množstvo dodaných živín zobrazuje tabuľka 3. Pokusný trvalý trávny porast sa každoročne využíval kosbou trikrát počas vegetačného obdobia v obvyklých agrotechnických termínoch.

Tab. 3 Množstvo dodaného kompostu a živín

Variant	Množstvo	N	P	K	Na	Ca	Mg
	t.ha ⁻¹	kg.ha ⁻¹					
1	0	0	0	0	0	0	0
2	3,41	40,0	11,47	42,95	8,20	28,02	16,05
3	6,82	80,0	22,93	85,90	16,39	56,04	32,09
4	10,24	120,0	34,40	128,85	24,59	84,05	48,14

Dočasnú stabilitu produkcie sušiny sme vypočítali pomocou postupu Lehman a Tilman (2000), $S = \sigma / \mu$, kde σ predstavuje smerodajnú odchýlku a μ priemer. Čím je výsledná hodnota vyššia, tým je meraný ukazovateľ stabilnejší.

Výsledky a diskusia

Novák (2008) uvádza optimálny pomer agrobotanických skupín v (trvalom) trávnom poraste nasledovne: 50-70 % tráv, 15-25 % bôbových druhov a 5-25 % ostatných lúčnych alebo pasienkových bylín. Okrem zástupcov čeľade bôbovité, ktoré sa nachádzali v uvedenom intervale, sa ostatné hlavné agrobotanické skupiny nenachádzali v optimálnych pásmach. Zatiaľ, čo podiel trávnych druhov bol nižší, skupina ostatných lúčnych a pasienkových bylín bola nad uvedenými rozsahmi. Aplikácia kompostu zvýšila priemerný podiel tráv v poraste o 3,8 %. Tento rozdiel nebol štatisticky preukazný (ANOVA $F_{3,71} = 1,439$; $P > 0,239$; tabuľka 4). Počas vegetačného obdobia dochádzalo k zmenám v plošnom zastúpení hodnotených botanických skupín. S poradím kosieb sa znižovalo zastúpenie tráv v porastoch ($r = -0,214$; $P = 0,0100$) a zvyšovalo sa zastúpenie bylín ($r = 0,172$; $P = 0,0393$). V druhých a tretích kosbách sa zaznamenalo aj vyššie zastúpenie skupiny bôbových, rozdiely však neboli štatisticky významné. Vyšší počet druhov rastlín bol zistený v prvých kosbách (31 druhov) a pri kontrolnom variante vo všetkých rokoch pokusu. Medzi jednotlivými variantmi s kompostom neboli zaznamenané výrazné rozdiely v počte druhov ($r = -0,056$; $P = 0,5050$). Druhovú diverzitu porastu sa ku koncu každého pokusného roku znižovala ($r = -0,325$; $P < 0,0001$). Pri hodnotení variantov hnojenia sa so zvyšujúcou sa dávkou kompostu zaznamenalo zvyšovanie zastúpenia tráv ($r = 0,239$; $P = 0,0007$) v poraste (najmä *Dactylis glomerata*, *Arrhenatherum elatius*, *Trisetum flavescens*) a pokles podielu bôbových ($r = -0,267$; $P = 0,0012$). Naš prístup, založený na zvyšujúcej sa dávke dusíka v komposte, tak korešponduje s očakávaniami



známymi z literatúry (napr. Lichner et al., 1977, 1983; Holúbek et al., 2007; Novák, 2008; Gibson, 2009). Nejednoznačný vplyv mala jednorazová dávka kompostu na bylinné druhy. Vyššia dávka kompostu (variant 3) zvýšila ich prezenciu oproti nehnojenej kontrole (+1,3 %). Avšak v ďalších dvoch variantoch sa ich zastúpenie znížilo o 0,4 % (variant 4) resp. o 0,6 % (variant 2). Rozdiely medzi variantmi neboli signifikantné (ANOVA $F_{3,71} = 0,263$; $P > 0,851$).

Tab. 4 Botanické zloženie trvalého trávneho porastu (%) ovplyvneného jednorazovou aplikáciou kompostu (priemer šiestich rokov)

Variant	1	2	3	4
Trávy	41,9 ± 2,3	44,4 ± 2,0	45,1 ± 1,8	47,8 ± 1,9
Bôbovité	25 ± 1,6	24 ± 1,7	22 ± 1,4	21 ± 1,5
Byliny	31,4 ± 2,3	30,8 ± 1,2	32,7 ± 1,4	31 ± 1,4

Poznámka: údaje sú zobrazené v percentách ako priemer ± štandardná chyba priemeru

Priemerná celková produkcia sušiny nadzemnej fytomasy ($y = 0,2282x + 3,8133$; $r = 0,148$, $P = 0,3154$) sa medzi jednotlivými variantmi preukazne nelíšila (tabuľka 5). Vyššia produkcia v priemere za 6 ročné obdobie bola zaznamenaná pri najvyššej jednorazovej dávke kompostu ($4,67 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$). Najnižšiu priemernú ročnú produkciu mal kontrolný variant ($3,92 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$), z variantov hnojenia zas variant s najnižšou dávkou kompostu (variant 2). Zistili sme priamu závislosť medzi výškou produkcie a zastúpením bôbovítých druhov v trávnom poraste. Tento vzájomný vzťah bol štatisticky preukazný ($y = 0,0357x + 0,6423$; $r = 0,285$; $P < 0,001$). Produkcia sušiny nezávisela na podiele trávnych druhov ($y = -0,0064x + 1,7499$; $r = -0,066$; $P = 0,4349$) a ostatných lúčnych a pasienkových bylín ($y = -0,0184x + 2,0396$; $r = -0,151$; $P = 0,0708$) v trvalom trávnom poraste.

Dočasná stabilita nadzemnej produkcie bola najvyššia na variante s najnižšou aplikovanou jednorazovou dávkou kompostu (variant 2). Najviac variabilná, t.j. najmenej stabilná produkcia sa zistila na nehnojenom 1. variante (tabuľka 5). Zaznamenaný pokles úrod nadzemnej fytomasy v priebehu sledovaného obdobia šiestich rokov ($y = -0,9268x + 7,6275$; $r = -0,916$; $P < 0,001$) pripisujeme agroklimatickým podmienkam a postupnému odčerpávaniu živín produkciou nadzemnej fytomasy v trojkosnom systéme využívania. Najvyšší pokles celkových úrod bol zistený pri kontrolnom variante ($r = -0,96$; $P = 0,0053$). Všetky porasty hnojené kompostom mali preukazne nižší pokles celkových úrod v poradí pokusných rokov, ktorý priamo úmerne závisel od množstva použitého kompostu v jednorazovej dávke (2. variant ($r = -0,90$; $P = 0,0133$); 3. variant ($r = -0,93$; $P = 0,0072$); 4. variant ($r = -0,94$; $P = 0,0053$). Z uvedeného rezultuje potreba ďalšieho experimentálneho sledovania nielen jednorazovej aplikácie, ale aj chronickej, t.j. každoročnej aplikácie alebo periodickej sa opakujúcej aplikácie s viac ako jednoročným odstupom medzi hnojením trvalých trávnych porastov.

Tab. 5 Priemerná produkcia sušiny nadzemnej fytomasy ($\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$) a jej dočasná stabilita

Variant	1	2	3	4
Produkcia	3,92 ± 0,64	4,45 ± 0,83	4,49 ± 0,78	4,67 ± 0,79
Stabilita produkcie	0,40	0,46	0,43	0,41

Záver

Počas šiestich rokov sme sledovali vplyv jednorazovej aplikácie kompostu na zastúpenie hlavných agrobotanických skupín v trvalom trávnom poraste a na výšku produkcie porastu pri stúpajúcej dávke kompostu. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že hnojenie kompostom spôsobilo preukazné zmeny v zastúpení hlavných agrobotanických skupín tráv a bôbovítých, ktoré sa signifikantne prejavili aj na produkcii sušiny. Porasty hnojené kompostom mali výrazne stabilnejšie úrody ako neošetrený porast. Z tu prezentovaných výsledkov predstavuje



hnojenie kompostom environmentálne šetrný spôsob obhospodarovania, pri ktorom je možné zlepšiť produkčné a mimoprodukčné funkcie trávnych porastov a zároveň zachovať ich primeranú ekologickú stabilitu.

Literatúra

1. ALEXANDER, R. 2008. Compost market outlook. In *BioCycle*, 2008, Vol. 49, No. 1, p. 22
2. CHATURVEDI, S., KUMAR, A., SINGH, B. Utilizing Composted Jatropa & Neem cake and Tobacco Waste to sustain Garlic yields in Indo-Gangetic plains. *Journal of Phytology*, vol. 1, 2009, no. 6, s. 353 – 360.
3. GIBSON, D.J. 2009. Grasses and grassland ecology. Oxford University Press : Oxford, p. 305, ISBN 978-0-19-852919-4.
4. GRIFFIN, T. S., HUTCHINSON, M. 2007. Compost Maturity Effects on Nitrogen and Carbon Mineralization and Plant Growth Compost Science & Utilization, In *BioCycle*, 2007, Vol. 48, No. 10, p. 48-54.
5. HALBERG, N. Global development of organic agriculture: challenges and prospects. Cambridge, MA: CABI, 2006. 377 s. ISBN 978 – 184-5930 – 783.
6. HEJÁTKOVÁ, K a i. 2003. Faremní kompost vyrobený kontrolovaným mikrobiálnym kompostovaním. Praha : VUZT, 2003. 62 str. ISBN 80-238-9749-7.
7. HOLÚBEK, R., JANČOVIČ, J., GREGOROVÁ, H., NOVÁK, J., ĎURKOVÁ, E., VOZÁR, E. 2007. Krmovinarstvo – manažment pestovania a využívania krmovín. SPU : Nitra, 419 s. ISBN 978-80-8069-911-6.
8. KOLLÁROVÁ, M., HÁJKOVÁ, V., STONAWSKÁ P. 2007. Údržba trvalých trávnych porastů jako prvků územního systému ekologické stability krajiny. In *Ekológia trávneho porastu VII – medzinárodná vedecká konferencia: zborník prípevkov z Medzinárodnej vedeckej konferencie pri príležitosti 45. výročia vzniku Výskumného ústavu trávnych porastov a horského poľnohospodárstva a životného jubilea prof. Ing. Vladimíra Krajčoviča*, Banská Bystrica, 2007. ISBN 978-80-88872-69-6, s. 411-416.
9. KOMPOSTFORUM SCHWEIZ Grüngut besser verwerten - Information und Beratung. [kompost.ch/](http://www.kompost.ch/) [online]. 2008-13-01. Dostupné na << <http://www.kompost.ch/>>>.
10. LICHNER, S., MORHÁČ, P., ŠANTA, M., FOLKMAN, I., ŠINKOVIC, J., KVIETOK, J., LOBOTKA, I. 1977. Lúky a pasienky. *Príroda* : Bratislava, 423 s.
11. LEHMAN, C.L., TILMAN, D. 2000. Biodiversity, stability, and productivity in competitive communities. *American Naturalist* 2000 (156) 5: 534-552.
12. MOŇOK, B. 2001. Bioodpad problém? Riešenie kompostovanie! In *Enviromagazín*, 2001, roč.6, č. 6, s.28-29,34. ISSN 1335-1877.
13. MOŇOK, B. Biopreparáty na urýchlenie kompostovania. *Biom.cz*[online]. 2002-11-27. Dostupné na: <<<http://biom.cz/index.shtml?x=110765>>>. ISSN: 1801-2655.
14. NOSKOVIČ, J. 2003. Ochrana a tvorba životného prostredia. Nitra : SPU, 2003. 141 s. ISBN 80-8069-263-7
15. NOVÁK, J. 2008. Pasienky, lúky a trávniky. *Patria : Prievidza*, 708 s. ISBN 978-80-85674-23-1.
16. POLLÁK, Š., JAVORKA, J. 2010. Využitie prebytočnej biomasy formou kompostovania s návrhom na modelové technologické riešenie Záverečná správa za subetapu. Banská Bystrica: CVRV - VÚTPHP, 2010. 25 s. + 6 tab., 2 graf. - Lit. 15.
17. REGAL, V., KRAJČOVIČ, V. 1963. *Pícninářství*. Praha : SZN, 1963. 466 s.
18. SINGER, J.W., MALONE, R.W., TOMER, M.D., MEADE, T.G., WELCH, J. 2006. Compost effect on water retention and native plant establishment on a construction embankment. In *Journal of Soil and Water Conservation*. 2006, Vol. 61, no. 5. pp. 268-273.
19. VYHLÁŠKA MP SR zo 6. júla 2005. Z.z. č. 338/2005, Čiastka 142 ktorou sa ustanovujú podrobnosti o postupe pre odber pôdnych vzoriek, spôsobe a rozsahu vykonávania agrochemického skúšania pôd, zisťovania pôdnych vlastností lesných pozemkov a o vedení evidencie hnojenia pôdy a stavu výživy rastlín na poľnohospodárskej pôde a na lesných pozemkoch
20. WOLF, B., SNYDER, G.H. Sustainable soils: the place of organic matter in sustaining soils and their productivity. New York: Food Products Press, 2003c. 352 s. ISBN 15 – 602-2917 – 9.

Kontaktná adresa: RNDr. Štefan Pollák, Ing. Mariana Jančová, PhD., Ing. Miriam Kizeková, PhD., Ing. Zuzana Dugátová, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 3758/36, 974 21 Banská Bystrica, Slovensko. E-mail: stefan.pollak@nppc.sk, mariana.jancova@nppc.sk, miriam.kizekova@nppc.sk, zuzana.dugatova@nppc.sk. Ing. Norbert Britaňák, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Regionálne výskumné pracovisko Liptovský Hrádok, Gašperikova 599, 033 01 Liptovský Hrádok, Slovensko. E-mail: norbert.britanak@nppc.sk. Ing. Katarína Hrkčková, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovensko. E-mail: katarina.hrckova@nppc.sk



ZLOŽENIE MASTNÝCH KYSELÍN HYBRIDU *RUMEX PATIENTIA L. X RUMEX TIANSCHANICUS A. LOS* FATTY ACIDS COMPOSITION OF HYBRID *RUMEX PATIENTIA L. X RUMEX TIANSCHANICUS A. LOS*

Michal Rolinec, Dzhamal Rakhmetov, Daniel Bíro, Milan Šimko, Branislav Gálik, Miroslav Juráček, Ondrej Hanušovský

Abstract: The aim of this study was to determine the concentration of fatty acids in whole fresh or wilted Rumex OK2 plant (hybrid *Rumex patientia* L. x *Rumex tianschanicus* A. Los). Whole plants were harvested in April, May and June. Samples from April and May were analysed as fresh and wilted. The concentration of dry matter, total lipids and fatty acids were determined and results were statistically processed. From April to June, the content of dry matter in fresh Rumex OK2 plants increased, whereas the content of total lipids decreased. Alfa linolenic omega-3 polyunsaturated fatty acid was the most abundant one in samples from April and May, both in fresh and wilted samples. Rumex OK2 samples from April and May were characterized with very low omega-6 to omega-3 ratio. After maturing of the plant (dry matter more than 55%) in June the linoleic and oleic fatty acids were most abundant. Between months a significant difference in fatty acids composition, as well as dry matter and crude lipid content were detected. Despite the low content of lipids, Rumex OK2 could be considered as a source of essential alfa linolenic omega-3 fatty acid, which is in food-chain in scarcity.

Keywords: Rumex OK2, lipids, fatty acids

Úvod

Hybrid *Rumex patientia* L. x *Rumex tianschanicus* A. Los (Rumex OK2) je menej známou rastlinou. Pestovaný môže byť tam, kde sa nedarí iným plodinám, resp. v marginalizovaných poľnohospodárskych oblastiach. Rumex OK2 má potenciál byť využitý ako zdroj živín s bohatou produkciou biomasy už v skorých jarných mesiacoch, resp. v jesenných mesiacoch, čo ocenia najmä drobnochovatelia a menšie záujmové chovy. Skrmovanie väčšieho množstva limituje kyselina šťaveľová. Ďalšie z možných využití je ako obnoviteľný zdroj biomasy pre energetické účely. Nutričnej charakteristike čerstvej hmoty a aj siláže, aj keď pre vysoký obsah vody je Rumex OK2 silážovateľný veľmi problematicky a úspešne skôr iba v laboratórnych podmienkach, sme sa venovali v článkoch Rolinec et al. (2018a, 2018b). Vzhľadom na nízky obsah sušiny (Hejduk a Doležal, 2004) počas rastu v jarných mesiacoch je obsah tuku v Rumexe OK2 veľmi nízky. Bolo zistené, že so zvyšujúcim sa obsahom sušiny počas rastu od marca do júna sa zároveň znižuje obsah tuku z 22,3 na 8,9 g.kg⁻¹ sušiny (Rolinec et al., 2018b). Charakteristika mastných kyselín v tuku získaného z Rumex OK2 zatiaľ nebola publikovaná. Preto cieľom tejto práce bolo stanovenie obsahu mastných kyselín v rastlinách Rumexu OK2.

Materiál a metódy

Stanovenie mastných kyselín bolo realizované v tuku vyextrahovanom z čerstvej hmoty rastlín, ako aj z uvädutej hmoty rastlín Rumexu OK2 získanej v mesiacoch apríl a máj a z čerstvej hmoty získanej počas júna. Uvädanie vzoriek odobratých v apríli a v máji bolo realizované v laboratórnych podmienkach pri otvorených oknách. Získané vzorky čerstvej a uvädutej hmoty boli spracované a analyzované na obsah sušiny, tuku a mastných kyselín. Sušina bola stanovená po vysušení vzorky pri 103±2 °C vázkovo, tuk vázkovo po extrakcii petroléterom



podľa Soxhleta, masné kyseliny na plynovom chromatografe Agilent 6890A GC (Agilent Technologies, USA) a ich identifikácia v porovnaní k štandardu Supelco 47885-U podobne ako v experimente Kolláthová et al. (2020). Obsah mastných kyselín je uvedený v g.100g⁻¹ mastných kyselín. Získané výsledky boli štatisticky spracované v programe IBM SPSS v. 26.0. Štatistická preukaznosť rozdielov medzi priemernými hodnotami bola testovaná jednosmernou analýzou ANOVA (Tukey HSD test) na hladine významnosti α 0,05.

Výsledky a diskusia

Stanovené výsledky obsahu sušiny, tuku a zastúpenie jednotlivých mastných kyselín je znázornené v tabuľkách 1. a 2. Výsledky potvrdili, že so zvyšujúcim sa obsahom sušiny, s postupujúcou fenologickou fázou, celé rastliny Rumexu OK2 obsahujú menej tuku. V apríli a máji bola najviac zastúpenou mastnou kyselinou v celej rastline Rumexu OK2 kyselina alfa linolénová (C18:3 n3), ktorá je pre živočíšne organizmy esenciálna. Obsah C18:3 n3 v rastline Rumexu OK2 v mesiaci apríl je porovnateľný s jej obsahom v ľanovom oleji (37,36 % z celkového tuku), ktorý publikoval Herkeľ et al. (2016) a v mesiaci máj je obsah C18:3 n3 dokonca ešte vyšší ako v ľanovom oleji (Tabuľka 1).

Tab. 1 Zastúpenie mastných kyselín v čerstvej hmote Rumexu OK2

	Apríl	Máj	Jún
Sušina g.kg ⁻¹ ČH	99,90±1,06 ^a	169,05±0,07 ^b	563,10±3,58 ^c
Celkové lipidy g.kg ⁻¹ ČH	12,35±0,21 ^a	11,55±0,07 ^b	8,83±0,06 ^c
C16:0	11,61±0,39 ^a	12,35±0,09 ^b	6,33±0,21 ^c
C16:1	0,72±0,00	0,96±0,01	n.d.
C18:0	1,44±0,13	1,33±0,11	1,55±0,02
C18:1cis n9	9,30±0,54 ^a	6,10±0,01 ^b	39,46±0,10 ^c
C18:2 cis n6	27,42±0,59 ^a	23,92±0,40 ^b	39,36±0,16 ^c
C18:3 n3	38,19±1,75 ^a	45,57±0,12 ^b	3,15±0,02 ^c
Σ neidentifikovaných MK	11,32±0,10 ^a	7,51±0,05 ^b	8,52±0,06 ^c
PUFA	65,61±1,16 ^a	69,49±0,52 ^b	43,55±0,08 ^c
MUFA	10,02±0,54 ^a	7,06±0,00 ^b	40,12±0,11 ^c
SFA	13,05±0,52 ^a	15,95±0,48 ^b	7,89±0,11 ^c
Σn3/Σn6	1,39±0,09 ^a	1,91±0,03 ^b	0,11±0,01 ^c
Σn6/Σn3	0,72±0,05 ^a	0,52±0,01 ^a	9,42±0,27 ^b

ČH – čerstvá hmota; MK – mastných kyselín; ^{abc} – v rámci riadku, priemerné hodnoty označené rozdielnym indexom sú medzi sebou štatisticky preukazne rozdielne (P<0,05).

V júni, kedy je už celá rastlina Rumexu OK2 obsahujúca dozreté semienka vysušená, sú mastnými kyselinami s najväčším podielom kyselina linolová (C18:2 cis n6) a olejová (C18:1 cis n9). V mesiacoch apríl a máj je zaujímavý aj pomer n6:n3 mastných kyselín, ktorý je bližší skôr pomeru n6:n3 v ľanovom oleji, alebo v rybom tuku. Pomer n6:n3 v celej rastline Rumexu OK2 v júni je v porovnaní s mesiacmi apríl a máj opačný (9,42) a podobný sójovému oleju, alebo oleju z pšeničných klíčkov (Ivanko, 2012).

Štatistická preukaznosť rozdielov medzi priemernými parametrami stanovenými v jednotlivých mesiacoch je znázornená v tabuľkách 1. a 2. Podľa Ivanka (2012) je práve problematika deficitu omega-3 polynenasýtených mastných kyselín (PUFA n3) vo výžive ľudí a zvierat veľmi aktuálnou a riešenou nielen v aktuálnych vedeckých publikáciách, ale aj v potravinárskom a farmaceutickom priemysle. Aj keď sa rastliny Rumex OK2 v mesiacoch apríl a máj vyznačujú nízkym obsahom tuku, ich tuk vykazuje vysoké zastúpenie C18:3 n3. Konzumáciou týchto rastlín hospodárskymi zvieratami by sa cenná alfa-linolénová mastná kyselina dostala do potravinového reťazca. Ivanko (2011) tvrdí, že konzumáciou takýchto rastlín sa podporí tvorba dlhoreťazcových kyselín eikosapentaénovej (EPA)



a dokosahexaénovej (DHA) v tele zvierat a ľudí. Ďalej však uvádza, že to nevyrieši deficit EPA a DHA v potravinovom reťazci, ale môže to zlepšiť aktuálny stav.

Tab. 2 Zastúpenie mastných kyselín v uvádzanej hmote Rumexu OK2

	Apríl	Máj
Sušina g.kg ⁻¹ UH	125,10±4,82 ^a	193,95±5,73 ^b
Celkové lipidy g.kg ⁻¹ UH	11,20±0,28 ^a	10,05±0,21 ^b
C16:0	11,92±0,08	14,41±1,58
C16:1	0,90±0,03 ^a	1,00±0,00 ^b
C18:0	1,28±0,01	1,87±0,69
C18:1cis n9	5,21±0,16 ^a	7,84±0,25 ^b
C18:2 cis n6	23,60±0,13	25,43±1,24
C18:3 n3	44,18±0,51 ^a	35,01±1,23 ^b
Σ neidentifikovaných MK	12,90±0,11	11,69±0,67
PUFA	67,79±0,39	60,44±2,47
MUFA	6,11±0,19 ^a	8,84±0,25 ^b
SFA	13,20±0,09	19,02±2,89
Σn3/Σn6	1,87±0,03 ^a	1,38±0,02 ^b
Σn6/Σn3	0,53±0,01 ^a	0,73±0,01 ^b

UH – uvádzaná hmota; MK – mastných kyselín; ^{ab} – v rámci riadku, priemerné hodnoty označené rozdielnym indexom sú medzi sebou štatisticky preukazne rozdielne (P<0,05).

Záver

Na základe zistených výsledkov možno konštatovať, že rastliny Rumexu OK2 sa v jarých mesiacoch vyznačujú nízkym obsahom tuku, ale tento tuk obsahuje zaujímavé množstvo omega-3 kyseliny alfa-linolénovej, ktorej je v potravinovom reťazci nedostatok.

PodĎakovanie: Táto práca bola realizovaná v rámci Medzinárodného vyšehradského fondu „Visegrad Scholarship Program V4EAP, 51701049“ a projektu VEGA č. 1/0474/19.

Literatúra

- Hejduk S., Doležal P. 2004. Nutritive value of broadleaved dock (*Rumex obtusifolius* L.) and its effect on the quality of grass silages. In *Czech Journal of Animal Science*, vol. 49(4), p. 144-450. Available from: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/53197.pdf>
- Herkeľ R., Gálik B., Arpášová H., Bíro D., Juráček M., Šimko M., Rolinec M. 2016. Fatty acid profile and nutritional composition of table eggs after supplementation by pumpkin and flaxseed oils. In *Acta Veterinaria Brno*, vol. 85, p. 277-283, <https://doi.org/10.2754/avb201685030277>.
- Ivanko Š. 2011. Cesty riešenia deficitu omega-3 polynenasýtených mastných kyselín vo výžive ľudí a zvierat. In *IX. Kábrtovy dietetické dny*. Brno: Tribun EU s.r.o. Brno. s. 131-138.
- Ivanko Š. 2012. Aktuálne otázky riešenia deficitu polynenasýtených omega-3 mastných kyselín vo výžive zvierat a ľudí. In *Lazarove dni výživy a veterinárnej dietetiky X*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 6. september 2012, s. 115-121.
- Kolláthova R., Hanušovský O., Galik B., Bíro D., Šimko M., Juráček M., Rolinec M., Puntigam M., Slama J.A., Gierus M. 2020. Fatty acid profile analysis of grape by-products from Slovakia and Austria. In *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 23(2), 78–84, <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.02.78-84>.
- Rolinec M., Rakhmetov D., Bíro D., Juráček M., Šimko M., Gálik B., Hanušovský O. 2018a. Nutritional value and fermentation characteristics of silage made from hybrid *Rumex patientia* L. × *Rumex tianschanicus* A. Los (Rumex OK2) in different months during the year. In *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, vol. 21(3), p. 129-134, <https://doi.org/10.15414/afz.2018.21.03.129-134>.
- Rolinec M., Rakhmetov D., Bíro D., Juráček M., Šimko M., Gálik B., Hanušovský O. 2018b. Nutritional value of hybrid *Rumex patientia* L. × *Rumex tianschanicus* A. Los (Rumex OK2) in different periods. In *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, vol. 21(4), p. 197-200, <https://doi.org/10.15414/afz.2018.21.04.197-200>.

Kontaktné adresy: Michal Rolinec, Daniel Bíro, Milan Šimko, Branislav Gálik, Miroslav Juráček, Ondrej Hanušovský, Katedra výživy zvierat, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovensko. E-mail: michal.rolinec@uniag.sk. Dzhamal Rakhmetov, M. M. Gryshko National Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, Cultural Flora Department, Timiryazevska 1, 04014 Kyiv, Ukraine. E-mail: jamal_r@bigmir.net



DRIEŇ OBYČAJNÝ (*CORNUS MAS L.*) A HEMATOLOGICKÉ PARAMETRE ZDF POTKANOV CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS L.*) AND HAEMATOLOGICAL PARAMETERS OF ZDF RATS

Nikoleta Šimonová, Anna Kalafová, Monika Schneidgenová, Rudolf Dupák,
Marianna Schwarzová, Ján Brindza, Marcela Capcarová

Abstract: The aim of our study was to evaluate effect of cornelian cherry (*Cornus mas L.*) on haematological parameters: total number of erythrocytes, leukocytes, thrombocytes, hematocrit, hemoglobin of ZDF rats. To explore the impact of cornelian cherry on *diabetes mellitus* type 2 we used male Zucker Diabetic Fatty rats (n=30), divided into five groups: healthy, thin control Lean (n=6) and ZDF diabetic control C (n=6) was given water for 12 weeks, experimental group K (n=6) was given bonelet a dose of 250 mg.kg⁻¹, to group D was given pulp a dose of 1500 mg.kg⁻¹ and to group DD was given pulp a dose of 2000 mg.kg⁻¹. The blood was analyzed by automatic haematological analyzer Abacus Junior Vet (Diatron®, Vienna, Austria). The results from our experiment were not statistically significant (P > 0,05) and the conclusion from our analyzed data is, that the cornelian cherry did not improved chosen haematological parameters, and future experiments and investigation is needed.

Keywords: *diabetes mellitus* type 2, cornelian cherry, berries, Zucker diabetic fatty (ZDF) rats, haematological parameters

Úvod

Diabetes mellitus je chronická porucha metabolizmu sacharidov, smerujúca k vážnym poškodeniam orgánov (Kasper – Burghardt, 2015; WHO, 2020). Toto ochorenie je jedným z najvýznamnejších problémov na svete (Petrovská, 2012). Drieň obyčajný *Cornus mas L.* je ker alebo nízky opadáajúci strom, z čeľade drieňovitých *Cornaceae*, prirodzene sa vyskytujúci v južnej Európe a juhozápadnej Ázii (Thurzová, 2010; Choudhury et al., 2018). Drieň vykazuje účinky protizápalové, antimikrobiálne, antidiabetické, antiaterogénne, cyto-, hepato-, neuro- a renal-protektívne. Dostupná literatúra dokazuje, že väčšina efektov extraktov drieňa sú vďaka ich zložkám, antokyánom, flavonoidom a iným fenolom, iridoïdom a vitamínom pre ich antioxidantné a iné vlastnosti (Dinda et al., 2016; Szczepaniak, 2019; Vardin et al., 2018; Hosseinpour-Jaghdani, et al. 2017). ZDF potkany sú uznávané a používané ako model pre T2DM (Mohammed-Ali, 2017; Yorek, 2016; Yokoi, 2013). Cieľom našej práce bolo zhodnotiť vplyv drieňa obyčajného na vybrané hematologické parametre ZDF potkanov.

Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

Na základe najnovších štatistík Svetovej zdravotníckej organizácie, *diabetes mellitus* mal za následok za rok 2012 1,5 milióna obetí. Do roku 2030 sa predpokladá nárast úmrtí až na číslo 600 miliónov, resp. 7,7% svetovej populácie. Na Slovensku ročne pribúda priemerne 20 tisíc ľudí a z 90 % prípadov ide o *diabetes mellitus* 2. typu (Kokil et al., 2015; Li, 2017; Perušičová et al., 2017). Faktory ako starnutie, obezita, fyzická inaktivita, zvyšovanie populácie, urbanizácia vedú k ustálenému zvyšovaniu počtu diabetických pacientov 2. typu (Li, 2017). Diabetes vo svojom priebehu vedie k ireverzibilným zmenám cievnej steny a spojivových tkanív a rozvoju dlhodobých cievnych komplikácií (Pelikánová - Bartoš, 2018). Liečenie prediabetických alebo diabetických pacientov s bylinami môže byť alternatívna voľba orálneho hypoglykemického efektu práve preto, že dokazujú znižovanie glykémie, ale zároveň tiež



pomáhajú zlepšovať lipidový profil, antioxidačný profil, kontrolu hypertenzie a iné. Používanie bylín je jednou z prastarých tradícií, ktoré sú stále využívané aj v prítomnosti, pretože majú mechanizmy, ktoré sú vysoko cenené v medicíne (Choudhury et al., 2018). Je dokázané, že bobuľové ovocie má anti-diabetický efekt vďaka schopnosti regulovania signálnych dráh zapojených pri udržiavaní glukózovej homeostázy (Edirisinghe - Burton-Freeman, 2016). Drieň obyčajný obsahuje látky s preukázanou antidiabetickou aktivitou a tými sú predovšetkým antokyány a kyselina urosolová (triterpénoid). Antihyperlipidemickú a protizápalovú aktivitu má predovšetkým iridoid, kyselina loganová (Jayaprakasam, 2006; Czerwińska-Melzig, 2018). Obsah fytochemikálií v rôznych častiach plodu drieňa dosiahol viac ako 101 zložiek (Dinda et al., 2016).

Materiál a metódy

Do experimentu boli zaradené dospelé samce potkanov inbridného kmeňa Zucker diabetic fatty (ZDF), obézne recesívne homozygoty (fa/fa). Ako kontrola bol použitý chudý nediabetický variant Zucker potkanov (Lean), ktorý nevykazoval žiadne fenotypové prejavy fa alely a teda išlo o heterozygota v príslušnom znaku (+/-) alebo o dominantného homozygota (+/+). Voda a krmivo boli poskytované *ad libitum*. Krmivo malo formu granulovaného substrátu. Experiment schválila Etická komisia a Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky pod číslom 2288/16-221. Kontrolné a experimentálne ZDF potkany sme krmili bežným krmivom KKZ-P/M (kompletná krmná zmes pre potkany a myši) s celkovou energetickou hodnotou 10 MJ.kg⁻¹, registračné číslo 6147, Dobrá Voda, Slovenská republika. Potkany boli rozdelené do štyroch experimentálnych skupín nasledovne: chudé neliečené potkany (Lean) kontrola, neliečené, obézne ZDF potkany (C), obézne potkany liečené drieňom (K, D, DD). Kontrolnej skupine (chudé potkany bez diabetu- negatívna kontrola) Lean a pozitívnej kontrole C (obézne diabetické potkany) bola denne podávaná voda gastrickou sondou. Skupine K bola podávaná rozomletá, homogenizovaná kôstka drieňa vo vode v dávke 250 mg.kg⁻¹. Skupine D bola podávaná dužina drieňa v dávke 1500 mg.kg⁻¹ a skupine DD bola dužina drieňa podávaná v dávke 2000 mg.kg⁻¹. Na konci experimentu boli zvieratá anestetizované intraperitoneálnou injekciou s chloralhydrátom (40 mg na 100 g telesnej hmotnosti). Krv bola odobraná injekčne priamo zo srdca, z ľavej komory. V krvnom sére boli stanovené nami vybrané ukazovatele (počet červených krviniek RBC, bielych krviniek WBC, trombocytov PCT, hematokrit HCT a hemoglobín HBG) s použitím hematologického analyzátora Abacus Junior Vet (Diatron®, Viedeň, Rakúsko). Výsledky boli následne štatisticky spracované pomocou programu Sigma Plot 9,0 (Jandel, Corte Madera, USA), použitý one-way ANOVA testu, rozdiely boli porovnané na základe štatistickej významnosti na hladine $P < 0,05$.

Výsledky a diskusia

Diabetes mellitus je jedným z najbežnejších multisystémových ochorení s mikro, aj makroangiopatickými komplikáciami. Pri T2DM hyperglykémia narúša hematologické ukazovatele a spolu s dobre známymi rizikovými faktormi môže viesť k jej degeneratívnym komplikáciám. V našom experimente sme po vyhodnotení výsledkov vo vybraných hematologických parametroch nezistili štatisticky významné zmeny, avšak mierne rozdiely medzi sledovanými skupinami boli zaznamenané. Výsledky vybraných hematologických parametrov sú prezentované v Tab. 1. V liečených skupinách D, DD s prídavkom dužiny drieňa bol v rámci diabetických zmien pozorovaný nepreukazný pokles celkového počtu bielych krviniek medzi liečenými skupinami. Drieň vykazuje protizápalové účinky, domnievame sa, že práve znížené množstvo bielych krviniek indikuje, že v tele je menšie množstvo prozápalových cytokínov, ktoré by upozorňovali na systémový zápal. Mahmoud (2013) vo svojom výskume na potkanoch, ktorým indukoval diabetes podávaním streptozotocínu, zistili



podobné výsledky. Podobné výsledky mali aj Onyebugu et al. (2014) na Winstar potkanoch, ktorí dostávali suplementy *Xylopija aethiopica*, kedy boli preukazne ovplyvnené hematologické parametre. V liečenej skupine DD s prídavkom dužiny drieňa sme zistili mierne nepreukazné ($P > 0,05$) zvýšenie hemoglobínu a hematokritu v porovnaní s liečenou skupinou K, ktorej bola pridávaná kôstka. Zvýšené hodnoty hematokritu môžu indikovať hyperinzulinémiu, inzulínovú rezistenciu, zvýšený krvný tlak, zvýšené množstvo TAG, znížené množstvo HDL cholesterolu a centrálnu obezitu, ako uvádzajú vo svojom výskume Tulloch-Reid et al. (2004), ktorí dosiahli podobné výsledky. Mahmoud (2013) u diabetických Wistar potkanov, ktorí boli liečení flavonoidmi zaznamenal rozdielne výsledky v porovnaní s našimi, kontrolná zdravá skupina mala hematokrit najvyšší. Kôstka drieňa môže mať vďaka obsahu bioaktívnych látok vplyv na znižovanie hematokritu aj cez reguláciu glykémie. V našom výskume pri porovnaní zdravých, štíhlych (Lean) potkanov so skupinou ZDF potkanov neliečených, aj liečených drieňom, sme zaznamenali nepreukazne znižujúce sa množstvo erytrocytov, podobne ako zaznamenali v štúdií Farooqui et al. (2019) a Onyebugu et al. (2014) na Winstar potkanoch, ktorí dostávali suplementy *Xylopija aethiopica*. Počet erytrocytov sa vo výskume v liečenej skupine znižoval. Mahmoud (2013), indukoval diabetes podávaním streptozocínu u Wistar potkanov, zaznamenal rozdielne výsledky pri podávaní citrusových flavonoidov. Flavonoidy pozitívne vplývali na sekréciu erytropoetínu a stimulovali tvorbu červených krviniek z kostnej drene. V liečenej skupine K s prídavkom kôstky sme zaznamenali mierny nepreukazný pokles v celkovom počte červených krviniek a nepreukazné zvýšenie ($P > 0,05$) sme zaznamenali v počte krvných doštičiek v porovnaní s liečenou skupinou DD, ktorej bola pridávaná dužina drieňa. Počet krvných doštičiek bol nepreukazne nižší ($P > 0,05$) v liečenej skupine D s prídavkom dužiny v porovnaní so skupinou K, ktorej bola pridávaná kôstka. Wang et al. (2013) vo svojej štúdií na pacientoch s diabetom popisujú znižujúce sa množstvo erytrocytov v krvnom sére, čo indikuje mikrovaskulárne komplikácie. V našom výskume boli hodnoty trombocytov vyššie v skupine K v porovnaní s nediabetickou skupinou Lean. Dužina drieňa môže mať inhibujúci účinok na nadmernú tvorbu trombocytov, podobne ako zistili Abdollahi et al. (2014) na 40 samcoch Wistar potkanov, ktorí dostávali intraperitoneálne extrakt z drieňa. Takéto výsledky zaznamenali vo svojom výskume aj Czerwińska-Melzig (2018), kedy bolo zaznamenané signifikantné zníženie distribúcie krvných doštičiek. Z toho vyplýva, že antioxidanty môžu redukovať aktivitu krvných doštičiek cez stimuláciu prostacyklínovej syntézy a zneškodnenie voľných radikálov. V skupine DD boli hodnoty hematokritu najvyššie, no aj napriek tomu rozdiely neboli štatisticky signifikantné ($P > 0,05$). Zvýšené hodnoty hematokritu môžu indikovať hyperinzulinémiu, inzulínovú rezistenciu, zvýšený krvný tlak, zvýšené množstvo TAG, znížené množstvo HDL cholesterolu a centrálnu obezitu, ako uvádzajú vo svojom výskume Tulloch-Reid et al. (2004), ktorí dosiahli podobné výsledky. Mahmoud (2013) u diabetických Wistar potkanov, ktorí boli liečení flavonoidmi zaznamenal rozdielne výsledky v porovnaní s našimi, kontrolná zdravá skupina mala hematokrit najvyšší. Medzi jednotlivými skupinami v hodnote krvného farbiva červených krviniek neboli zaznamenané štatisticky významné rozdiely ($P > 0,05$). V porovnaní so skupinami sú hodnoty v skupine K najnižšie a preto môžeme naznačiť potenciálny inhibujúci účinok kôstky na množstvo červeného krvného farbiva, čo znižuje celkovú kyslíkovú kapacitu červených krviniek. Skupiny D a DD dosahujú hodnoty hemoglobínu najvyššie zo všetkých skupín. Naše výsledky korešpondujú s výsledkami Abdollahi et al. (2014), kedy 40 samcom Winstar potkanom aplikovali intraperitoneálne 21 dní hydro-metanolický extrakt *C. mas*, zaznamenali signifikantné zníženie distribúcie hemoglobínu. Kamboh et al. (2018) potvrdili štatisticky významný vplyv flavonoidov na hematologický profil brojlerových kuriat. Podobné výsledky dosiahli aj Onyebugu et al. (2014) na Winstar potkanoch, ktorí dostávali suplementy *Xylopija aethiopica*. Mahmoud (2013) zistil svojim experimentom, že flavonoidy pozitívne vplývajú na



množstvo hemoglobínu, čo pomáha predchádzať anémii a zlepšuje sa viazanie kyslíka na molekuly erytrocytov.

Tab. 1 Hematologické parametre ZDF potkanov

Skupina	Počet leukocytov	Počet erytrocytov	Počet trombocytov	Hemoglobín	Hematokrit
Lean	$3,607 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,632 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$	$954,333 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	157,000 g.l ⁻¹	45,382 %
C	$3,383 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,463 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$	$862,833 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	155,000 g.l ⁻¹	44,970 %
K	$3,187 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,153 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$	$994,167 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	150,000 g.l ⁻¹	43,312 %
D	$2,543 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,412 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$	$860,000 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	160,667 g.l ⁻¹	46,140 %
DD	$2,682 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,377 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$	$861,667 \times 10^9 \cdot l^{-1}$	163,500 g.l ⁻¹	52,802 %

Lean – štíhla kontrola, potkany bez T2DM (voda); C – kontrola, ZDF potkany (voda); K – ZDF potkany, kôstka drieňa (250 mg.kg⁻¹); D – ZDF potkany, dužina drieňa (1500 mg.kg⁻¹); DD – ZDF potkany, dužina drieňa (2000 mg.kg⁻¹)

Záver

Na základe výsledkov nášho experimentu vplyvu drieňa obyčajného na hematologické parametre ZDF potkanov sme zistili, že administrácia *Cornus mas L.* môže mať potenciálne prospešný a zmiernujúci účinok pri symptómoch spojených s ochorením *diabetes mellitus* 2. typu. Konzumácia potravín bohatých na antokyány bola spojená s nižším rizikom T2DM. Dužina drieňa podávaná gastrickou sondou denne v dávkach 1500, 2000 mg.kg⁻¹ (skupiny D,DD) by mohla predchádzať vzniku anémii u pacientov T2DM, v týchto skupinách boli hodnoty celkového množstva leukocytov znížené a zvýšili sa hodnoty hemoglobínu, nepreukazne. Príjem dužiny drieňa taktiež inhiboval obsah trombocytov v krvi ZDF potkanov. Príjem kôstky v koncentrácii 250 mg.kg⁻¹ skupine K mal nepreukazný vplyv na znižovanie hodnôt hematokritu. Príjem kôstky inhiboval tvorbu červených krviniek, ale stimuloval tvorbu trombocytov (nepreukazne vyššie hodnoty). Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, aj napriek tomu, že parametre neboli preukazné, že drieň obyčajný, predovšetkým dužina vo vyšších koncentráciách, môže mať potenciálne prospešný vplyv na zmiernenie hematologických abnormalít spojených s ochorením T2DM. Hoci sú súčasné dôkazy sľubné, na stanovenie úlohy tejto potraviny pri prevencii alebo oneskorení T2DM sú potrebné dlhodobšie kontrolované štúdie.

Pod'akovanie: Táto práca bola financovaná z projektov VEGA 1/0144/19,KEGA 024SPU-4/2018 a APVV 15-0.

Literatúra

1. ABDOLLAHI, B. et al. 2014. Hydro-methanolic extract of cornus MAS L. And blood glucose, lipid profile and hematological parameters of male rats. In: *Iran Red Crescent Med J.* [online], vol. 16, no. 5. DOI: 10.5812/ircmj.17784
2. CHOUDHURY, H. et al. 2018. An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review In: *Journal of Traditional and Complementary Medicine.* [online], vol. 8, no. 3, pp. 361-376. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.012>
3. CZERWIŃSKA, M. E. – MELZIG, M. F. 2018. Cornus mas and Cornus Officinalis—Analogies and Differences of Two Medicinal Plants Traditionally Used. In: *Front Pharmacol.* [online], vol. 22, no. 3, pp. 235-248. DOI: 10.3389/fphar.2018.00894
4. DINDA, B. et al. 2016. Cornus mas L. (cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. In: *Journal of Ethnopharmacology.* [online], vol. 193, pp. 670-690. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.042>
5. EDIRISINGHE, I. – BURTON-FREEMAN, B. 2016. Anti-diabetic actions of Berry polyphenols – Review on proposed mechanisms of action. In: *Journal of Berry Research.* [online], vol. 6, no. 2, pp. 237-250. DOI: 10.3233/JBR-160137



6. FAROOQUI, R. et al. 2019. Role and Significance of Hematological Parameters in Diabetes Mellitus. In: *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*. [online], vol. 6, no. 3. DOI: 10.21276/APALM.2355
7. HOSSEINPOUR-JAGHDANI, F. et al. 2017. Cornus mas: a review on traditional uses and pharmacological properties. In: *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. [online], vol. 14, no. 3. DOI: <https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0137>
8. JAYAPRAKASAM, B., et al. 2006. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (Cornus mas). In: *J. Agric. Food Chem.* [online], vol. 54, no. 1, pp. 243–248. DOI: 10.1021/jf0520342
9. KAMBOH, A.A. et al. 2018. Effect of dietary supplementation of phytochemicals on immunity and haematology of growing broiler chickens. In: *ITALIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE*. [online], vol. 17, no. 4, pp. 1038-1043. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1438854>
10. KASPER, Heinrich - BURGHARDT, Walter. 2015. *Výživa v medicíně a dietetika*. Praha : Grada Publishing, 592 s. ISBN 978-80-247-4
11. KOKIL, G.R. et al. 2015. Type 2 diabetes mellitus: limitations of conventional therapies and intervention with nucleic acid-based therapeutics. In: *Chem. Rev.* [online], vol. 115, pp. 4719–4743. DOI: 10.1021/cr5002832
12. LI, W. et al. 2017. Network Pharmacology Studies on the Bioactive Compounds and Action Mechanisms of Natural Products for the Treatment of Diabetes Mellitus: A Review. In: *Frontiers in Pharmacology*. [online], vol. 8, pp. 74. DOI: 10.3389/fphar.2017.00074
13. MAHMOUD, A.M. 2013. Hematological alterations in diabetic rats - Role of adipocytokines and effect of citrus flavonoids. In: *EXCLI J.* [online], vol. 12, pp. 647–657. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4778348/>
14. MOHAMMED-ALI Z. et al. 2017. *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*. In: *Academic Press*. [online], pp. 379-417. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00016-4>
15. ONYEBUAGU, P.C. et al. 2014. Effects of Dietary Xylopiia aethiopica on Hematological Parameters and Plasma Lipids in Male Wistar Rats. In: *International Journal of Basic, Applied and Innovative Research*. [online], vol. 3, no. 1. ISSN: 2315-5388
16. PELIKÁNOVÁ, T. – BARTOŠ, V. 2018. *Praktická diabetologie, 6. aktualizované a rozšírené vydání*. Maxdorf : Jessenius, 700 s. ISBN 978-80-7345-559-0
17. PERUŠIČOVÁ, J. 2017. *Diabetes Mellitus*. Praha : Maxdorf. 200 s. ISBN 978-80-7345-512-5
18. PETROVSKA, B.B. 2012. Historical review of medicinal plants' usage. In: *Pharmacogn Rev.* [online], vol. 6, no. 11. DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
19. SZCZEPANIAK, O.M. et al. 2019. Functional properties of Cornelian cherry (Cornus mas L.): a comprehensive review In: *Eur Food Res Technol.* [online], vol. 245, pp. 2071–2087, [cit. 2020-02-24]. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03313-0>
20. THURZOVÁ, L. Et al. 2010. *Malý atlas liečivých rastlín*. Osveta : Martin. 420 s. ISBN 978-80-8063-318-9
21. TULLOCH-REID, M.K. et al. 2004. Hematocrit and the Incidence of Type 2 Diabetes in the Pima Indians. In: *Diabetes Care*. [online], vol. 27, no. 9, pp. 2245-2246. DOI: <https://doi.org/10.2337/diacare.27.9.2245>
22. VARDIN, A.M. et al. 2018. The effects of cornus mas hydro-methanolic extract on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. In: *Pharmaceutical Sciences*. [online], vol. 24, pp. 97-103. DOI: 10.15171/PS.2018.15
23. WANG, Z. 2013. Red blood cell count as an indicator of microvascular complications in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. In: *Vasc Health Risk Manag.* [online], vol. 9, pp. 237-243. DOI: 10.2147/VHRM.S43211
24. World Health Organization, 2020. *Diabetes mellitus*. [online]. Dostupné na: <https://www.who.int/health-topics/diabetes>
25. YOKOI, N. et al. 2013. A Novel Rat Model of Type 2 Diabetes: The Zucker Fatty Diabetes Mellitus ZFDM Rat. In: *Journal of Diabetes Research*. [online], pp. 9. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/103731>
26. YOREK, M.A. 2016. Alternatives to the Streptozotocin-Diabetic Rodent. In: *International Review of Neurobiology*. [online], vol. 127, pp. 89-112. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.03.002>

Kontaktné adresy: Ing. Nikoleta Šimonová, doc. Ing. Anna Kalafová, PhD., Ing. Monika Schneidgenová, PhD., prof. Ing. Marcela Capcarová, PhD., Ing. Rudolf Dupák, Katedra fyziológie živočíchov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 610/4, 949 01 Nitra, Slovensko. E-mail: xsimonovan1@uniag.sk, xdupak@uniag.sk, anna.kalafova@uniag.sk, monika.schneidgenova@uniag.sk, marcela.capcarova@uniag.sk. Ing. Marianna Schwarzová, PhD., Katedra výživy ľudí, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: marianna.schwarzova@uniag.sk. doc. Ing. Ján Brindza, CSc., Katedra genetiky a šľachtenia rastlín; Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: jan.brindza@uniag.sk



VPLYV RÔZNYCH FAKTOROV NA OBSAH AROMA-AKTÍVNYCH ZLÚČENÍN V BRYNDZI

THE EFFECT OF DIFFERENT FACTORS ON THE AROMA-ACTIVE COMPOUNDS IN BRYNDZA CHEESE

Jana Štefániková, Michal Miškeje, Miroslava Kačániová

Abstract: The aim of this study was to evaluate the influence of different factors on the aroma-active compounds of traditionally and industrially produced bryndza cheese. The samples were obtained from eight producers in different areas of Slovakia during the ewe's milk production season, from May to September. There was analysis of aroma-active compounds carried out by electronic nose, as well as gas chromatography mass spectrometry. The statistically significant differences were found among "bryndza" cheese samples and these differences were connected with the type of milk, dairies, and seasonal variability.

Keywords: bryndza cheese, ewe's milk cheese, electronic nose; gas chromatography, aroma-active compounds

Úvod

Medzi tradičné slovenské výrobky z ovčieho mlieka patria bryndza a oštiepok [1,2]. Bryndza je od roku 2008 uznaná ako produkt s chráneným zemepisným označením (CHZO) [3]. Ovčí hrudkový syr je základným polotovarom výroby bryndze, ktorý sa scedí pri teplote 18-22 °C za 24 hod. a nechá sa zrieť 3 dni pri 18-20 °C. Výrobný proces pokračuje ďalším dozrievaním pri zníženej teplote 12-14 °C počas 7-10 dní. Dozretý prekysnutý ovčí syr sa spracováva odstránením kôry, lisovaním s cieľom odstrániť srvátku a mletím so soľným roztokom, aby sa získala špecifická krémová štruktúra bryndze [4,5]. Aroma-aktívne zlúčeniny sa všeobecne analyzujú pomocou plynovej chromatografie po extrakcii alebo zakoncentrovaní [5,6]. Sádecká et al. [5] použili mikroextrakciu na tuhú fázu v kombinácii s plynovou chromatografiou s olfaktometrickým detektorom na stanovenie aroma-aktívnych zlúčenín v májovej bryndzi. Identifikovali 25 zlúčenín zo skupiny alkoholov, aldehydov, esterov, ketónov, mastných kyselín a uhlíkovodíkov. Cieľom tejto štúdie bolo získať informácie o zložení aroma-aktívnych zlúčenín v bryndzi od ôsmich slovenských producentov pomocou elektronického nosa a plynovej chromatografie s hmotnostným detektorom. Ďalším cieľom bolo preukázať významný vplyv mliekarní a druhu mlieka na obsah aroma-aktívnych zlúčenín.

Materiál a metódy

Vzorky: Vzorky bryndze boli získané od 8 rôznych producentov zo Slovenska (1–8). Vzorky 1–5 pochádzali z fariem a boli 100 % z ovčieho nepasterizovaného mlieka. Vzorky 6–8 pochádzali z priemyselných mliekarní a obsahovali nepasterizované ovčie mlieko (min. 50 %) a pasterizované kravské mlieko. Odber vzoriek bol v čase Máj–September 2019. Celkovo bolo analyzovaných 40 vzoriek (8 podnikov x 5 mesiacov).

Stanovenie aroma-aktívnych zlúčenín: Stanovenie aroma-aktívnych zlúčenín pomocou elektronického nosa (e-nos) (Heracles II, Alpha M.O.S., Toulouse, Francúzsko) a plynovou chromatografiou s hmotnostným detektorom (GC-MS) (GC 7890B - MS 5777A, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) v kombinácii s mikroextrakciou na tuhú fázu a head-space (HS-SPME) (1 cm 50/30 µm DVB/CAR/PDMS vlákno, Supelco, Bellefonte, PA, USA) sa uskutočnilo podľa Štefánikovej et al. [7]. Každá vzorka sa merala trikrát a výsledky zobrazujú priemerné hodnoty so smerodajnou odchýlkou $SD \leq 5 \%$.

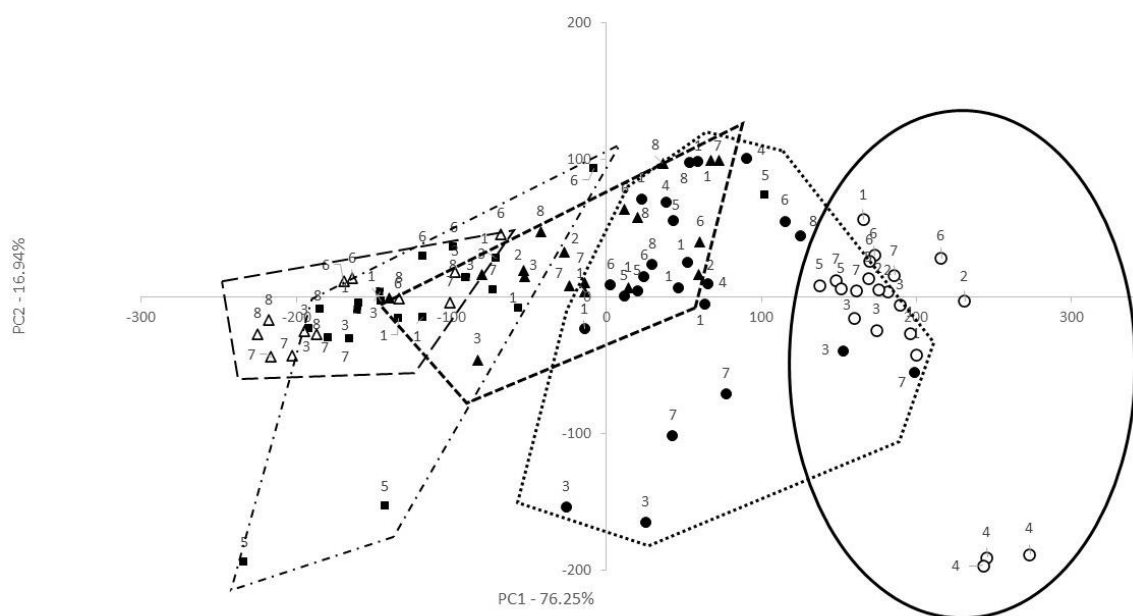


Štatistické vyhodnotenie: Zlúčeniny detegované pomocou e-nosa boli softvérom usporiadané podľa diskriminačnej sily. Zlúčeniny, ktoré mali diskriminant $D > 0,900$ boli identifikované a vybrané pre analýzu hlavných komponentov (PCA, Principal Component Analysis; Alpha Soft V14, Alpha M.O.S.) pre vyhodnotenie vplyvu mesiaca. Na vyhodnotenie HS-SPME/GC-MS výsledkov sa použila metóda analýzy rozptylu (ANOVA, Analysis of Variance) v kombinácii s Tukey's Multiple Comparison Test a nepárovým t-testom ($p < 0,05$) (GraphPad Prism 6.01, GraphPad Software Incorporated, San Diego, CA, USA).

Výsledky a diskusia

Výsledky z analýz pomocou e-nosa boli spracované softvérom Alpha M.O.S. Dvadsať zlúčenín bolo označených s $D > 0,900$ a identifikovaných (výsledky sa neuvádzajú). Aroma-aktívne zlúčeniny boli zo skupiny esterov (7), aldehydov (4), alkoholov (4), voľných mastných kyselín (2), ketónov (2) a identifikovaný bol jeden monoterpén (limonén). Tieto zlúčeniny boli označené ako markery a boli použité na vyhodnotenie PC analýzy. Ako znázorňuje obrázok 1, vzorky bryndze od 8 rôznych producentov zo Slovenska možno rozdeliť do piatich skupín, podľa mesiaca odberu (PC1 76,25 %). Vzorky z mája a septembra sú dostatočne vzdialené od seba a je možné tieto vzorky odlišiť na základe zloženia aroma-aktívnych zlúčenín. Na druhej strane, aróma vzoriek z týchto mesiacov sa prekrýva s arómou vzoriek pripravených v mesiacoch jún, júl a august.

Obrázok 1 PC analýza bryndze od 8 výrobcov zo Slovenska (1–8) (PC1/PC2) na základe výsledkov získaných e-nosom[7].



Skupiny na základe mesiaca výroby:

○—máj, ●—jún, ▲—júl, ■—august, △—september.

Na základe HS-SPME/GC-MS výsledkov bolo identifikovaných 24 zlúčenín; alkoholy (7), voľné mastné kyseliny (6), estery (4), aldehydy a ketóny (4), monoterpén (limonén) a fenyloxy-oxim (tabuľka 1). Najväčšie zastúpenie mal izoamylalkohol, acetoín a kyselina octová. Zlúčeniny ako β -fenyletanol, 2,3-butándion, 2-fenetylacetát a D-limonén boli štatisticky významné pri rozdelení vzoriek podľa typu mliekarní (farmové vs. priemyselné) ($p < 0,05$). Na



druhej strane, vplyv typu mlieka (100 % ovčie vs. zmesné ovčie s kravským) bol ovplyvnený až 11 aroma-aktívnymi zlúčeninami. Veľký význam pri rozlíšení vzoriek na základe typu mlieka mali izoamylalkohol, 2,7-dimetyl-4,5-oktándiol, β -fenyletanol, dl-erytro-1-fenyl-1,2-propándiol, benzaldehyd, kyseliny butánová, pentánová a hexánová, 2-fenetylacetát, acetoínacetát, D-limonén. Šesť zlúčenín stanovených a identifikovaných pomocou e-nosa bolo identifikovaných aj analýzou GC-MS, tu je však potrebné prihliadnúť na to, že neboli vyhodnocované celé chromatografické záznamy, ale len zlúčeniny s $D > 0,900$.

Sedem zlúčenín, ako 2-metylpropanol, etylacetát, etylbutanoát, 2-butanón, izoamylacetát, kyselina hexánová a bután-2,3-dión identifikované pomocou e-nosa boli stanovené vo vzorkách bryndze aj v predchádzajúcich štúdiách [4,5,8,9]. Niektoré zlúčeniny (benzaldehyd, 2,7-dimetyl-4,5-oktándiol) boli opísané ako metabolity baktérií mliečného kysnutia [10,11], zloženie terpénov a voľných mastných kyselín môže byť ovplyvnené výživou zvierat [12] a napríklad 2-metylpropanol môže pochádzať z mlieka [13].

Tab. 1 Priemerné plošné percentá¹ aroma-aktívnych zlúčenín identifikovaných vo vzorkách bryndze od rôznych producentov 1–8 získaných pomocou HS-SPME/GC-MS (n=3, SD \leq 5 %) [7].

Aroma-aktívne zlúčeniny (Plošné percentá %)		1	2	3	4	5	6	7	8
Alkoholy	izoamylalkohol ^{a,2}	5,20	3,22	4,34	2,86	4,64	4,07	10,6	4,56
	2,7-dimetyl-4,5-oktándiol ^a	1,19	1,06	0,93	0,72	1,39	1,01	N ³	0,94
	2,3-butándiol	1,19	3,94	2,03	1,40	1,60	3,30	2,55	2,56
	β -fenyletanol ^{a,b}	0,72	0,97	1,52	1,07	0,75	6,73	2,40	6,82
	dl-erytro-1-fenyl-1,2-propándiol ^a	1,78	0,60	N	N	0,64	0,71	N	N
	1-metoxy-2-propanol	N	N	N	N	N	N	1,59	N
Aldehydy	2-butanol	N	12,36	N	N	N	N	N	N
	benzaldehyd ^a	2,04	0,48	N	0,62	0,79	0,55	N	N
Ketóny	acetoín	6,16	15,2	20,7	18,9	11,3	11,8	18,5	10,6
	2,3-butándión ^b	N	1,95	1,31	3,15	2,55	3,55	2,39	3,24
	2-butanón	N	16,47	N	2,77	N	N	N	N
Voľné mastné kyseliny	kyselina octová	7,42	11,3	7,97	8,95	10,4	9,87	9,42	8,74
	kyselina butánová ^a	4,33	1,80	3,01	5,88	4,02	2,00	2,45	N
	kyselina pentánová ^a	1,15	N	0,74	1,37	1,50	1,00	0,74	2,69
	kyselina hexánová ^a	3,71	2,85	3,94	6,98	4,04	3,74	3,96	3,66
	kyselina oktánová	N	1,37	3,55	4,23	1,76	1,97	4,18	1,52
	<i>n</i> -dekánová kyselina	N	N	N	2,37	N	N	2,51	N
Estery	etylacetát	3,10	3,63	8,07	N	5,26	6,10	3,63	4,65
	2-fenetylacetát ^{a,b}	0,93	0,85	0,60	N	1,37	8,07	N	3,34
	acetoínacetát ^a	N	N	0,90	N	0,77	1,97	1,14	1,05
	izoamylacetát	N	N	N	N	N	1,76	N	3,04
Monoterpén	D-limonén ^{a,b}	1,05	N	N	0,71	0,76	0,50	N	N
Oxim	fenyl-metoxy-oxim	8,54	4,33	3,74	4,46	5,69	4,40	4,20	5,15

¹ Zlúčeniny s obsahom min. 1 % aspoň v jednej vzorke. ² Písmená poukazujú na štatisticky významné rozdiely ($p < 0,05$): a - na základe druhu mlieka; b - na základe typu mliekarni. ³ N-nestanovené.



Záver

Kľúčové aroma-aktívne zlúčeniny boli identifikované pomocou elektronického nosa a plynovej chromatografie s hmotnostným detektorom. V tejto štúdií sme potvrdili zmenu aromatického profilu vzoriek bryndze zo Slovenska vplyvom druhu mlieka, typu mliekarní (pomocou GC-MS) a mesiacom výroby (pomocou e-nosa). Až 11 identifikovaných zlúčenín zohrávalo úlohu pri rozlíšení vzoriek vplyvom mlieka. Priemyselne vyrábané vzorky bolo možné odlíšiť od farmových na základe β -fenyletanolu, 2,3-butándionu, 2-fenetylacetátu a D-limonénu. Májové vzorky mali výrazne odlišné aromatické profily než vzorky vyrobené v mesiaci september.

Financovanie: Tento výskum bol financovaný zo zdrojov APVV-16-0244 grant "Qualitative factors affecting the production and consumption of milk and cheese".

Pod'akovanie: Pod'akovanie patrí Výskumnému centru AgroBioTech, ktoré bolo vybudované v súlade s projektom Building Research Center „AgroBioTech" ITMS 26220220180 a Operačným program výskum a inovácie: "Support of research activities in the ABT RC, 313011T465, spolufinancovanému z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- [1] Zajác, P.; Martišová, P.; Čapla, J.; et al. *Potr. Slovak J. Food Sci.* 2019, 13, 116–130.
- [2] Šnirc, M.; Árvay, J.; Král, M.; et al. *Biol. Trace Elem. Res.* 2020, 196, 639–645.
- [3] Commission Regulation (Ec) No 676/2008 of 16 July 2008 registering certain names in the Register of protected designations of origin and protected geographical indications (Ail de la Drôme (PGI), Všeštarská cibule (PDO), Slovenská bryndza (PGI), Ajo Morado de Las Pedroñeras (PGI), Gamoneu or Gamonedo (PDO), Alheira de Vinhais (PGI), Presunto de Vinhais Or Presunto Bísaro de Vinhais (PGI)), L189. *Off. J. Eur. Union* 2008, 51, 19–20; ISSN: 1725-2555.
- [4] Sádecká, J.; Šaková, N.; Pangallo, D.; et al. *LWT Food Sci. Technol.* 2016, 70, 237–244.
- [5] Sádecká, J.; Kolek, E.; Pangallo, D.; et al. *Food Chem.* 2014, 150, 301–306.
- [6] Boltar, I.; Čanžek Majhenič, A.; Jarni, K.; et al. *J. Food Nutr. Res. Slovak* 2019, 58, 75–84.
- [7] Štefániková, J., Ducková, V., Miškeje, M., et al. *Foods*, 9(9), 1195.
- [8] Šaková N.; Sádecká J.; Lejková, J.; et al. *J. Food Nutr. Res. Slovak* 2015, 54, 239–251.
- [9] Sádecká, J.; Čaplová, Z.; Tomáška, M.; et al. *J. Food Nutr. Res. Slovak* 2019, 58, 382–392.
- [10] Rijnen, L.; Delacroix-Buchet, A.; Demaizieres, D.; et al. *Int. Dairy J.* 1999, 9, 877–885.
- [11] Nájera-Domínguez, C.; Gutiérrz-Méndez, N.; Nevárez-Moorillon, G.; et al. *Dairy Sci. Technol.* 2015, 94, 499–516.
- [12] Moran, L.; Aldezabal, A.; Aldai, N.; et al. *Food Res. Int.* 2019, 126, 108669.
- [13] Cadwallader, K. *Instrumental measurement of milk flavour and colour.* In *Improving the Safety and Quality of Milk*, 1st ed.; Griffiths, M.W., Ed.; Woodhead Publishing: New York, NY, USA, 2010; Volume 2, pp. 181–206.

Kontaktné adresy: Štefániková, Jana; Miškeje, Michal, Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 97946 Nitra, Slovensko. E-mail: jana.stefanikova@uniag.sk, michal.miskeje@uniag.sk. Kačániová, Miroslava, Katedra ovocinárstva, vinohradníctva a vinárstva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 97946 Nitra, Slovensko; University of Rzeszów, Institute of Food Technology and Nutrition 35-601 Rzeszow, Cwiklinskiej 1, Poľsko. E-mail: miroslava.kacaniova@uniag.sk



MONITORING TRÁVNÝCH PORASTOV S VÝSKYTOM BORIEVKY OBYČAJNEJ

MONITORING OF GRASSLANDS WITH THE OCCURRENCE OF JUNIPER

Vladimíra Vargová, Zuzana Kováčiková

Abstract: The aim of the research was to review botanical and soil characteristics as well as the quality of grassland at the sites where the high incidence of juniper (*Juniperus communis* L.) was found. The following research sites with different altitude were monitored: Donovaly (960 m a.s.l.), Kráľová pri Zvolene (650 m a.s.l.), Priechod (578 m a.s.l.), Horné Lazy (656 m a.s.l.), Selčianske sedlo (820 m a.s.l.) and Iliáš (760 m a.s.l.). The botanical composition of grassland was determined. The stands with the occurrence of junipers were characterized by a higher percentage of species from the floristic group of grasses. Recorded grasses are among the less valuable to valuable species. The best value of grassland was found at the sites of Horné Lazy and Kráľová pri Zvolene, although the soil acidity was very high at the Kráľová site. At the other sites, the soil was characterized by a neutral soil reaction, with a high content of humus and nitrogen (N), a low to very low content of phosphorus (P), a good to a high content of potassium (K) and a very high content of magnesium (Mg).

Keywords: grassland, *Juniperus communis* L., altitude, botanical composition, soil reaction

Úvod

Rod *Juniperus* patrí do čeľade *Cupressaceae*, skupiny nahosemenných rastlín (*Gymnospermeae*). *Juniperus* má asi 60 druhov vždyzelených stromov alebo kríkov, široko rozšírených na severnej pologuli, v Európe vrátane ostrovov Stredomoria, Severnej Ameriky a východnej Afriky (Adams, 2011). Populácie borievok rastú v širokej ekologickej amplitúde, v rôznych nadmorských výškach a v širokej škále pôdnych typov (Cooper *et al.*, 2012). V našich podmienkach sa najčastejšie nachádza na ťažko prístupných lokalitách. Borievka obyčajná je málo konkurenčný ihličnatý vždyzelený ker s tvrdými, pichľavými ihlicami v trojpočetných praslenoch. Vyskytuje sa tam, kde je dostatok svetla, je nenáročná na pôdu a vlhu. Thomas *et al.* (2007) uvádza, že uprednostňuje suché pôdy, kamenisté podložie a vlhké podmienky obýva zriedkavo. Je to dvojdomá rastlina. Samičia rastlina produkuje mäsité šišky (galbulae, označované ako bobule, pre ich mäsitú textúru), ktoré majú spočiatku zelenú farbu a za 2 – 3 roky pri dozrievaní majú výraznú modrú farbu (Ward, 2010). Plody borievky obyčajnej sa používajú na výrobu destilátov, likérov, sirupov a iných produktov. V súčasnosti sa zabezpečujú výlučne dovozom z Albánska a Macedónska. Dovážajú sa prevažne plody borievky červenoplodej (*Juniperus oxycedrus* L.) s väčším obsahom cukru, ale s nižším obsahom aromatických látok v porovnaní s plodmi borievky obyčajnej. Ďalej sa borievka využíva aj v kozmetickom, potravinárskom a farmaceutickom priemysle na získavanie éterických olejov. Je dokázané, že podmienky biotopov a vývojové štádiá rastlín majú vplyv na kvalitatívne zloženie a množstvo éterických olejov (Šalamon, Petruška, 2017). Cieľom príspevku je zhodnotenie floristického zloženia a pôdnych podmienok porastov s výskytom borievky obyčajnej v rôznych nadmorských výškach.



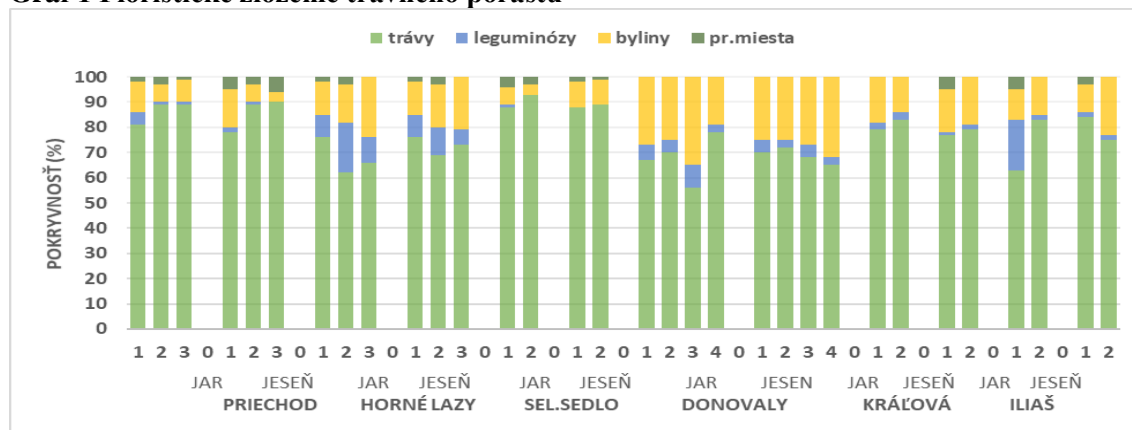
Materiál a metóda

Monitoring trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej sme realizovali v rokoch 2017 – 2019 na šiestich lokalitách v rôznych nadmorských výškach – Donovaly (960 m), Kráľová pri Zvolene (650 m), Priechod (578 m), Horné Lazy (656 m), Iliáš (760 m) a Selčianske sedlo (820 m). Na jar (máj) a jeseň (september) sme analyzovali botanické zloženie pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha (1953). Pôdne vzorky sme odoberali v jesennom období (október) z hĺbky 0 – 150 mm. Z odobratých pôdnych vzoriek sme stanovili pH v KCl, C_{ox}, N, P, K a Mg (podľa Vyhlášky MPRV SR Zz. č. 151/2016), z ktorých sme určili štatistickú významnosť rozdielu jednotlivých lokalít metódou analýzy rozptylu ANOVA pomocou Tukeyovho testu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky

Monitorované porasty borievky obyčajnej sa nachádzali v nadmorských výškach od 578 do 960 m n. m. Lokalitu Donovaly sme monitorovali na jar a jeseň na štyroch stanovištiach. Porasty boli využívané lesnou zverou. Na začiatku vegetačného obdobia dominovali trávy od 52 – 74 % a byliny 22 – 40 % (graf 1). Leguminózy mali len 4 – 6 %-né zastúpenie s prevahou *Anthyllis vulneraria* L. (2 %) a *Trifolium montanum* L. (2 %). Z trávnych druhov prevládali *Arrhenatherum elatius* L. (19 %), *Bromus inermis* L. (8 %) a *Briza media* L. (6 %) a z bylín *Calamintha alpina* L. (3 %), *Salvia verticillata* L. (2 %), *Thymus pulegioides* L. (1 %). Ku koncu vegetácie sa zastúpenie tráv mierne znížilo a zvýšil sa podiel bylenných druhov. Lokalita Kráľová pri Zvolene bola v dolnej časti využívaná pasením oviec a hovädzieho dobytku. V trávnom poraste na začiatku vegetácie dominovali najmä trávy (*Arrhenatherum elatius* L. – 19 %, *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv. – 13 % a *Poa pratensis* L. – 8 %) a byliny (*Cruciata glabra* L. – 2 %, *Galium verum* L. – 2 % a *Hypericum perforatum* L. – 1 %). Na jeseň mierne stúplo zastúpenie bylín a výskyt prázdnych miest (2 %), ktorý bol z dôvodu odstraňovania borievok pod elektrickým vedením. Pokryvnosť leguminóz bola nízka (2 %), hlavne s výskytom druhov *Trifolium repens* L. a *Trifolium pratense* L.

Graf 1 Floristické zloženie trávneho porastu



Na lokalite Priechod prevládali trávy a byliny. Z trávnych druhov na jar dominovali *Festuca rubra* L. (24 %), *Bromus ramosus* L. (15 %), *Arrhenatherum elatius* L. (14 %) a *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. (9 %). Z leguminóz – *Anthyllis vulneraria* L. (3 %) a *Medicago falcata* L. (2 %). Na konci vegetačného obdobia sme zaznamenali mierny nárast tráv a prázdnych miest (5 – 6 %). Tie vznikli z dôvodu rozrytia porastu diviakmi. Zvýšil sa podiel trávnych druhov *Bromus ramosus* L. (17 %) a *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng (15 %). Porast bol využívaný pasením oviec. Na poraste v lokalite Horné Lazy, ktorý bol využívaný



pasením mladého HD, dominovala floristická skupina tráv. Jej podiel ku koncu vegetácie mierne stúpol. Z trávnych druhov v poraste prevládali *Bromus inermis* L. (25 %), *Arrhenatherum elatius* L. (12 %) a *Briza media* L. (6 %). V jarnom období bolo vyššie zastúpenie (28 %) leguminóz s dominanciou *Anthyllis vulneraria* L. (25 %), ktoré sa v priebehu vegetácie znížilo.

Lokalita Iliaš s hromadným výskytom borievok mala trávny porast zložený najmä z tráv, a to až s 80 %-ným zastúpením. Podiel bylín bol 18 % a leguminóz len 2 %. Z trávnych druhov v poraste dominovali *Festuca rubra* L. (28 %), *Bromus ramosus* L. (18 %) a *Arrhenatherum elatius* L. (10 %). Leguminózy boli zastúpené predovšetkým *Vicia tenuifolia* L. a z bylinných druhov dominovali v poraste *Agrimonia eupatoria* L. (2 %), *Daucus carota* L. (4 %), *Galium molugo* L. (2 %) a *Plantago media* L. (2 %). Porast bol využívaný pasením koní, ale v poslednom monitorovanom roku bol porast nevyužívaný. Jedno stanovište na lokalite Selčianske sedlo bolo využívané ovcami. V poraste na jar dominovali trávy s takmer 92 %-ným podielom, byliny 4–7 % a s minimálnym podielom leguminóz. Všeobecne možno konštatovať, že monitorované plochy s výskytom borievky boli charakteristické vyšším zastúpením tráv. Podobne aj Novák (2009) v prvom roku výskumu zaznamenal vyššie zastúpenie tráv. Z trávnych druhov prevládali *Bromus tectorum* L. (20 %), *Arrhenatherum elatius* L. (22 %), *Poa chaixxi* L. (30 %) a *Festuca pratensis* L. Byliny v poraste boli zastúpené nasledovnými druhmi: *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L. a *Cirsium arvense* L. Na jeseň sa zvýšil podiel tráv až na 94 % s dominantným zastúpením *Bromus tectorum* L. (30 %) a *Poa chaixxi* L. (40 %). Leguminózy sa v poraste takmer nevyskytovali. Porast bol využívaný prepásaním ovcami a raticovou zverou. Šalamon a Petruška (2017) uvádzajú, že porasty borievky obyčajnej sa nachádzajú aj v Cerovej vrchovine v lokalite Chrámec, aj v nižšej nadmorskej výške od 196 do 274 m n. m.

Tab. 1 Priemerné hodnoty agrochemických vlastností pôdy

Lokalita	pH/KCl	Cox g.kg ⁻¹	N g.kg ⁻¹	P mg.kg ⁻¹	K mg.kg ⁻¹	Mg mg.kg ⁻¹
Donovaly	6,89 ^c	45,69 ^a	4,57 ^a	1,81 ^a	123,61 ^a	1098,11 ^{bc}
Kráľová	4,58^a	37,65 ^a	3,01 ^a	1,91 ^a	345,18^b	312,19 ^{ab}
Priechod	6,78 ^{bc}	41,71 ^a	3,98 ^a	1,56 ^a	241,08 ^{ab}	1296,9^c
Horné Lazy	6,73 ^{bc}	54,33 ^a	4,83 ^a	1,42 ^a	171,67 ^{ab}	1169,9 ^{bc}
Iliaš	6,73 ^{bc}	44,16 ^a	3,07 ^a	2,31 ^a	337,89 ^{ab}	1167,86 ^{abc}
Sel. sedlo	5,81 ^b	47,91 ^a	4,14 ^a	1,21 ^a	235,00 ^{ab}	168,46 ^a

Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey t-test, P = 0,05).

Na stanovišti Donovaly bola pôdna reakcia neutrálna, v rozpätí od 6,70 – 7,09. Na prvých dvoch lokalitách bol obsah humusu stredný (21,53 – 27,35 g.kg⁻¹ Cox) a na druhých dvoch bol zase veľmi vysoký (58,78 – 75,08 g.kg⁻¹ Cox). Na všetkých stanovištiach bola zásoba fosforu nízka, rovnako aj zásoba draslíka bola nízka až dobrá (206,81 mg.kg⁻¹). Obsah prijateľného horčička sa zistil veľmi vysoký a osciloval od 623,67 – 1510,32 mg.kg⁻¹. Na lokalitách, kde sa prepásala lesná zver bol vyšší obsah horčička, draslíka, humusu. Reakcia pôdy na lokalite Kráľová bola silne kyslá s priemernou hodnotou pH 4,58, s vysokým obsahom humusu a dusíka. Nízke hodnoty pôdnej reakcie sa štatisticky preukazne potvrdili (tab. 1) voči ostatným lokalitám. Zásoba fosforu v pôde bola veľmi nízka s hodnotami len 1,88 – 1,94 g.kg⁻¹. Veľmi vysoký bol obsah draslíka, čo bolo aj signifikantne potvrdené (P < 0,05) voči ostatným lokalitám.

Pôdna reakcia na lokalite Priechod bola neutrálna (6,67 – 6,92). Obsah humusu aj dusíka bol vysoký, zásoba fosforu v pôde nízka a obsah prijateľného draslíka bol dobrý až vysoký.



Zaznamenala sa veľmi vysoká zásoba horčíka, s najväčšou priemernou hodnotou 1269,91 mg.kg⁻¹, so štatisticky preukazným potvrdením. Lokalita Horné Lazy mala pôdnu reakciu neutrálnu (6,69 – 6,71), s veľmi vysokým obsahom humusu a dusíka. Obsah fosforu v pôde sa zistil veľmi nízky, s dobrým obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom prijateľného horčíka. Naše pôdy sú dobre zásobené horčíkom, čo potvrdzujú aj naše zistenia (Kobza et al., 2010). Vysoký obsah humusu, prijateľného dusíka, draslíka a horčíka v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa ich zásoby živín zvyšujú. Dostupnosť živín v pôde sa môže meniť aj vplyvom zrážok, teploty, pôdneho typu a pôdnej reakcie (Maathuis, 2009).

Neutrálna (pH 6,73) pôdna reakcia sa zistila na lokalite Iliaš. Obsahy humusu (44,16 g.kg⁻¹ Cox) a rovnako aj dusíka boli vysoké a hodnota obsahu fosforu bola nízka. Pri pôdnej zásobe draslíka (337,89 mg.kg⁻¹) a horčíka (1167,86 mg.kg⁻¹) sme zaznamenali ich veľmi vysoký obsah. Lokalita Selčianske sedlo bola charakterizovaná slabou kyslou pôdnou reakciou s veľmi vysokým obsahom humusu (61,29 g.kg⁻¹). Zásoba fosforu v pôde bola nízka, s veľmi vysokou hodnotou obsahu draslíka (328,33 mg.kg⁻¹) a dobrou hodnotou obsahu Mg.

Záver

Trávne porasty s výskytom borievky obyčajnej (*J. communis* L.) boli monitorované v rozdielnych nadmorských výškach (578 – 960 m). Lokality sa vyznačovali neutrálnou pôdnou reakciou, výnimkou bola lokalita Kráľová pri Zvolene so silne kyslou pôdnou reakciou (pH 4,58). Pôdy boli charakteristické vysokým obsahom humusu, dusíka, nízkym až veľmi nízkym obsahom prijateľného fosforu, s dobrým až vysokým obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Trávne porasty s výskytom borievky boli špecifické vyšším percentuálnym zastúpením trávnych druhov. Zaznamenané trávy patria medzi menej hodnotné až hodnotné druhy. Byliny a leguminózy mali v porastoch na daných lokalitách menej výrazné zastúpenie. Naše zistenia potvrdili, že rozdielna nadmorská výška a agrochemické vlastnosti pôdy nemajú vplyv na výskyt borievky obyčajnej na trávnom poraste.

PodĎakovanie: Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-14-0843 „Výskum možnosti pestovania borievky (*Juniperus communis* L.) na produkciu plodov“ a úlohy odbornej pomoci „Kvalitná primárna produkcia z trávnych porastov a nevyužitých pôd v horských a podhorských oblastiach“.

Literatúra

1. Adams, R.P (2011). Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. Bloomington, Vancouver, BC, Canada: Trafford Publishing, 2011, pp, 436. ISBN 1426953828
2. Cooper F, Stone RE, McEvoy P, Wilkins T and Reid N (2012). The conservation status of juniper formations in Ireland. 1st Edition, Irish Wildlife Manuals, 2012, 63: 1-224.
3. Kobza, J. et al. (2010). Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In *Agrochémia*, 50 (1), 2010: 3-8.
4. Maloch, M. (1953). Krmovinarstvo. II. diel. Bratislava : SPN, 1953: 616.
5. Maathuis, F. (2009). Physiological function of mineral macronutrients. In *Current Opinion in Plant Biology*, 12 (3), 2009: 250-258.
6. Novák, J. (2009). Trávne porasty po odlesnení a samozalesnení : Tribun EU s.r.o., 2009.
7. Šalomon I., Petruška P. (2017). Quality of juniper essential oil (*Oleum Juniperi*) in the South slovakia and its curative and industrial utilization. *Indian J. Pharmaceut. Edu. and Res.*, 2017, 51(3): 136-140.
8. Thomas PA, El-Barghathi M and Polwart A. (2007). Biological flora of the british isles: *Juniperus communis* L. *J. Ecol.*, 95(6): 1404-1440.
9. Ward LK. (2010). Variation in ripening years of seed cones of *Juniperus communis* L., *Watsonia*. 2010;28(1):11-9.

Kontaktné adresy: Ing. Vladimíra Vargová, PhD., Ing. Zuzana Kováčiková, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica, Mládežnícka 36, 974 23 Banská Bystrica, Slovensko. E-mail: vladimira.vargova@nppc.sk, zuzana.kovacikova@nppc.sk



VYBRANÉ METÓDY IDENTIFIKÁCIE BRAVČOVÉHO MÄSA V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH

SELECTED METHODS FOR PORK MEAT IDENTIFICATION IN MEAT PRODUCTS

Tomáš Vlčko, Jozef Golian, Ladislav Ondruš, Lucia Benešová

Abstract: Food adulteration and food fraud are economically motivated acts for financial gain to the detriment of the consumer. Meat and meat products are the most expensive group of foods, which is the logical reason of their adulteration. There are innumerable ways of adulterating meat, most often it is a question of replacing a more expensive type of meat with a cheaper one, with meat substitutes or it is completely absent. The basic authentication method is sensory analysis, but in many cases it is not sufficient and instrumentation techniques such as chromatographic, spectrometric, immunological or DNA methods are needed.

Keywords: food adulteration, electrophoresis, spectroscopy, NIR, FT-IR, PCR methods

Úvod

Mäso je pre svoje oceňované senzorycké vlastnosti a obsah živín konzumované po celom svete. Z dôvodov zvyšovania cien mäsa na trhu a zároveň znižovania jeho dostupnosti pre vysokú spotrebu môžu byť výrobcovia mäsových výrobkov náchylní k falšovaniu a potravinovým podvodom (Rahmati et al., 2016). Bez ohľadu na prítomnosť rizika ohrozenia zdravia môžu incidenty s potravinovými podvodmi negatívne ovplyvniť predaj výrobkov, nakoľko po prevalení incidentu u spotrebiteľov nastane nedôvera, čo vedie ku negatívnym ekonomickým javom na trhu (Spink et al., 2016). Najviac vyskytujúce sa potravinové podvody sú založené na zámene drahšej zložky výrobku za lacnejšiu, tak aby to nebolo možné rozpoznať rutinnou analytickou metódou. Hlavnými podvodnými praktikami v sektore mäsového priemyslu sú zamieňanie druhov a nahrádzanie mäsových zložiek nemäsovými vo forme rôznych druhov tkanív, krvných derivátov, kolagénu alebo sóje a iných rastlinných zdrojov bielkovín (Abbas et al., 2018). Identifikácia živočíšneho zastúpenia vo výrobkoch je založená v posledných rokoch najmä na princípoch analýz DNA použitím najmä PCR metódy a jej variácii. Viaceré inštrumentálne metódy sú náročné na prevedenie z hľadiska času a financií. Preto je snaha o optimalizáciu a inováciu v oblasti spektroskopických, chemometrických a DNA metód tak, aby bolo možné uskutočňovať analýzy menej náročné, rýchle s možnosťou analyzovania veľkej skupiny vzoriek a zároveň cenovo dostupné (Nunes et al., 2016). Ochrana spotrebiteľov a výrobcov pred nesprávne označenými mäsovými výrobkami, odhalenie podvodných konaní a nekalých praktík falšovania mäsa boli vždy záujmom kontrolných orgánov a výskumných pracovníkov pri vývoji rôznych autentifikačných techník a postupov (Farag et al., 2015).

Fyzikálno-chemické metódy

Danými metódami sa identifikujú druhy mäsa na základe morfológických, chemických a biochemických aspektov, ako je stanovenie obsahu dusíka, hladiny vápnika a železa. Fyzikálne vlastnosti bravčového mäsa a tukov, ako je farba, štruktúra a vôňa sa líšia od ostatných druhov. Bravčové mäso má jemnú konzistenciu, zápach podobný moču s vysokým podielom intramuskulárneho tuku. Vysoký index lomu (RI) bravčového mäsa je ďalším faktorom, ktorý ho oddeľuje od ostatného mäsa s výnimkou konského (Singh, Neelam, 2011). Dané metódy sú limitujúce, v čase kontroly musia byť prítomné anatomické štruktúry mäsa. Chemické metódy sú časovo náročné, ťažkopádne a nedokážu rozlíšiť medzi markerom a inými



zlúčeninami s podobnou aktivitou. Niektoré metódy detekcie sú založené na meraní odrazu elektromagnetických vln. Štruktúrna organizácia a zloženie mäsa z neho robí vysoko anizotropný dielektrický materiál, dielektrické vlastnosti závisia od povahy bunkových membrán, molekulárneho zloženia, zastúpenia iónov, elektrických nábojov na bielkovinách a zmien pH. To je možné využiť na nízko nákladovú detekciu mäsových výrobkov pomocou elektromagnetického žiarenia v mikrovlnnom rozsahu. Tieto metódy sú však spoľahlivé len v prípade nespracovaného surového mäsa, taktiež sú dané postupy ovplyvnené faktormi ako vek, pohlavie alebo úroveň výživy a je ťažké ich interpretovať (Abidin et al., 2016).

NIR spektroskopia

Infračervené žiarenie je elektromagnetické žiarenie v rozsahu vlnových dĺžok $12\,500 - 20\text{ cm}^{-1}$ a vlnových dĺžok 800 až 0,5 mm. Oblasť infračerveného žiarenia nadväzuje na jednej strane na žiarenie viditeľné a na druhej na žiarenie mikrovlnné. Najvýznamnejšie absorpčné pásma, ktoré sa vyskytujú v NIR oblasti sa týkajú vrchných tónov (700 – 1 800 nm) a kombinovaných prechodov (1 800 – 2 700) spôsobených vibráciou väzieb molekúl, ktoré obsahujú najmä -CH, -NH, -OH a -SH funkčné skupiny. Z tohto dôvodu je NIR metóda veľmi často preferovaná (Dvořák, Šustová, Mlček, 2016). Kuswandi et al. (2015) vyvinuli jednoduchú techniku NIR na kvantifikáciu falšovania bravčového mäsa v hovädzej fašírke s použitím metód kalibrácie čiastočných najmenších štvorcov (PLS) aj metód lineárnej diskriminácie (LDA). Modely využívajúce prvé derivačné spektrá presne klasifikovali prítomnosť bravčového mäsa v hovädzích fašírkach. Úzke spojenie medzi intenzitou signálu a úrovňou falšovania sa sledovalo v oblasti vlnových dĺžok od $6\,028$ do $5\,480\text{ cm}^{-1}$ (Schmutzler et al., 2015). López-Maestresales et al., (2019) pomocou systému NIR odlišili čisté hovädzie mäso od bravčového v mäsových guľkách s prijateľnou presnosťou na 80-90 % pomocou modelov PLS-DA. Na detekciu bravčového mäsa v mletom hovädzom mäse bola použitá NIR v rozsahu $12\,500$ až $5\,400\text{ cm}^{-1}$ v spojení s modelmi DA a PLS (Leng et al., 2020). V NIR spektroskopii sú merania nedeštruktívne a neinvazívne, NIR spektrá vykazujú nízku špecifickosť a nevykazujú jasné píky charakteristické pre konkrétnu sledovanú zlúčeninu, sú potrebné rozsiahle štatistické výpočty, aby sa získali užitočné kvalitatívne alebo kvantitatívne informácie.

FT-IR spektroskopia

FTIR spektroskopia využíva Fourierovu transformáciu, matematickú techniku použitú na získanie grafu intenzity každej zaznamenatej jednotlivkej frekvencie. Metóda infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou je založená na spojení interferometra s citlivým detektorom a počítačom (Dvořák, Šustová, Mlček, 2016). Metóda je neinvazívna, vyžaduje minimálnu úpravu vzorky. V použití s chemometriou sú pozitívne zistenia pri rozlišovaní substituentov vzoriek mäsa (Rohman, 2019). V štúdií Kuswandi et al. (2015) boli spektrá modelových vzoriek mletého hovädzieho a bravčového mäsa zaznamenané FTIR spektroskopiou použitím bunky ATR frekvenčnej oblasti $4\,000$ až 700 cm^{-1} . Z výsledkov troch chemometrických analýz LDA, SIMCA a SVM sa zistilo, že model LDA je najlepší, nakoľko dokáže klasifikovať a predpokladať 100 % presnosť. Metódy PLS-DA aj SVM sú vhodné na rozlíšenie druhov mäsa, model PLS-DA vykazuje menšiu chybu predikcie ako model SVM (Yang, et al., 2018).

Elektroforetické metódy

Najskoršou analytickou metódou využívanou na identifikáciu druhov mäsa je elektroforéza. Elektroforéza polyakrylamidového gélu na báze SDS-PAGE (dodecylsulfát sodný) separuje proteíny na charakteristické vzory na základe rozdielov veľkostí molekúl a ich proteínových



pásov. Účinnejší variant je IEF (izoelektrická fokusácia), ktorá je využívaná na identifikáciu živočíšnych druhov v surovom ale aj tepelne opracovanom mäse. Spojením predmetných metód sa dostávame k dvojrozsmernej elektroforéze (2-DE), tá umožňuje simultánne oddelenie tisícov proteínov v jednom géli. Do skupiny elektroforetických metód je zaradovaná aj kapilárna elektroforéza, ktorá je výsledkom kombinácie elektroforézy a chromatografie (Alikord, 2018). Yang et al. (2018) identifikovali rozdielne druhy mäsa na základe myofibrilárnych a sarkoplazmatických proteínov 1D elektroforézou. Mantowska, Pospiech (2011), opísali vo svojej štúdií špecifické rozdiely v molekulovej hmotnosti u jednotlivých izoforiem myozínových reťazcov. Rozdiely v štruktúre primárnych proteínov nemôžu úplne objasniť rozdiely v elektroferogramoch skúmaných druhov. Štúdie potvrdili, že izoformy myozínových reťazcov si po spracovaní zachovávajú druhovo špecifickú elektroforetickú mobilitu, vrátane mletého mäsa. Kombinácia všetkých troch izoforiem (MLC1, 2, 3) umožnila rozlíšenie všetkých šesť druhov mäsa (hovädzie, bravčové, kuracie, morčacie, kačacie, husacie. Mantowska, Pospiech (2013) ďalej analyzovali proteínové profily v surovom mäse a mäsových výrobkoch (párky, klobásy). Zistili, že spotové bielkovinové miesto P892 identifikované ako tropomodulín 4 bolo prítomné v surovom mäse aj vo výrobkoch, ale nie vo fermentovaných výrobkoch, taktiež peroxiredoxín-6 bol identifikovaný ako proteín s elektroforetickou mobilitou jedinečnou pre ošípané. V samostatnej štúdií 2DE boli proteínové extrakty zo vzoriek bravčového a iného mäsa frakcionované, nasledovala denzitometrická analýza. Boli použité dva varianty 2DE a to IPG-2DE (imobilizovaný pH gradient) a NPGE (dvojrozmerná nerovnovážna pH gradientová elektroforéza). Autori uvádzali charakteristické vzorce 100-130 proteínových frakcií, ktoré je možné využiť na detekciu falšovania bravčovým mäsom (Dzantiev et al, 2014). Elektroforetický profil mäsa je ovplyvnený mnohými faktormi: pH mäsa, vek a pohlavie zvierat, výživa, podmienky skladovania mäsa, aktivita natívnych alebo mikrobiologických proteáz, ako aj výskyt polymorfizmu. Preto sú výsledky vo vzorkách spracovaného a falšovaného mäsa neadekvátne a nejednoznačné (Kumar et al., 2015). Okrem toho môže byť 2DE obmedzená svojou opakovateľnosťou a nízkou rozlišovacou schopnosťou. Ďalej je potrebné značné množstvo času na prípravu a analýzu vzoriek. Taktiež môže dôjsť k denaturácii proteínov počas tepelného spracovania, ktoré bránia jej elektroforetickej mobilita. Tento problém možno obísť pomocou IEF, avšak IEF nie je vhodná pre blízke príbuzné druhy mäsa a mrazené mäso (Kumar, et al., 2015).

DNA metódy

Metódy využívajúce analýzu DNA majú výhodu oproti metódam založeným na analýze proteínov, DNA nedegraduje pri pôsobení vyššej teploty, čo z nej robí vhodný marker na analýzy tepelne opracovaných výrobkov. DNA analýzy v oblasti autentifikácie mäsa sa využívajú najmä k identifikácii prítomných živočíšnych druhov. Analýza DNA je vykonávaná najčastejšie prostredníctvom PCR reakcie a jej variácii, ako sú qPCR, RFLP PCR, multiplex PCR, dPCR, ddPCR a iné. PCR reakcia umožňuje ciele namnoženie definovaných úsekov DNA, čo je základným princípom analýzy (Akhatova et al., 2018).

PCR technika je rýchlejšia, jednoduchšia a lacnejšia ako techniky na báze proteínov. Najmä v dôsledku vysokej miery mutácie mitochondriálnej DNA (mtDNA) alebo jadrovej DNA sú tieto metódy užitočné na identifikáciu druhov mäsa. Polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov PCR metóda (RFLP-PCR) je najrozšírenejšou metódou na identifikáciu druhov mäsa a rýb. Najskôr sa uskutočňuje tradičná PCR a následne sa produkty rozkladajú reštrikčnými enzýmami, nakoniec sa môžu enzýmom štiepené produkty vizualizovať agarózovou alebo polyakrylamidovou gélovou elektroforézou. PCR v reálnom čase je tiež známa ako kvantitatívna PCR (qPCR). PCR v reálnom čase je proces, pri ktorom sa produkcia amplifikačných produktov priamo monitoruje počas každého amplifikačného cyklu a môže sa



merať zatiaľ čo reakcia PCR je stále v exponenciálnej fáze. Do mikroskúmvky sa vstreknú fluorescenčné farbivo spojené s cieľovými sekvenciami DNA a primermi. Potom sa výsledky PCR predložia vo forme diagramov, ktoré môžu kvantifikovať vzorku. Digitálna dPCR je alternatívna metóda konvenčnej qPCR pre absolútnu kvantifikáciu a zriedkavú identifikáciu (Alikord, 2018).

Tab. 1 Charakteristika vybraných metód identifikácie mäsa ošípaných

Metóda	Výhody	Limitácie	Zdroj
Fyzikálno-chemické metódy	Jednoduché Nízka cena Ľahké prevedenie	Ťažko interpretovateľné výsledky. Ovplyvnenie vekom, pohlavím, úrovňou výživy. Nevhodné pre mleté mäso. Obmedzená kvantifikácia.	Sing, Neelam (2011)
Elektroforetické metódy	Finančne dostupné	Nízka rozlišovacia sila. Časovo náročná príprava vzoriek. Nevhodné pre tepelne opracované výrobky. IEF nie je vhodná pre príbuzné druhy a mrazené mäso.	Dzantiev et al. (2014) Kumar et al. (2015)
NIR spektroskopia	Neinvazívna a nedeštruktívna	Časovo náročné. Nízka špecifickosť. Rozsiahle štatistické výpočty.	Rady, Adediji (2018)
FTIR spektroskopia	Neinvazívna a nedeštruktívna. Minimálna úprava vzorky. Nenáročná na čas.	Obťažný prenos kalibrácie medzi prístrojmi NIR. Len kvalitatívna technika. Nadbytočné alebo irelevantné dáta z dôvodu spektier obsahujúcich tisíce kanálov.	Karimi et al. (2016) Rohman (2019)
Druhovo špecifická PCR	Jednoduchá, Detekcia malého množstva DNA. Vysoká špecifickosť.	Nemožná kvantifikácia. Variabilná citlivosť. Nerovnaká účinnosť zosilnenia. Degradácia veľkých amplicónov. Náročná optimalizácia v prípade multiplex PCR	Prusakova et al. (2018) Hossain et al. (2019)
PCR-RFLP	Druhovo obmedzený vzor. Lepšia miera presnosti.	Ťažkopádna technika. Obmedzená aplikácia s vysokou priepustnosťou. Niekoľko SNP môže ovplyvňovať ten istý reštrikčný enzým. Nevhodné pre vysoko spracované zmesi.	Rahmati et al. (2016) Hossain et al. (2016)
RT-PCR	Kvantifikácia v reálnom čase. Malé množstvo vzorky. Vysoká senzitivita.	Finančná a časová náročnosť. Metódy založené na farbive sú menej citlivé. Vyžadovaný referenčný materiál. Viacdielne optimalizačné kroky.	Cheng et al. (2016) Lopez-Oceja et al. (2017)
dPCR	Absolútna kvantifikácia. Lepší detekčný limit.	Obmedzený objem vzorky na reakciu. Malý dynamický rozsah kvôli obmedzenému počtu oddielov.	Shehata et al. (2017)

Záver

Falšovanie mäsa a mäsových výrobkov je problém globálnych rozmerov. Mäsové výrobky sú falšované najmä spôsobom zameny drahšej zložky za lacnejšiu na úkor spotrebiteľa. Zo širokej škály identifikačných metód sú najviac preferované metódy analýzy DNA pre svoju vysokú presnosť, špecifickosť a citlivosť. Nevýhodou DNA metód je, že neidentifikujú prítomnú zložku vo výrobku, ale len živočíšny druh, nakoľko DNA je rovnaká z tkaniva príslušného živočíšneho druhu. Ak chceme dokázať prítomný druh mäsa, volia sa metódy na báze analýzy bielkovín, tie sú však problematické v prípade tepelne ošetrovaných výrobkov. Nakoľko spôsoby



falšovania mäsových výrobkov sú z roka na rok sofistikovanejšie, je nevyhnutná inovácia autentifikačných metód aj pre bežné vnútropodnikové kontroly.

PodĎakovanie: Táto práca bola podporená agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0508. Práca bola podporená projektom VEGA 1/0276/18.

Literatúra

1. ABBAS, O. et al. 2018. Analytical methods used for authentication of food of animal origin. In *Food Chemistry* [online], vol. 246, pp. 6-17 [cit. 2019-08-06]. ISSN: 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.11.007
2. AKHATOVA, D. et al. 2018. Aktuální metody používané pro odhalení falšování masa a masných výrobků. In *Chemické listy*. vol. 112, no. 4, pp. 207-2014
3. ALIKORD, M. et al. 2018. Species identification and animal authentication in meat products. In *Food Measure*. vol. 12, no. 1, pp. 145-155, DOI: 10.1007/s11694-017-9625-z
4. ABIDIN Z., et al. 2016. Alternative for Rapid Detection and Screening of Pork, Chicken, and Beef Using Dielectric Properties in the frequency of 0,5 to 50 GHz. In *International Journal of Food Properties* vol. 19, no. 5, pp. 1127-1138. ISSN: 1532-2386. DOI: 10.1080/10942914.2015.1058274
5. DVOŘÁK, L. – ŠUSTOVÁ, K. – MLČEK, J. 2016. BLÍZKÁ INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE JAKO POMOCNÍK PŘI KONTROLE KVALITY POTRAVIN. In *Chemické Listy*, vol. 110, pp. 868-873. ISSN: 1213-7103.
6. DZANTIEV, B. et al. 2014. Imunochromatographic methods in food analysis. In *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 55, pp. 81-93. ISSN: 0165-9936. DOI: 10.1016/j.trac.2013.11.007
7. FARAG, M. et al. 2015. Identification of Different Animal Species in Meat and Meat Products: Trends and Advances. In *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, vol. 3, no. 6, pp. 334-346. ISSN: 2307-8316. DOI: 10.14737/journal.aavs/2015/3.6.334.346
8. HOSSAIN, M. et al. 2019. Heptaplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of beef, buffalo, chicken, cat, dog, pork, and fish in raw and heat-treated food products. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 67, no. 29, pp. 8268-8278. ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b02518
9. HOSSAIN, M. et al. 2016. Double Gene Targeting Multiplex Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Assay Discriminates Beef, Buffalo, and Pork Substitution in Frankfurter Products. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 64, no. 32, pp. 6343-6354. ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02224
10. CHENG, H. et al. 2016. Development of qualitative and quantitative PCR analysis for meat adulteration from RNA samples. In *Food Chemistry*, vol. 192, pp. 336-342. ISSN: 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.06.094
11. KARIMI, S. et al. 2016. Detection and quantification of food colorant adulteration in saffron sample using chemo metric analysis of FT-IR spectra. In *RSC Advances*, vol. 6, no. 27, pp. 23085-23093. ISSN: 2046-2069. DOI: 10.1039/c5ra25983e
12. KUMAR, A. et al. 2015. Identification of species origin of meat and meat products on the DNA basis. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 55, no. 10. pp. 1340-1351. ISSN: 1040-8398. DOI: 10.1080/10408398.2012.693978
13. KUSWANDI, B. et al. 2015. Pork adulteration in commercial meatballs determined by chemo metric analysis of NIR Spectra. In *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 9, no. 3, pp. 313-323. ISSN: 2193-4126. DOI: 10.1007/s11694-015-9238-3
14. LENG, T. et al. 2020. Quantitative detection of binary and ternary adulteration of minced beef meat with pork and duck meat by NIR combined with chemo metrics. In *Food Control*, vol 113,. ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107203
15. LOPEZ-OCEJA, A. et al. 2017. Species identification in meat products: A new screening method based on high resolution melting analysis of cyt b gene. In *Food Chemistry*, vol. 237, pp. 701-706. ISSN: 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.004
16. LÓPEZ-MAESTRESALES, A. et al. Detection of minced lamb and beef fraud using NIR spectroscopy. In *Food Control*, vol. 98, pp. 465-473. ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.12.003
17. MANTOWSKA, M – POSPIECH, E. 2011. Differences in two-dimensional gel electrophoresis patterns of skeletal muscle myosin light chain isoforms between *Bos taurus*, *Sus scrofa* and selected poultry species. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 13, pp. 2449-2456. ISSN: 0022-5142. DOI: 10.1002/jsfa.4486
18. MANTOWSKA, M – POSPIECH, E. 2013. Species-specific expression of various proteins in meat tissue: Proteomic analysis of raw and cooked meat and meat products made from beef, pork and selected poultry



- species. In *Food Chemistry*, vol. 136, no. 3, pp. 1461-1469. ISSN: 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.09.072
19. NUNES, K. et al. 2016. Detection and characterisation of frauds in bovine meat in natural by non-meat ingredient additions using data fusion of chemical parameters and ATR-FTIR spectroscopy. In *Food Chemistry*, vol. 205, pp. 14-22. ISSN: 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.02.158
 20. PRUSAKOVA, V. et al. 2018. A simple and sensitive two-tube multiplex PCR assay for simultaneous detection of ten meat species. In *Meat Science*, vol. 137, pp. 34-40. ISSN: 0309-1740. DOI: 10.1016/j.meatsci.2017.10.017
 21. RADY, A – Adedeji, A. 2018. Assessing different processed meats for adulterants using visible-near-infrared spectroscopy. In *Meat Science*, vol. 136, pp. 59-67. ISSN: 0309-1740. DOI: 10.1016/j.meatsci.2017.10.014
 22. RAHMATI, S. et al. 2016. Identification of meat origin in food products. In *Food Control*, vol. 68, pp. 379-390. ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.04.013
 23. ROHMAN, A. 2019. The employment of Fourier transform infrared spectroscopy coupled with chemometrics techniques for traceability and authentication of meat and meat products. In *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, vol. 6, no. 1, pp. 9-17. ISSN: 2311-7710. DOI: 10.5455/javar.2019.f306
 24. SHEHATA, H. et al. 2017. Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) assays integrated with an internal control for quantification of bovine, porcine, chicken and turkey species in food and feed. In *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0182872
 25. SING, P – NEELAM, S. 2011. Meat Species Specifications to Ensure the Quality of Meat. In *International Journal of Meat Science*, vol. 1, no. 1, pp. 15-26. ISSN: 2071-7113. DOI: 10.3923/ijmeat.2011.15.26
 26. SCHMUTZLER, M. et al. 2015. Methods for detection of pork adulteration in veal product based on FT-NIR spectroscopy for laboratory, industrial and on-site analysis. In *Food Control*, vol. 57, pp. 258-267. ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.04.019
 27. SPINK, J. et al. 2019. Global perspectives on food fraud: results from a WHO survey of members of the International Food Safety Authorities Network (INFOSAN). In *NPJ Science of Food*, vol. 3, no. 12. ISSN: 2396-8370. DOI: 10.1038/s41538-019-0044-x
 28. YANG, L. et al. 2018. Rapid identification of pork adulterated in the beef and mutton by Infrared Spectroscopy. In *Journal of Spectroscopy*, vol. 18. DOI: 10.1155/2018/2413874

Kontaktné adresy: Ing. Tomáš Vlčko, prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Ing. Lucia Benešová, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: tomasvlcko01@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8214-8169>, jozef.golian@uniag.sk, xbenesova@uniag.sk. Ing. Ladislav Ondruš, Ryba Žilina, spol. s r.o., Športová 9, 010 01 Žilina, Slovensko. E-mail: ladislav.ondrus@rybaza.sk



VPLYV ORGANICKÝCH HNOJÍV CONDIT[®] A VEGET NA PRODUKCIU SIATEJ MEZOFYTNEJ LÚKY INFLUENCE OF ORGANIC FERTILIZERS CONDIT[®] AND VEGET ON THE PRODUCTION OF SOWN MESOPHYTIC MEADOW

Luboš Vozár, Peter Kovár, Peter Hric, Miriama Lukács

Abstract: The aim of the work was to assess the impact of selected pelleted organic fertilizers CONDIT[®] and Veget on the production of temporary sown grassland and thus on the possibility of their use in the grasslands fertilizing. The experiment was carried out on a sown mesophytic meadow, intended for feeding purposes, in warm and dry conditions in the locality of Nitra in the years 2011 – 2017. Two variants of organic fertilization were monitored: CONDIT[®] (600 g/m²) and Veget (400 g/m²). They were compared to an unfertilized control. From the analysis of 7-year results from a one-time annual application of organic fertilizers, we found a significantly higher average dry matter production of above-ground phytomass due to CONDIT[®] fertilizer. Veget increased production only very slightly, insignificantly.

Keywords: organic fertilizers, production, temporary sown grassland

Úvod

Medzi najvýznamnejšie faktory pri výrobe krmovín na trvalých trávnych porastoch patrí hnojenie. V porovnaní s pestovaním krmovín na ornej pôde má výživa prirodzených trávnych porastov rad zvláštností. Trávny porast je špecifický tým, že sú v ňom zastúpené rôzne botanické skupiny rastlín – d'atelinoviny, trávy, byliny s rozdielnymi schopnosťami príjmu živín a ich využitia. Pestré zastúpenie makroorganizmov a mikroorganizmov v trávnej mačine značne podporuje účinnosť hnojenia (Ložek a i., 1997).

Trávne porasty umožňujú efektívne využívať hospodárske hnojivá a odpadové vody z poľnohospodárskych podnikov (Harvieu, 2002). V minulosti sa hospodárske hnojivá považovali na lúkach a pasienkoch za základné hnojivá. Pri trávnych porastoch nemá dodávanie organickej hmoty taký význam, pretože obsah humusu a množstvo koreňových zvyškov v činnej mačinovej vrstve sú až na ojedinelé prípady dostatočné. V kombinácii s priemyselnými hnojivami sa môžu uplatniť ich špecifické vlastnosti podporením mineralizácie organickej hmoty. Ich pozitívny vplyv sa prejaví najmä na málo činných chudobných pôdach. Hospodárske hnojivá našli svoje uplatnenie aj vo forme hnojivovej závlahy trávnych porastov (Juriga, 1994).

Cieľom práce bolo posúdenie vplyvu vybraných peletovaných organických hnojív CONDIT[®] a Veget na produkciu dočasného siateho trávneho porastu a tým na možnosť ich využitia pri výžive trávnych porastov.

Materiál a metódy

Experiment s mezofytnou lúkou bol založený na jeseň v roku 2008 v areáli SPU v Nitre, na pokusno-demonštračnej ploche Katedry rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov. Zemepisne je stanovište charakterizované súradnicami 48°18'N 18°05'E. Patrí do veľmi teplej agroklimatickej oblasti a veľmi suchej podoblasti (Špánik, Repa, Šiška, 2002). Nadmorská výška je 160 m n. m. Priemerná teplota vzduchu podľa dlhodobého klimatického normálu (1961 – 1990) je 9,8 °C. Dlhodobý priemer celoročného úhrnu zrážok je 561 mm.



Pôdnym typom je ílovito-hlinitá fluvizem. Agrochemické vlastnosti pôdy pokusného stanovišťa uvádzame v tabuľke 1.

Tab. 1 Agrochemické vlastnosti pôdy pokusného stanovišťa

pH/KCl	mg/kg					C _{ox} (%)
	N _t	P	K	Mg	Ca	
7,09	2282	54	350	680	4900	2,082

Pôdne vzorky sa odoberali z hĺbky 150 mm na jar v roku 2011 pred založením pokusu s uvedenými organickými hnojivami.

Z odobratých pôdných vzoriek boli robené nasledovné stanovenia:

- pH – výmenné v KCl,
- N_t – metódou podľa Kjeldahla,
- P – spektrofotometricky fosfomolybdénovou metódou podľa Mehlich III.,
- K a Ca – plameňometricky vo výluhu podľa Mehlich III.,
- Mg – spektrofotometricky s Titánovou žltou vo výluhu podľa Mehlich III.,
- C_{ox} – podľa Tjurina v modifikácii Nikitina (1972)

Na založenie mezofytnej lúky sa použila miešanka naturálnych ekotypov rastlín z firmy Planta Naturalis (ČR) určená na kŕmne účely (www.plantanaturalis.com). Sejba miešanky sa uskutočnila ručne v odporúčanom množstve 2,0 g/m².

V pokuse boli sledované nasledovné varianty výživy organickými hnojivami:

V1 – **CONDIT**[®] (400 g/m²)

V2 – **Veget** (660 g/m²)

V3 – **nehnojená kontrola**

Organické hnojivá sa aplikovali každý rok jednorazovo na jar pri zazelenaní porastu. Dávka bola prepočítaná na rovnakú úroveň dusíkatej výživy (200 kg/ha).

V rokoch 2009 a 2010 bol porast kosený 2-krát ročne za účelom odburiňovania. Kosby v rokoch sledovania, 2011 – 2017, sa realizovali v termíne určenom podľa fenofáz:

1. kosba – začiatok júna resp. koniec mája (začiatok klasenia dominantných tráv)
2. kosba – o 40 – 45 dní od prvej kosby
3. kosba – o 60 – 65 dní od druhej kosby

Primárna produkcia sa zisťovala určením hmotnosti zelenej hmoty zo zberovej parcelky (4 m²) a následným prepočtom na hektár. Produkcia sušiny sa stanovovala z 0,5 kg vzoriek zelenej hmoty odobratej z jednotlivých variantov. Vzorky z jednotlivých variantov sa po vysušení a zomletí zmiešali a zhomogenizovali. Z takto pripravenej hmoty sa odobrili priemerné vzorky na stanovenie obsahu sušiny pri 105 °C do konštantnej hmotnosti.

Získané údaje sa štatisticky vyhodnotili v programe STATISTICA Cz, version 10 pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) s overením hodnovernosti rozdielov Fischerovým LSD testom pri 95 % hladine pravdepodobnosti (P = 0,05).

Výsledky a diskusia

Hnojenie patrí medzi najúčinnéšie pratotechnické opatrenia, o čom svedčí aj pozornosť venovaná tejto problematike vo viacerých súborných prácach (Klapp, 1971; Krajčovič et al., 1968; Lichner et al., 1977; Velich, 1986; Vozár, 2009; a iní).

Produkcii sušiny jednotlivých variantov v rámci sledovaných rokov trvania pokusu uvádzame v tabuľke 2.

V prvom roku (2011) aplikácie organických hnojív sme zistili najvyššiu produkciu sušiny nadzemnej hmoty pri použití hnojiva CONDIT[®] (7,034 t/ha). Paradoxne vo variante V2 (Veget) sme zaznamenali nižšiu úrodu ako v nehnojenom poraste. Uvedené je možné vysvetliť pravdepodobne nižšou účinnosťou aplikovaním organických hnojív na povrch trávneho



porastu, podobne ako píše Lichner et al. (1977) v prípade použitia maštalného hnoja, pri ktorom vzhľadom na to, že jeho plný účinok sa prejaví až po zaoraní do pôdy, pre trávne porasty ho možno použiť len vo vyšších polohách s dostatkom zrážok, aby pri povrchovej aplikácii nevznikali veľké straty na živinách, organickej hmote a zničením jeho mikroorganizmov. Tomuto názoru nahráva aj vývoj produkcie v jednotlivých kosbách, kedy v oboch prípadoch (CONDIT[®] aj Veget) sme zistili v 2. a 3. kosbe nižšiu produkciu ako na nehnojenej kontrole.

V nasledujúcom roku (2012) sme pozorovali všeobecne vo všetkých variantoch výrazne nižšiu produkciu sušiny nadzemnej hmoty (2 – 3-krát) s maximom znovu vo variante CONDIT[®] (2,857 t/ha). Pripisujeme to zásadnému nedostatku zrážok v priebehu celého roka (<http://www.shmu.sk/sk/?page=1613&id>).

Pozitívny účinok organického hnojenia sa prejavil predovšetkým v ďalších troch rokoch experimentu (2013, 2014 a 2015), keď vo všetkých kosbách, aj celoročných sumách produkcie tento spôsob výživy zvýšil produkciu v porovnaní s nehnojenou kontrolou. V roku 2014 sme zaznamenali aj celkovo najvyššiu produkciu za celé obdobie experimentu (var. CONDIT[®], 13,512 t/ha). V roku 2016 boli úrody relatívne vyrovnané a zaujímavá je vysoká hodnota produkcie v nehnojenom variante (8,955 t/ha).

V poslednom roku (2017), pravdepodobne v dôsledku zníženia podielu vysiatych druhov a agrobotanických zmien (dodávateľ uvádza trvácnosť miešanky 5 – 7 rokov), sa produkcia znížila. Dokonca najnižšiu úrodu sme pozorovali v poraste hnojenom CONDIT[®] om.

Vyhodnotením priemeru za všetkých 7 sledovaných rokov sme zistili preukazné zvýšenie produkcie vplyvom aplikácie hnojiva CONDIT[®] a len veľmi mierny nárast úrody pri výžive Vegetom v porovnaní s nehnojenou kontrolou.

Tab. 2 Produkcia sušiny nadzemnej hmoty /t/ha/

Rok	Kosba	CONDIT [®]	Veget	Kontrola
2011	1. kosba	4,757	3,913	3,747
	2. kosba	1,534	1,009	1,658
	3. kosba	0,743	0,778	1,188
	Σ	7,034	5,700	6,593
2012	1. kosba	2,029	1,481	1,609
	2. kosba	0,316	0,280	0,272
	3. kosba	0,512	0,363	0,381
	Σ	2,857	2,123	2,262
2013	1. kosba	5,540	3,818	3,793
	2. kosba	2,285	1,096	0,733
	3. kosba	0,836	0,450	0,466
	Σ	8,661	5,365	4,992
2014	1. kosba	9,750	4,924	3,568
	2. kosba	1,857	0,789	0,787
	3. kosba	1,905	1,141	1,126
	Σ	13,512	6,854	5,481
2015	1. kosba	6,465	5,668	4,424
	2. kosba	1,553	1,032	0,928
	3. kosba	0,667	0,458	0,378
	Σ	8,685	7,159	5,729
2016	1. kosba	6,434	4,827	4,751
	2. kosba	2,178	2,032	2,430
	3. kosba	0,850	1,334	1,774
	Σ	9,462	8,192	8,955



Tab. 2 Pokračovanie tabuľky

2017	1. kosba	3,945	4,400	4,254
	2. kosba	0,463	0,448	0,421
	3. kosba	0,225	0,253	0,338
	Σ	4,632	5,100	5,012
Ø 2011 - 2017		7,835^b	5,785^a	5,575^a

Rozdielne indexy v riadku indikujú signifikantné rozdiely (Fisherov LSD test, $\alpha = 0,05$, $p = 0,036882$)

Záver

Z analýzy 7-ročných výsledkov z jednorazovej každoročnej aplikácie organických hnojív sme zistili preukazne vyššiu priemernú produkciu sušiny nadzemnej fytomasy vplyvom hnojiva CONDIT[®]. Veget zvyšoval produkciu len veľmi mierne, nepreukazne.

Pod'akovanie: Tento príspevok bol podporený projektami KEGA č. 032SPU-4/2019 Terminologický slovník krmovinnárstva, KEGA č. 019SPU-4/2019 Vysokoškolská učebnica – Zakladanie a ošetrovanie trávnikov, GA SPU 21/2019 Možnosti výživy trávnikov sírou a GA SPU 23/2019 Potenciál využitia slovenských novovyšľachtených medzirodových hybridov tráv v meniacich sa podmienkach klímy.

Literatúra

1. HARVIEU, B. 2002. *Multi – functionality: a conceptual framework for a new organisation of research and development on grasslands and livestock systems*. In: Multi – Function Grasslands (Quality Forages, Animal Products and Landscapes (Derand, J. L., Emile, J. C., Huyghe, Ch., Lemaire, G., eds.), La Rochelle, France, Imprimerie P. Oudin, Poitiers, 2002, p. 1-2.
2. JURIGA, O. 1994. *Základy rastlinnej výroby pre chovateľstvo*. Bratislava : Príroda 1994, 259 s. ISBN 80-07-00059-3.
3. KLAPP, E. 1971. *Wiesen und Weiden*. Paul Parey Verlag. Berlin – Hamburg, 1971, 520 s.
4. KRAJČOVIČ, V. et al. 1988. Štruktúra, funkcie a stabilita trávnych ekosystémov pri rozličnej intenzite hnojenia a využívania. 4. Primárna produkcia a produkčné procesy. In *Vedecké práce*, č.19, Banská Bystrica: VÚLP, 1988, s. 91 – 103.
5. LICHNER, S. et al. 1977. *Lúky a pasienky*. Bratislava: Príroda, 1977, 423 s.
6. LOŽEK, O. – BIZÍK, J. – FECENKO, J. 1997. *Výživa a hnojenie rastlín*. Nitra : VŠP, 1997. 105 s. ISBN 80-7137-348-6.
7. StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
8. VELICH, J. 1986. *Studium vývoje produkční schopnosti trvalých lučních porastů a drnového procesu při dlouhodobém hnojení a jeho optimalizace*. Vysoká škola zemědělská, Videopres Mon, Praha, 1986, 162 s.
9. ŠPÁNIK, R. – REPA, Š. – ŠÍŠKA, B. 2002. *Agroklimatické a fenologické pomery Nitry (1991-2000)*. Nitra: SPU, 2002, 39 s. ISBN 80-7137-987-5.
10. VOZÁR, Ľ. 2009. *Možnosti využitia prerušovanej výživy dusíkom v mätonohovo-hrebenkovom trávnom poraste*. Monografia, Nitra: SPU, 2009, ISBN 978-80-552-0211-2
11. www.plantanaturalis.com
12. www.shmu.sk/sk/?page=1613&id=

Kontaktná adresa: Doc. Ing. Ľuboš Vozár, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Katedra rastlinnej výroby a trávnych ekosystémov, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. E-mail: Lubos.Vozar@uniag.sk

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a
veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

Lesnícka sekcia





OBSAH ENERGIE V POVRCHOVOM HUMUSE A V RASTLINÁCH VYBRANÝCH V DUBOVÝCH EKOSYSTÉMOCH PRI DIAĽNICI

ENERGY CONTENT OF SURFACE HUMUS AND PLANTS SELECTED IN OAK ECOSYSTEMS NEAR THE HIGHWAY

Margita Kuklová, Ivica Pivková, Katarína Sládeková, Ján Kukla

Abstract : The energy content of the surface humus and plants (*Quercus cerris* L., *Prunus spinosa* L., *Melica uniflora* Retz.) selected in oak ecosystems (*Querci-Fageta typica* and *Fagi-Querceta typica*) at distance 30 m from the highway R1 (SW Slovakia) and in 8 km distant control oak ecosystem was determined. The energy content in plants located near the highway varied between 17,646–19,397 J g⁻¹ and on the control plot increased to 17,985–19,512 J g⁻¹. The amount of energy accumulated in the plant assimilatory organs had a significant positive relationship to the distance of the research plots from the highway (*Q. cerris*: $R^2 = 0,679$; *P. spinosa*: $R^2 = 0,998$; *M. uniflora*: $R^2 = 0,427$). However, the difference in energy content found in the leaves taken on the control plot and near the highway was not significant. The relation of the energy content of the surface humus to the distance of the research plots from the highway was not significant ($R^2 = 0,229$).

Keywords: forests, surface humus, plants, energy, roadside, pollution

Úvod

Znečistenie ovzdušia je vážnym problémom v mestských, priemyselných a vidieckych oblastiach (Janík et al. 2015). Významné je najmä znečistenie pochádzajúce z cestnej dopravy (emisie výfukových plynov a sekundárneho prachu, contaminácia pôdy), a tiež vplyv erózie, acidifikácie a straty pôdných živín (Bohemen and Janssen van de Laak, 2003). Výstavba diaľnice narúša pôdno-rastlinný systém, distribúciu látok a tok energie, a tým aj rast rastlín (Zhao et al. 2007). Zníženie rastu a produkcie závisí od druhu a intenzity pôsobenia škodlivého činiteľa (napr. hrúbky prachovej vrstvy) a od druhu rastlín (Thompson et al. 1984). Prach sa ukladá do pôdy, čím dochádza k zmenám fyzikálnych a chemických vlastností pôd a postupne k ovplyvňovaniu koreňového systému rastlín. Výmena látok medzi organizmami a prostredím je spojená s ukladaním a uvoľňovaním energie. Pôdna organická hmota ovplyvňuje mnohé vlastnosti pôdy a hlavné biogeochemické cykly, a preto sa jej stav považuje za dobrý ukazovateľ úrodnosti a degradácie pôdy (Manlay et al. 2007). Vzťah medzi množstvom a energetickým obsahom organických látok je predovšetkým funkciou vegetácie a stanovišťa. Tento vzťah má zvyčajne dynamický charakter a môže reagovať odlišne na meniace sa podmienky prostredia a stresové faktory (Kuklová et al. 2017).

V podmienkach znečistenia ovzdušia môže dôjsť k spomaleniu rozkladu mŕtvych organických látok a tvorby humusu, k akumulácii organických látok na povrchu pôdy a následne k zmenám obsahu živín a energie v pôdach a rastlinách. Cieľom tejto práce bolo preto vyhodnotiť vzťahy medzi množstvom energie akumulovanej v povrchovom humuse pôd a v rastlinách vybraných v lesných ekosystémoch nachádzajúcich sa v blízkosti diaľnice a v referenčnej zóne.

Materiál a metódy

Výskum sa uskutočnil v segmentoch G1 až G4 skupín typov geobiocénov *Querci-Fageta typica* a *Fagi-Querceta typica* nachádzajúcich sa 30 m od rýchlostnej cesty R1 (v úseku



Nitra – Tekovské Nemce) a kontrolnom lesnom ekosystéme G5 vzdialenom 8000 m od rýchlostnej cesty R1. V 70–90 ročných dospelých lesných porastoch so zápojom 70 – 80 % dominujú duby, najmä *Quercus cerris* L., *Quercus polycarpa* Schur, zriedkavo *Quercus robur* L. a *Fagus sylvatica* L. Výrazne je vyvinutá krovinová vrstva zložená hlavne z *Ligustrum vulgare* L., *Prunus spinosa* L., sporadicky sa vyskytujú aj rôzne druhy ruží a hlohov.

V segmentoch lesných ekosystémov G1 až G4 (na $4 \times 3 = 12$ výskumných plochách) a v segmente kontrolného ekosystému G5 (na 3 výskumných plochách) sa obsah energie stanovil v organických horizontoch pôd (Oo) a v listoch dominantných druhov *Quercus cerris* L., *Prunus spinosa* L. a *Melica uniflora* Retz. Vzorky povrchového humusu sa odobrali začiatkom júla 2016 na 15 výskumných plochách, z ktorých každá mala rozlohu $0,1 \text{ m}^2$. Vzorky listov v 3 opakovaníach sa odobrali z dolnej tretiny korún stromov *Quercus cerris* L., z krov *Prunus spinosa* L. a vzorky stoniek *Melica uniflora* Retz. boli získané náhodným odberom na ploche 100 m^2 . Na každej výskumnej plochy sme odobrali cca 150 kusov jedincov z každého druhu.

Vzorky boli sušené pri $80 \text{ }^\circ\text{C}$ počas 48 hodín a po ich zomletí na achátovom mlyne firmy Fritsch ($<0.001 \text{ mm}$) sa hodnota energie akumulovanej vo vzorkách povrchového humusu a rastlín stanovila pomocou adiabatického kalorimetra IKA C-4000 a normy DIN 51900 (Germany). Relatívna odchýlka medzi opakovanými meraniami energie bola limitovaná pod 1%. Štatistické vyhodnotenie údajov sa vykonalo v programe Statistica 9 (StatSoft, 2008) a významnosť rozdielov sa posúdila metódou analýzy variancie (ANOVA) a Fisher-LSD testom. Hodnoty determinačných koeficientov (R^2) boli použité na určenie vzťahov medzi energiou akumulovanou v asimilačných orgánoch rastlín (závislá premenná) a vzdialenosťou plôch od cesty (nezávislá premenná).

Výsledky a diskusia

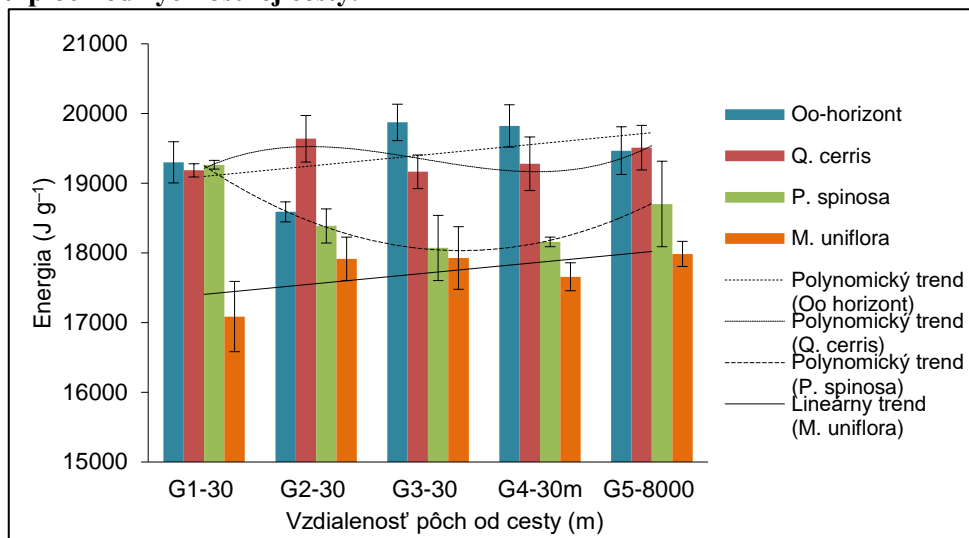
Organické horizonty pôd reagovali odlišne na meniace sa environmentálne a stresové faktory lesných ekosystémov. Vzťah obsahu energie v Oo horizontoch pôd k vzdialenosti plôch od cesty najlepšie charakterizuje lineárny trend. Stupeň závislosti podľa koeficientu determinácie indikuje nízku tesnosť vzťahu ($R^2=0,229$) (Obr. 1).

Z výsledkov je zrejmé, že množstvo energie akumulované v Oo horizontoch kontrolného porastu vzdialeného 8 000 m od diaľnice ($19468 \pm 319 \text{ J g}^{-1}$) nebolo významne vyššie v porovnaní s hodnotou zistenou v porastoch vzdialených 30 m od cesty ($19397 \pm 160 \text{ J g}^{-1}$) (ANOVA, $F_{(1,13)}=1,350$; $p>0,05$) (Obr. 2). Absolútne najnižší obsah energie v Oo horizontoch porastu G2 vzdialeného 30 m od cesty ($18590,3 \pm 145 \text{ J g}^{-1}$) by mohol súvisieť s mimoriadne silne vyvinutou krovitou vrstvou dubového porastu. Gömöryová et al. (2006) uvádza, že zníženie množstva a kvality organických látok vo vrchných vrstvách pôdy môže znamenať zmenu mikroklimatických podmienok lesných geobiocenóz. Podľa Nielsen and Winding (2002) dokážu pôdne mikroorganizmy veľmi rýchlo reagovať na rôzne prírodné a antropogénne tlaky alebo stresy pôsobiace na pôdny ekosystém a oveľa intenzívnejšie vymieňať látky a energiu so svojím prostredím.

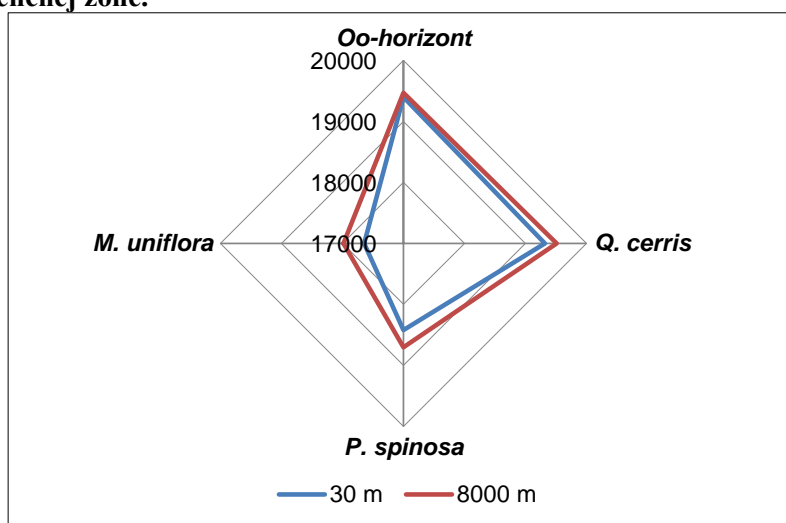
Mieru závislosti množstva energie v listoch *Q. cerris* od vzdialenosti výskumných plôch od rýchlostnej cesty najlepšie indikuje polynomický trend (Obr. 1). Na plochách v blízkosti cesty obsah energie listov dosiahol priemernú hodnotu $19317 \pm 91 \text{ J g}^{-1}$ a na kontrolnej ploche nevýznamne stúpol na hodnotu $19512 \pm 182 \text{ J g}^{-1}$ (ANOVA, $F_{(1,13)}=0,915$; $p>0,05$) (Obr. 2). Absolútne najvyšší obsah energie sa však zistil v listoch cera na ploche G2 (19639 J g^{-1}) s bohatou krovinovou vrstvou, podobne ako v prípade Oo horizontov. Z literatúry je známe, že niektoré druhy zo suchších biotopov môžu mať vyššiu hladinu energie (Dickinson a Kirkpatrick 1985).



Obrázok 1 Vzťah množstva energie v organických (Oo) horizontoch pôd ($R^2=0,229$) a energie v asimilačných orgánoch rastlín (*Q. cerris*: $R^2=0,679$; *P. spinosa*: $R^2=0,998$; *M. uniflora*: $R^2=0,427$) k vzdialenosti plôch od rýchlostnej cesty.



Obrázok 2 Obsah energie v organických (Oo) horizontoch a v listoch dominantných druhov (*Quercus cerris*, *Prunus spinosa*, *Melica uniflora*) rastúcich v blízkosti rýchlostnej cesty a v 8 km vzdialenej referenčnej zóne.



Polynomický trend najlepšie vyjadril tesnosť vzťahu medzi množstvom energie v listoch *P. spinosa* a vzdialenosťou plôch od cesty (Obr. 1). Smerom ku kontrolnej ploche vzdialenej 8 km od cesty obsah energie v listoch trnky pozitívne narastal a indikoval významný vzťah so zvyšujúcou sa vzdialenosťou od cesty ($R^2=0,998$). Na plochách v blízkosti cesty obsah energie v sušine listov trnky varíroval od 18072 do 19266 J g⁻¹, s priemernou hodnotou 18423±170 J g⁻¹. V porovnaní s týmito plochami nebol obsah energie v listoch trnky rastúcej v 8 km vzdialenom kontrolnom poraste (18702±379 J g⁻¹) významne vyšší (ANOVA, $F_{(1,10)}=0,452$; $p>0,05$) (Obr. 2).

Vzťah medzi množstvom energie v asimilačných orgánoch *M. uniflora* a vzdialenosťou plôch od rýchlostnej cesty najlepšie charakterizuje lineárny trend (Obr. 1). Stupeň závislosti podľa koeficientu determinácie indikuje miernu tesnosť vzťahu ($R^2=0,427$). V 30 m vzdialenosti od cesty kolísal obsah energie v sušine listov *M. uniflora* od 17086±505 do 17928±449 J g⁻¹ a na kontrolnej ploche bol len mierne vyšší a dosiahol hodnotu



17984,7±180 J g⁻¹. V porovnaní s plochami situovanými pri ceste bol obsah energie akumulovaný v listoch medničky rastúcej 8 km od cesty síce vyšší, ale štatisticky nie významne vyšší (ANOVA, $F_{(1,13)}=1,350$; $p>0,05$) (Obr. 2).

V lesných ekosystémoch nachádzajúcich sa pri diaľnici R4 Milhošť – Košice (východné Slovensko) množstvo energie v rastlinách tiež zväčša rástlo so zvyšujúcou sa vzdialenosťou od cesty (Kuklová et al. 2019). Vysoké korelácie medzi premennými boli stanovené pre *Negundo aceroides*, *Quercus cerris*, *Quercus rubra* and *Anthriscus sylvestris*. Absolútne najvyšší pokles energie sa vyskytol v rastlinách rastúcich na plochách situovaných najbližšie k rýchlostnej ceste R4. Najviac energie akumulovali listy duba červeného, ale tiež duba cerového, podobne ako v prípade rýchlostnej cesty R1. Tieto dreviny majú v porovnaní s ostatnými druhmi rastlín hrubšie listy s veľkým povrchom, čo zjavne napomáha ukladaniu väčšieho množstva energie. Katakí a Konwer (2001) uvádzajú, že kalorický obsah sa môže líšiť aj v dôsledku rozdielov v biochemickom zložení rastlín.

Záver

Podľa množstva energie akumulovanej v asimilačných orgánoch možno skúmané druhy zoradiť nasledovne: *Q. cerris* > *P. spinosa* > *M. uniflora*. Na plochách vzdialených 30 m od rýchlostnej cesty sa obsah energie v rastlinách pohyboval od 17 646 do 19397 J g⁻¹, kým na kontrolnej ploche bol mierne vyšší a dosahoval 17 985–19 512 J g⁻¹. Vzťah obsahu energie v listoch *Q. cerris*, *P. spinosa* a *M. uniflora* k vzdialenosti plôch od cesty bol významne pozitívny (*Q. cerris*: $R^2=0,679$; *P. spinosa*: $R^2=0,998$; *M. uniflora*: $R^2=0,427$). Na druhej strane, vzťah obsahu energie v Oo horizontoch pôd k vzdialenosti plôch od cesty nebol významný ($R^2=0,229$).

PodĎakovanie: Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV (projekt č. 2/0005/17).

Literatúra

1. Bohemen HD, Janssen van de Laak WH (2003) The influence of road infrastructure and traffic on soil, water, and air quality. *Environ Manage* 31:50–68
2. Dickinson KJM, Kirkpatrick JB (1985) The flammability and energy content of some important plant species and fuel components in the forests of southeastern Tasmania. *J Biogeogr* 12:121–134.
3. Gömöryová E, Gregor J, Pichler V, Gömöry D (2006) Spatial patterns of soil microbial characteristics and soil moisture in a natural beech forest. *Biologia (Bratislava)* 61(Suppl):329–333, Section Botany
4. Janík R, Kellerová D, Schieber B (2015) Spatial and temporal variations in O₃ concentration in Western Carpathian rural mountain environments. *Pol J Environ Stud* 24:2003–2008
5. Katakí R, Konwer D (2001) Fuelwood characteristics of some indigenous woody species of north-east India. *Biomass Bioenergy* 20: 17–23. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00060-X)
6. Kuklová M, Hniličková H, Hnilička F, Pivková I, Kukla J (2017) Toxic elements and energy accumulation in topsoil and plants of spruce ecosystems. *Plant Soil Environ* 63:402–408
7. Kuklová M, Pivková I, Hniličková H, Hnilička F, Kukla J (2019) The impact of highway motor vehicle traffic on energy stores. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 103:604–609.
8. Manlay RJ, Feller C, Swift MJ (2007) Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agric Ecosyst Environ* 19:217–233
9. Nielsen MN, Winding A (2002) Microorganisms as Indicators of Soil Health. National Environmental Research Institute, Denmark. Technical Report No. 388
10. Thompson JR, Mueller PW, Flückiger W, Rutter AJ (1984) The effect of dust on photosynthesis and its significance for roadside plants. *Environ Pollut* 34:171–190.
11. Zhao H, Cui B, Bai J, Ren H (2007) Effects of the expressway on the soil-plant systems in the Longitudinal Range-Gorge Region. *Chin Sci Bull* 52:203–212. doi.org/10.1007/s11434-007-7023-3.

Kontaktné adresy: Ing. Margita Kuklová, CSc., Mgr. Ivica Pivková, PhD., Ing. Katarína Sládeková, Ing. Ján Kukla, CSc., Ústav ekológie lesa, Slovenská akadémia vied, L. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika. E-mail: kuklova@ife.sk, ivica.kovov@gmail.com, sladekova@ife.sk, kukla@ife.sk



PRIMÁRNA PRODUKCIA SPALNÉHO TEPLA SMREKOVÝCH PORASTOV PRIMARY CALORIFIC VALUE PRODUCTION OF SPRUCE STANDS

Rudolf Petráš, Julian Mecko, Ján Kukla, Margita Kuklová

Abstract: In this paper, the calorific value production in above-ground biomass of spruce stands was derived from its volume production. To achieve it, models of spruce growth tables, values of basic density and calorific value in biomass dry matter were used. Values indicating the energy use efficiency were also derived as the ratio of annual accumulation of the calorific value in tree biomass and global solar radiation in Slovakia during the months of May to September. Approximately 8–11 GJ of the calorific value are stored in 1 m³ of tree biomass. Spruce stands with site indices from 20 to 40 accumulate approximately 9,000 to 20,000 GJ ha⁻¹ of the calorific value during their lifetime. Approximately 80% of the calorific value of trees is found in wood and 10% in bark and small-wood individually.

Keywords: spruce, biomass, wood, bark, small-wood, calorific values, energy use efficiency

Úvod

V prípade širšieho využívania biomasy stromov na energetické účely je nutné poznať nielen okamžitý obsah jej spalného tepla, ale aj proces jeho celoživotnej tvorby. Primárnym procesom v jej produkcii je fotosyntetická asimilácia pri ktorej sa z anorganických látok vytvárajú organické a v nich sa akumuluje aj slnečná energia. Akumulované množstvo energie je veľmi variabilné a závisí najmä od množstva biomasy, ktorú konkrétna drevina za určitý čas vyprodukuje. V lesníctve sa celoživotná produkcia porastov vyjadruje len v objemových jednotkách. Príkladom tu môžu byť najmä všeobecne známe rastové tabuľky lesných porastov, ktoré simulujú ich produkciu v závislosti od veku a bonity porastu (HALAJ, PETRÁŠ 1998). Rastové tabuľky obsahujú objem biomasy celých stromov, ale aj ich hlavných častí ako je kmeň, hrubina a tenčina stromu a samostatne aj ich drevo a kôra. Takéto delenie biomasy stromov je obvyklé hlavne pre účely jej priemyselného spracovania. V súčasnosti však môže poslúžiť aj na jednoduchý prepočet objemu biomasy na jej hmotnosť a kapacitu spalného tepla. K tomu je potrebné poznať hustotu [kg.m⁻³] biomasy, ale aj spálne teplo jej sušiny [J.g⁻¹].

Najnižšiu hustotu dreva majú mäkké listnaté dreviny za ktorými nasledujú ihličnaté a tvrdé listnaté dreviny. POŽGAJ et al. (1997) udávajú napr. pre drevo smreka, jedle a topoľa 370 kg.m⁻³, pre borovicu 440 kg.m⁻³, pre buk 560 kg.m⁻³ a pre agát a hrab 600-650 kg.m⁻³. KLAŠNJA, KOPITVIČ (1999) udávajú pre biomasu mladých stromov vrbu hustotu 377–402 kg.m⁻³ a pre agát 576-580 kg.m⁻³. Trendelenburg (1939) in ŠMELKO et al. (1992, p. 140) uvádza pre ihličnaté dreviny hustotu 370–470 kg.m⁻³ a pre tvrdé listnaté dreviny 510-570 kg.m⁻³. Podobné hodnoty uvádzajú aj KNIGGE, SCHULZ (1966) in Pretzsch (2009, p. 67). Pre topole 377 kg.m⁻³, ihličnaté dreviny približne 380-490 kg.m⁻³, tvrdé listnaté dreviny 520-560 kg.m⁻³ a pre agát až 650 kg.m⁻³. POŽGAJ et al. (1997), HUSCH et al. (2003) a PETRÁŠ et al. (2010) uvádzajú, že hustota dreva sa mení nielen podľa drevín, ale aj podľa polohy na strome. V prípade prepočtov množstva biomasy z objemových na hmotnostné jednotky je potrebné poznať hustotu aj podľa jednotlivých komponentov. Konkrétne hustotu hrubého dreva, kôry a tenčiny. PETRÁŠ et al. (2010) zistili pre uvádzané frakcie biomasy dvoch topoľových klonov priemerné hustoty v rozpätí 350-470 kg.m⁻³. V nadväznosti nato pokračoval výskumom hustoty biomasy smreka,



borovice, jedle a smrekovca (PETRÁŠ et al. 2019a). Ich priemerná konvenčná hustota je v rozpätí 373–508 kg.m⁻³ pre drevo, 333–551 kg m⁻³ pre kôru a 406–535 kg m⁻³ pre tenčinu.

Stanovené boli aj hodnoty spalného tepla jednotlivých frakcií biomasy. ELLENBERG (1986, p. 331) in Pretzsch (2009, p. 90) zistil pre kmeňové drevo smreka hodnoty 20,36–20,79 MJ.kg⁻¹ a 20,34–21,14 MJ.kg⁻¹ pre konáre a korene s kôrou. Spalné teplo buka je 19,72–20,10 MJ.kg⁻¹ pre drevo kmeňa, konárov a koreňov a 20,78–23,13 MJ.kg⁻¹ pre kôru. KLAŠNJA, KOPITOVIČ (1999) udávajú pre drevo vrby spalné teplo 16,4–23,2 MJ.kg⁻¹ a pre agát 21,9–24,2 MJ.kg⁻¹. Hodnoty spalného tepla kôry sú u nich o 1,5–5,5 MJ.kg⁻¹ nižšie. OSZLÁNYI, BISKUPSKÝ (1979) stanovili spalné teplo pre drevo, kôru a listy hraba, javora poľného, duba zimného a duba cera v rozpätí 18,12–20,65 J.mg⁻¹. PETRÁŠ et al. (2013) stanovili pre topoľové klony priemerné hodnoty spalného tepla dreva 18430 J.g⁻¹, tenkej kôry 18 029 J.g⁻¹ a hrubej kôry (borky) 17 838 J.g⁻¹. LARCHER (2003) udáva, že dreviny sú bohatšie na energiu ako byliny a všeobecne platí, že energetický obsah závisí priamoúmerne od obsahu uhlíka v substancii. Z rastlinných substancií majú najväčší energetický obsah lignin 26,4, lipidy 38,9 a terpény až 46,9 kJ.g⁻¹.

Okrem konkrétnej hodnoty spalného tepla je dôležité poznať aj schopnosť využívať globálnu slnečnú radiáciu drevinami, najmä vo vzťahu k iným, napr. aj technickým spôsobom jej získavania. Je definovaná ako pomer akumulovanej energie v biomase stromov v poraste a globálnej slnečnej energie, ktorá dopadá na povrch tohto porastu. PRETZSCH (2009) použil pre Nemecko priemernú ročnú globálnu radiáciu 36 000 GJ.ha⁻¹. Pre čistú drevnú produkciu smreka, buka, borovice a duba vypočítal koeficienty efektívneho využívania slnečnej energie v rozpätí 0,005–0,009. To znamená, že na produkciu dreva sa z ročnej slnečnej radiácie využíva len 0,5–0,9 %. Energetickú efektívnosť akumulácie spalného tepla v biomase hodnotí aj LARCHER (2003). Vyjadruje ju v percentách ako pomer akumulovanej energie v nadzemnej biomase stromov porastu a slnečnej energie, ktorá dopadá v rovnakom čase na zemský povrch. Pre lesné porasty udáva limit 2 %, ale pre väčšinu drevín hodnoty pod 1 %.

Cieľom práce je odvodiť produkciu spalného tepla v nadzemnej biomase (dreva, kôry a tenčiny) smrekových porastov a posúdiť energetickú efektívnosť jej tvorby počas ich života.

Materiál a metódy

Odvodila sa produkcia spalného tepla v nadzemnej biomase prepočtom z jej objemovej produkcie. Použili sa k tomu modely rastových tabuliek smrekových porastov (HALAJ, PETRÁŠ 1998), hodnoty hustoty biomasy (PETRÁŠ et al. 2019a) a hodnoty spalného tepla sušiny (PETRÁŠ et al. 2019b).

Rastové tabuľky sú v tvare matematických modelov a simulujú objem biomasy VB v m³.ha⁻¹ v závislosti od veku t a bonity porastu q :

$$VB[m^3 \cdot ha^{-1}] = f(t, q) \quad (1)$$

Biomasu tvorí drevo, kôra a tenčina stromov a ich objemy sú pre porast združený, hlavný, podružný, celkovú produkciu, ale aj pre celkový bežný a celkový priemerný prírastok.

Modelové hodnoty konvenčnej hustoty a spalného tepla v sušine jednotlivých frakcií biomasy sú podľa PETRÁŠA et al. (2019a,b). Z modelových hodnôt konvenčnej hustoty D [kg.m⁻³] a spalného tepla sušiny $CVDM$ [J.g⁻¹] sa vypočítal obsah spalného tepla v objemovej jednotke každej frakcie CV [GJ.m⁻³]:

$$CV [GJ \cdot m^{-3}] = D [kg \cdot m^{-3}] \cdot CVDM [J \cdot g^{-1}] \cdot 10^{-6} \quad (2)$$

Produkcia spalného tepla celých porastov sa vypočítala dosadením priemerných hodnôt spalného tepla [GJ.m⁻³] do vzťahu (1). Výsledný model potom vyjadruje produkciu spalného tepla CV [GJ.ha⁻¹] smrekových porastov v závislosti od ich veku t a bonity q podľa vzťahu:

$$CV[GJ \cdot ha^{-1}] = f(t, q) \quad (3)$$



Energetickú efektívnosť akumulácie slnečnej energie počas života porastu vyjadruje pomer akumulovanej energie v nadzemnej biomase stromov a slnečnej energie, ktorá dopadá v rovnakom čase na zemský povrch, resp. plochu porastu. Pre pomery na Slovensku sa použila priemerná ročná globálna radiácia z Meteorologického observatória Geofyzikálneho ústavu Slovenskej akadémie vied v Mlyňanoch. Observatórium má nadmorskú výšku 195 m, zemepisnú šírku $\varphi=48^{\circ}19' N$ a zemepisnú dĺžku $\lambda=18^{\circ}20' E$. OSTROŽLÍK (2003) udáva pre toto observatórium za roky 1970-2002 priemerné globálne žiarenie $436,212 \text{ kJ}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{rok}^{-1}$, čo je $43\,621,2 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{rok}^{-1}$. Okrem toho udáva aj percentuálne rozdelenie ročného globálneho žiarenia podľa kalendárnych mesiacov (tab. 1).

Tab 1 Percentuálne rozdelenie ročného globálneho žiarenia (priemer rokov 1970-2002)

Mesiac	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
%	2,5	4,3	7,6	10,6	13,9	14,8	14,7	12,8	8,6	5,7	2,6	1,9

Pri výpočte energetickej efektívnosti akumulácie slnečnej energie smrekovými porastami sa neuvažovalo s celoročným žiarením, ale len so žiarením v mesiacoch máj - september, ktoré tvorí 64,8 % z celoročného žiarenia.

Výsledky a diskusia

Smrek má priemerne v 1 m^3 dreva 7,59 GJ, v kôre 8,64 GJ a v tenčine 11,10 GJ spalného tepla (tab. 2). Najvyšší obsah spalného tepla je v tenčine a súvisí s jej najvyššou hustotou (535 kg m^{-3}) a najvyšším spalným teplom ($20\,752 \text{ J g}^{-1}$) v 1 grame sušiny.

Tab. 2 Konvenčná hustota a obsah spalného tepla v smrekovom dreve, kôre a tenčine

Parameter	Drevo	Kôra	Tenčina
Konvenčná hustota ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	373	425	535
Spalné teplo (J g^{-1})	20 338	20 338	20 752
Spalné teplo (GJ m^{-3})	7,59	8,64	11,1

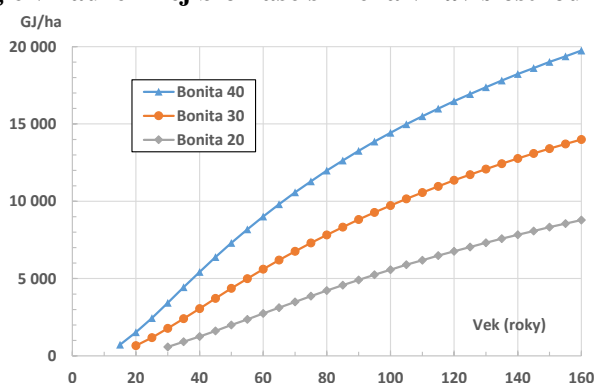
Tieto poznatky sú významné najmä pri úvahách o priemyselnom využívaní smrekovej biomasy. Drevo má v 1 m^3 najmenej spalného tepla a aj z tohto dôvodu je účelné ho spracovávať doterajším mechanickým a chemickým spôsobom. Kôra má oproti drevu vyššie spalné teplo o $1,05 \text{ GJ m}^{-3}$ a efektívnosť jej energetického využívania znásobuje aj fakt, že náklady na jej výrobu, vrátane dopravy k miestu spotreby, sa účtujú na položku priemyselné drevo. Je potrebné zdôrazniť, že vyšší energetický potenciál, oproti kmeňovému drevu približne o $3,51 \text{ GJ m}^{-3}$, je v tenčine (konároch) korún stromov. JAMNICKÁ et al. (2014) odvodila podobné hodnoty pre biomasu topoľových klonov. Najviac spalného tepla ($8,4$ a $8,7 \text{ GJ m}^{-3}$) má tenčina, potom drevo $7,3$ a $7,8 \text{ GJ m}^{-3}$ a najmenej $6,9$ a $7,0 \text{ GJ m}^{-3}$ má kôra. Vyšší obsah spalného tepla v tenčine korešponduje pravdepodobne s vyšším zastúpením rastlinných substancií ako sú lignin, lipidy a terpény (LARCHER 2003). Smreková biomasa má v porovnaní s topoľovou vyšší obsah spalného tepla najmä kvôli obsahu živice.

Objemová produkcia smrekových porastov sa prepočítala na produkciu spalného tepla celej stromovej biomasy (spolu drevo, kôra, tenčina) podľa vzťahu (3), prostredníctvom matematických modelov rastových tabuliek (HALAJ, PETRÁŠ 1998) a hodnôt spalného tepla (GJ m^{-3}) v tabuľke 2.

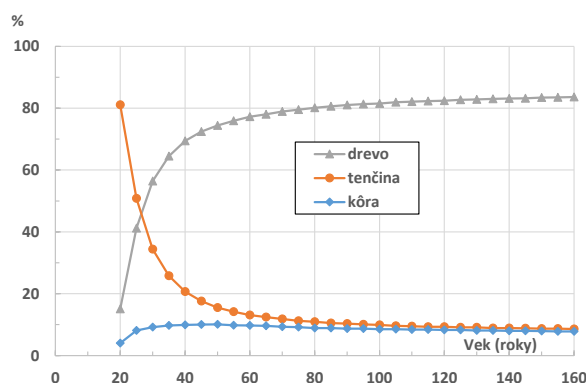
Celková produkcia energie (obr. 1) sa s vekom porastu zvyšuje podľa rastových kriviek a je výrazne odstupňovaná podľa bonít porastov. Vo veku 160 rokov a bonite 20, 30 a 40 dosahuje obsah energie približne $8\,800$, $14\,000$ a $19\,700 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$. V dospelých porastoch je to priemerne okolo $8,0 \text{ GJ m}^{-3}$ stromovej biomasy. V mladých porastoch sa priemerné hodnoty zvyšujú na úroveň $10,0$ – $10,5 \text{ GJ m}^{-3}$. V celom vekovom rozsahu porastov sú priemerné

hodnoty energie v 1 m^3 vyššie pri nižších bonitách. V jednotlivých frakciách biomasy sa energia akumuluje rozdielne (obr. 2). S vyšším vekom porastov sa jej podiel zvyšuje v dreve, ale znižuje v kôre a najmä v tenčine. Pri priemernej bonite 30 a veku porastov 160 rokov sa nachádza v dreve približne 83 %, v tenčine 9 % a v kôre len 8 % energie stromov. Ročné prírastky celkovej produkcie energie pre bonity porastov 20–40 (obr. 3) kulminujú približne vo veku 30–60 rokov s hodnotami približne $76\text{--}200 \text{ GJ ha}^{-1}$. S vyšším vekom sa výrazne znižujú a vo veku 160 rokov sú už len v rozpätí hodnôt $44\text{--}72 \text{ GJ ha}^{-1}$. Priemerná ročná produkcia energie pre bonity porastov 20–40 kulminuje približne vo veku 70–115 rokov s hodnotami $56\text{--}151 \text{ GJ ha}^{-1}$. Vo veku tejto kulminácie je potom účelné lesné porasty aj rúbať. Vo vyššom, ale najmä v nižšom veku sa dosiahne už len nižšia priemerná ročná produkcia spalného tepla.

Obrázok 1 Obsah energie v nadzemnej biomase smreka v závislosti od veku a bonity porastov



Obrázok 2 Podiel energie v dreve, kôre a tenčine smrekového porastu bonity 30 v závislosti od jeho veku

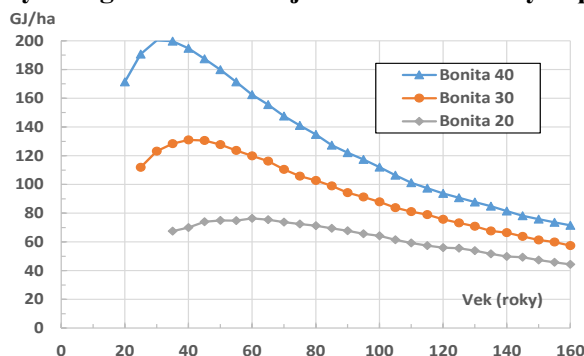


Vývoj efektívnosti akumulácie energie slnečného žiarenia (obr. 4) má vo vzťahu k veku a bonite porastov veľmi podobný tvar ako vývoj ročných prírastkov v produkcii energie. Najvyššie využitie globálneho žiarenia, približne 0,7 % dosahujú porasty najvyšších bonít vo veku približne 30 rokov. S nižšou bonitou a vyšším vekom sa tieto hodnoty výrazne znižujú a v 160 rokoch dosahujú už len 0,16–0,25 %. PRETZSCH (2009) udáva pre smrek a borovicu v Nemecku hodnoty 0,8–0,9 % a pre listnaté dreviny len 0,5–0,6 %. Potrebne je ale zdôrazniť, že počítal s celoročným globálnym žiarením $36\,000 \text{ GJ}$ na hektár a v našom prípade sme uvažovali len so žiarením počas mája až septembra, s hodnotou $28\,267 \text{ GJ}$ na 1 ha. Uvedený autor okrem toho uvažoval s ročnými prírastkami z národnej inventarizácie lesov, ale len pre hrubinu s kôrou (merchantable volume). Je pritom všeobecne známe, že objem celej nadzemnej stromovej biomasy je vyšší. Pri ihličnatých drevinách približne o 8–10 % a pri listnatých

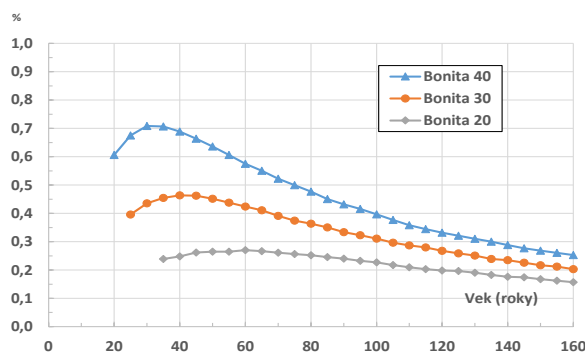


o 12–15 %. Podobné hodnoty pre efektívnosť akumulácie energie udáva aj LARCHER (2003). Pre lesné porasty udáva limit 2 %, ale pre väčšinu drevín len hodnoty pod 1 %. Nie je však známa podrobnejšia metodika ich odvodenia. Pre exaktnejšie posúdenie efektívnosti akumulácie energie jednotlivými drevinami by bolo potrebné realizovať podrobnejší a rozsiahlejší výskum, hlavne čo sa týka spalného tepla v hlavných komponentoch biomasy.

Obrázok 3 Ročné prírastky energie v nadzemnej biomase smrekových porastov



Obrázok 4 Efektívnosť akumulácie energie slnečného žiarenia v nadzemnej biomase smrekových porastov v závislosti od ich veku a bonity



Záver

V klimatickom pásme strednej Európy majú smrekové porasty v 1 m³ biomasy približne 8–11 GJ fotosynteticky akumulovanej slnečnej energie vo forme spalného tepla. Porasty bonít 20–40 akumulujú do veku 160 rokov približne 9 000 až 20 000 GJ.ha⁻¹ slnečnej energie. Približne 80 % je v dreve a po 10 % v kôre a tenčine. Najviac energie, približne 80–200 GJ ha⁻¹.rok⁻¹ akumulujú porasty vo veku 30–60 rokov. S vyšším vekom porastu sa akumulácia tepla výrazne znižuje a vo veku 160 rokov je len v rozpätí približne 70–45 GJ.ha⁻¹.rok⁻¹. Väčšina smrekových porastov akumuluje v nadzemnej biomase približne 0,2–0,7 % tepla zo slnečnej energie.

PodĎakovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-16-0344.

Literatúra

1. Halaj, J., Petráš, R. 1998. Rastové tabuľky hlavných drevín. Bratislava, Slovak Academic Press, 325 s.
2. Husch, B., Beers, T.W., Kershaw, J. A. 2003. Forest Mensuration. John Wiley & Sons. New Jersey, 443 pp.
3. JAMNICKÁ, G., PETRÁŠOVÁ, V., PETRÁŠ, R., MECKO, J., OSZLÁNYI, J. 2014. Energy production of poplar clones and their energy use efficiency. iForest, 2014, 7: 150-155.
4. Klačnja, B., Kopitovič, Š. 1999. Quality of wood of some willow and robinia clones as fuelwood. Drevársky výskum 1999, 44(2): 9-18.



5. Larcher, W. 2003. Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. 4th edn. Springer, Berlin, 513 pp.
6. Ostrožlík, M. 2003. Dlhodobé zmeny v príjme globálneho žiarenia v Mlyňanoch. In. Rožnovský, J., Litschmann, T. (ed): Seminár Mikroklima porostů, Brno, p. 23-28.
7. Oszlányi, J., Biskupský, V. 1979. Energetická hodnota nadzemnej biomasy drevín v dubovo-hrabovom lese. Acta Ecologica VIII/20, 1979, Ústav experimentálnej biológie a ekológie SAV, VEDA, Bratislava, 1980, p. 59-105
8. Petráš, R., Mecko, J., Neuschlová, E. 2010. Density of basic components of above-ground biomass of poplar clones. Wood Research, 55, No. 4, p. 113-122
9. PETRÁŠ, R., MECKO, J., OSZLÁNYI, J., PETRÁŠOVÁ, V., JAMNICKÁ, G. 2013. Landscape of Danube inland-delta and its potential of poplar bioenergy production. Biomass and Bioenergy 55, (2013): 68-72.
10. PETRÁŠ, R., MECKO, J., KRUPOVÁ, D., SLAMKA, M., PAŽITNÝ, A. 2019a: Aboveground biomass basic density of softwoods tree species. Wood Research, 64, 2019 (2): 205-211.
11. PETRÁŠ, R., MECKO, J., KUKLA, J., KUKLOVÁ, M. 2019b. Spalné teplo základných frakcií nadzemnej biomasy smreka (*Picea abies* L. Karst). Zprávy lesnického výzkumu, 64, 2019 (4): 224-230.
12. Pretzsch, H. 2009. Forest Dynamics, Growth and Yield. Springer. Berlin Heidelberg, 664 pp.
13. Požgaj, A., Chovanec, D., Kurjatko, S., Babiak, M. 1997. Štruktúra a vlastnosti dreva. Príroda, a.s. Bratislava, 485 pp.
14. Šmelko, Š., Wenk, G., Antanaitis, V. 1992. Rast, štruktúra a produkcia lesa. Príroda. Bratislava, 342 pp.

Kontaktné adresy: Ing. Rudolf Petráš, CSc., Ing. Julian Mecko, CSc., Národné lesnícke centrum, Lesnícky výskumný ústav, T.G.Masaryka 22, 960 01 Zvolen, Slovenská republika. E-mail: petras@nlcsk.org, mecko@nlcsk.org. Ing. Ján Kukla, CSc., Ing. Margita Kuklová, CSc., Ústav ekológie lesa, Slovenská akadémia vied, Ľ. Štúra 2, 960 53 Zvolen, Slovenská republika. E-mail: kukla@ife.sk, kuklova@ife.sk



CIEĽOVÉ STROMY – ZÁKLAD KVALITATÍVNEJ PRODUKCIE V BUKOVÝCH PORASTOCH TARGET TREES – THE BASE OF QUALITATIVE PRODUCTION IN BEECH STANDS

Igor Štefančík

Abstract: The paper deals with a comparison of qualitative production in stands after the long-term research, carried out by different tending regimes. The selected qualitative parameters (number of target trees and their proportion out of the total merchantable volume) were assessed. The research was conducted during more than 50 years in 7 permanent research plots within the following thinning methods: (i) heavy thinning from below (C-grade according to the German forest research institutes from 1902), (ii) free crown thinning with thinning interval of 5 years, and (iii) stand without thinning (control). The best results including the value production were obtained in the plots with the free crown thinning followed by heavy thinning from below. The worst results showed the plot without tending.

Keywords: European beech, tending, qualitative production, target trees

Úvod

Buk lesný (*Fagus sylvatica* L.) je pôvodnou drevinou lesov Slovenska. Rastie od 2. bukovo-dubového až po 6. smrekovo-bukovo-jedľový lesný vegetačný stupeň, pričom tvorí rozsiahle nezmiešané aj zmiešané porasty. Buk je nielen našou plošne najrozšírenejšou drevinou, ktorá zaberá 33,85 % porastovej plochy (ZELENÁ SPRÁVA 2019), ale považuje sa tiež za ekologicky a hospodársky veľmi dôležitú drevinu. Vzhľadom k svojim priaznivým biologicko-ekologickým vlastnostiam a vysokej produktívnosti porastov má svoje nezastupiteľné miesto v lesoch Slovenska.

V ostatných rokoch sa buk čoraz častejšie spomína aj v súvislosti s klimatickou zmenou, ktorá v súčasnosti prebieha a ovplyvňuje rast a vývoj lesných porastov. Podľa viacerých scenárov predpokladaných zmien v budúcnosti sa práve buk považuje za jednu z drevín s najlepšou adaptáciou na zmenené ekologické a prírodné podmienky. Tým viac si zasluhuje pozornosť nielen zo strany výskumu, ale tiež lesníckej praxe (BARNA et al. 2011). Umocňuje to aj skutočnosť, že vo výhľadovom zastúpení buka na Slovensku sa predpokladá jeho podiel cca 36 % (VLADOVIČ 2003), čo je ešte viac ako je jeho zastúpenie v súčasnosti. K tomu, aby sa to dosiahlo je však potrebný celý rad pestovných opatrení, počnúc predovšetkým prirodzenou obnovou a končiac systematickou a dostatočne intenzívnou výchovou. Práve výchova má kľúčový význam pre vývoj každého lesného porastu, lebo v systéme vekových tried sa spravidla vykonáva do viac ako polovice rubného veku porastu.

Hoci sa väčšia pozornosť pri výchove bukových porastov (najmä v minulosti) venovala sledovaniu jej účinkov na kvantitatívnu produkciu (VYSKOT et al. 1962; ASSMANN 1968; RÉH 1968; ŠEBÍK 1971; KENNEL 1972; ŠTEFANČÍK 1974, 1984, 2015; ŠEBÍK & POLÁK 1990; LEGOFF & OTTORINI 1993; DHÔTE 1997), nemožno opomenúť práce, ktoré zisťovali aj vplyv výchovy na kvalitu bukových porastov, resp. bukového dreva (ŠEBÍK 1970; ŠTEFANČÍK 1974, 1975, 1976, 2015; KATÓ & MÜLDER 1983; KORPEL 1988; MLINSEK & BAKKER 1990; HEIN et al. 2007; ŠTEFANČÍK & BOLVANSKÝ 2011; POLJANEC & KADUNC 2013; ŠTEFANČÍK & BOŠELA 2014).

Aj keď na rast a vývoj bukových porastov vplýva viacero stanovištných, prírodných a ekologických faktorov (VACEK et al. 1996; VACEK & HEJCMAN 2012; VACEK et al. 2014), ale aj genetických vlastností a znakov (GÖMÖRY & PAULE 2011; GÖMÖRY et al. 2013), jedným



z najdôležitejších činiteľov je spôsob ich obhospodarovania (POLENO & VACEK et al. 2009). Výchova bukových porastov sa zameriava predovšetkým na vypestovanie dostatočného počtu najkvalitnejších stromov (ALTHERR 1971; ŠTEFANČÍK 1974, 1984; KATÓ & MÜLDER 1983; MLINSEK & BAKKER 1990), ktorými sú tzv. cieľové stromy. Tieto predstavujú kvalitatívnu produkciu, ktorá je v bukových porastoch prvoradá a zároveň zabezpečuje vysokú hodnotovú produkciu porastov v rubnom veku (ŠTEFANČÍK 1974; HEIN et al. 2007). Preto pozornosť sa venovala tiež sledovaniu vplyvu obhospodarovania na kvalitu sortimentov buka, resp. výsledné finančné zhodnotenie (KNOKE & WENDEROTH 2001; UTSCHIG & KÜSTERS 2003; JULLIEN et al. 2013; ŠTEFANČÍK et al. 2018).

Cieľom príspevku je poukázať na dôležitosť systematickej a dlhodobej výchovy bukových porastov pri dosahovaní maximálnej kvalitatívnej (hodnotovej) produkcie prostredníctvom pestovania cieľových stromov.

Materiál a metódy

Podkladovým materiálom sú údaje získané zo 7 sérií trvalých výskumných plôch (TVP), resp. v rámci nich z 21 čiastkových plôch založených v rokoch 1958-1966 prof. Ing. Ladislavom Štefančíkom, DrSc., v prirodzene obnovených rovnorodých bukových porastoch Slovenska, ktoré boli v dobe ich založenia v rastovej fáze žrdkovín až žrdovín. Základnú charakteristiku TVP uvádza tabuľka 1.

Tab. 1 Základné charakteristiky trvalých výskumných plôch (TVP)

TVP	Vek (r.)	Nadmorská výška (m)	Priemerná ročná teplota (°C)	Priemerný ročný úhrn zrážok (mm)	Geomorfologický celok	Ekologický rad
Koňuš	88	510	6,5	900	Vihorlatské vrchy	B
Jalná	94	610	6,2	800	Štiavnické vrchy	B
Kalša	95	520	6,0	790	Slanské vrchy	B
Žalobín	97	250	7,9	660	Ondavská vrchovina	B
Zlatá Idka	98	700	6,7	780	Volovské vrchy	A
Lukov	99	550	5,5	690	Čergov	B
Cigánka	110	560	5,5	918	Stolické vrchy	B

Každá TVP sa skladá z 3 až 5 čiastkových plôch (najčastejšie troch), ktoré sú usporiadané vedľa seba (po vrstevnici) a oddeľuje ich od seba vždy minimálne 15 m široký izolačný pás stromov. Výmera každej čiastkovej plochy je 0,25 ha (50 × 50 m) s výnimkou TVP Žalobín, kde majú plochy výmeru 0,20 ha (40 × 50 m). Cez stred každej čiastkovej plochy sú v šírke 10 m stabilizované tzv. prierezové pásy.

Na všetkých čiastkových plochách sa čísloním registrujú všetky žijúce stromy s hrúbkou $d_{1,3}$ 3,6 cm a väčšou, resp. ktoré v priebehu meraní dosiahli uvedenú hrúbku tzv. registračnú hranicu. V rámci každej TVP je vždy jedna čiastková plocha kontrolná (označená ako 0), na ktorej sa nevykonávajú žiadne zásahy. Na ostatných plochách v rámci každej série sa sledujú a porovnávajú účinky rôznych prebierkových metód. Na ploche (označenej ako C) sa realizuje silná podúrovňová prebierka (C – stupeň podľa Nemeckých výskumných ústavov lesníckych z roku 1902). Na ploche označenej ako H sa uskutočňujú zásahy metódou úrovňovej voľnej prebierky v zmysle ŠTEFANČÍKA (1974). Táto prebierková metóda sa zameriava na individuálnu výchovu stromov výberovej kvality (nádejné a cieľové stromy).

Na všetkých TVP sa vykonávajú terénne merania a hodnotenia podľa štandardných biometrických meraní (hrúbka $d_{1,3}$ dvoma na seba kolmými meraniami s presnosťou na mm,



výška stromov a nasadenia koruny na prierezových pásoch a všetkých stromoch výberovej kvality s presnosťou na 0,5 m (neskôr 0,1 m), horizontálne projekcie koruny s presnosťou na 0,1 m). Hodnotili sme znaky kmeňa a koruny, v rámci ktorých sa klasifikovali stromy podľa pestovnej a hospodárskej klasifikácie.

Pestovná klasifikácia zahŕňala:

- a) spoločenské postavenie stromov podľa vzrastových tried (ŠTEFANČÍK 1974):
 1. nadúrovňový strom
 2. úrovňový strom
 3. medziúrovňový strom
 4. podúrovňový strom ustupujúci
 5. podúrovňový strom potlačený
- b) stupne kvality kmeňa:
 1. tvárny – priamy, veľmi kvalitný kmeň, bez hrčí
 2. priemerný – priemerne kvalitný kmeň, zakrivený iba v hornej tretine, s malým počtom hrčí
 3. netvárny – nekvalitný kmeň s veľkým počtom hrč, veľmi zakrivený

V rámci ***hospodárskej klasifikácie*** sa hodnotil len kmeň po nasadenie koruny, a to osobitne spodná a osobitne horná polovica kmeňa. Triedy kvality: 1 - vysoká (A), 2 - priemerná (B), 3 - horšia kvalita, ale úžitkové drevo (C), 4 - palivo (D).

Získané údaje sme spracovali matematicko-štatistickými metódami podľa metodiky ŠTEFANČÍKA (1974) a využitím softvérového balíka QC-Expert (KUPKA 2013).

Výsledky a diskusia

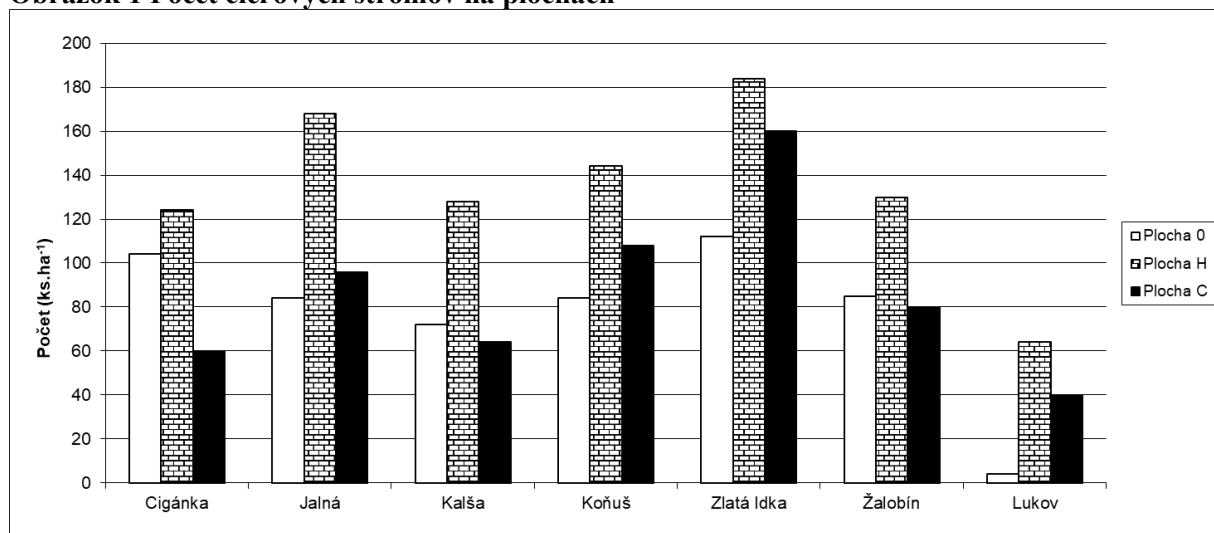
Najvyšší počet cieľových stromov sa dosiahol na plochách s úrovňovou voľnou prebierkou (obr.1), a to na TVP Zlatá Idka, Jalná a Koňuš, kde sa začalo s výchovou najskôr, t.j. vo veku 30-40 rokov. Z literatúry je známe, že včasnosť výchovy je významnou podmienkou dosiahnutia nielen požadovaného produkčného cieľa v bukových porastoch (ŠTEFANČÍK 1974; KORPEL 1988), ale je dôležitá aj z hľadiska kvalitatívnej produkcie. Niektorí autori považujú za optimálne začať s výchovou už v štádiu mladín (RÉH 1968). Iní autori uvádzajú začiatok výchovy neskôr (ŠEBÍK 1971; ŠTEFANČÍK 1974; VON LÜPKE 1986; UTSCHIG, KÜSTERS 2003) vo veku 40 až 45 rokov. Podľa doterajších poznatkov je z pohľadu kvality (kmeňa a koruny) žiaduce začať s výchovou čo najskôr a miernymi zásahmi. Potvrdzujú to aj výsledky KORPELA (1988), ktorý zistil vo veku cca 40 rokov pri systematickej a intenzívnej výchove od fázy mladín signifikantne väčší počet najkvalitnejších jedincov v porovnaní s porastom, v ktorom bola výchova oneskorená (zanedbaná). Podobné sú aj výsledky výskumu MLINŠEKA & BAKKERA (1990), ktorí analyzovali 50 cieľových stromov buka vo veku 140-150 rokov na dvoch stanovištiach v Slovinsku. Výsledky ukázali, že stromy s rovnomerným a miernym radiálnym rastom produkovali najviac bezhrčového dreva. Stromy, ktoré mali úzke letokruhy v mladom veku a neskôr náhle produkovali široké letokruhy mali síce vynikajúci tvar kmeňa, ale menej bezhrčového dreva v porovnaní s jedincami s miernym radiálnym rastom. Preto odporúčajú v mladom veku zásahy obmedziť len na negatívny výber odstraňovaním predrastavých a rozrastavých jedincov.

ŠTEFANČÍK (1984) vytvoril model budúceho rubného porastu, v ktorom predpokladal vo veku 110 až 130 rokov pre bukové porasty počet cieľových stromov v rozpätí 121–180 ks na 1 hektár, pričom z objemu hrubiny hlavného porastu by mali tvoriť 73-85 %. Výsledky nášho výskumu ukázali, že modelom predpokladaný počet cieľových stromov sa nepodarilo splniť na žiadnej kontrolnej ploche (4 až 104 ks na 1 ha) a s výnimkou TVP Zlatá Idka (160 ks.ha⁻¹) ani



na ploche so silnou podúrovňovou prebierkou (40 až 108 ks.ha⁻¹). Podarilo sa to dosiahnuť jedine na plochách so Štefančíkovou úrovňovou voľnou prebierkou (124 až 184 ks.ha⁻¹) s výnimkou TVP Lukov.

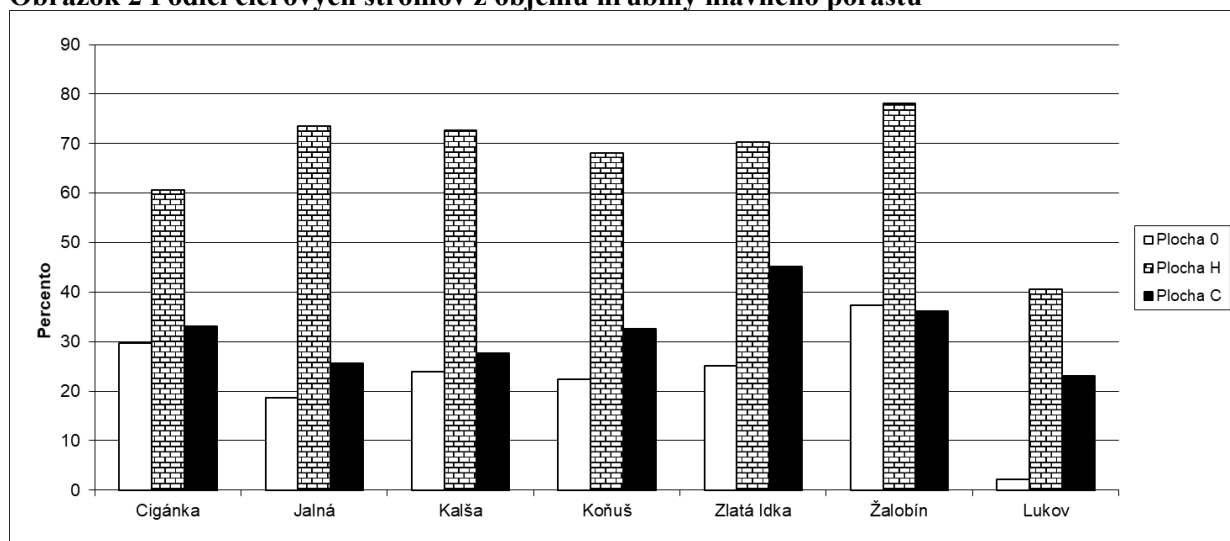
Obrázok 1 Počet cieľových stromov na plochách



Legenda: C – plocha vychovávaná silnou podúrovňovou prebierkou; H – plocha vychovávaná Štefančíkovou úrovňovou voľnou prebierkou; 0 – plocha bez výchovy (kontrolná)

Okrem počtu cieľových stromov na hektár je významným ukazovateľom aj ich podiel zo zásoby, resp. objemu hrubiny porastu (obr.2). Pokiaľ ide o percentuálny podiel hrubiny z hlavného porastu, tak podľa modelu je v súčasnosti tento podiel opäť najvyšší na plochách so Štefančíkovou úrovňovou voľnou prebierkou, kde sa pohybuje od 40,6 do 78,1 %. To predpokladá dosiahnutie hodnôt z modelu už skôr ako vo veku 110 až 130 rokov. Na ploche s podúrovňovou prebierkou to bolo 23,0 – 45,1 %, resp. na kontrolnej ploche bez výchovy 2,2 až 37,4 %.

Obrázok 2 Podiel cieľových stromov z objemu hrubiny hlavného porastu

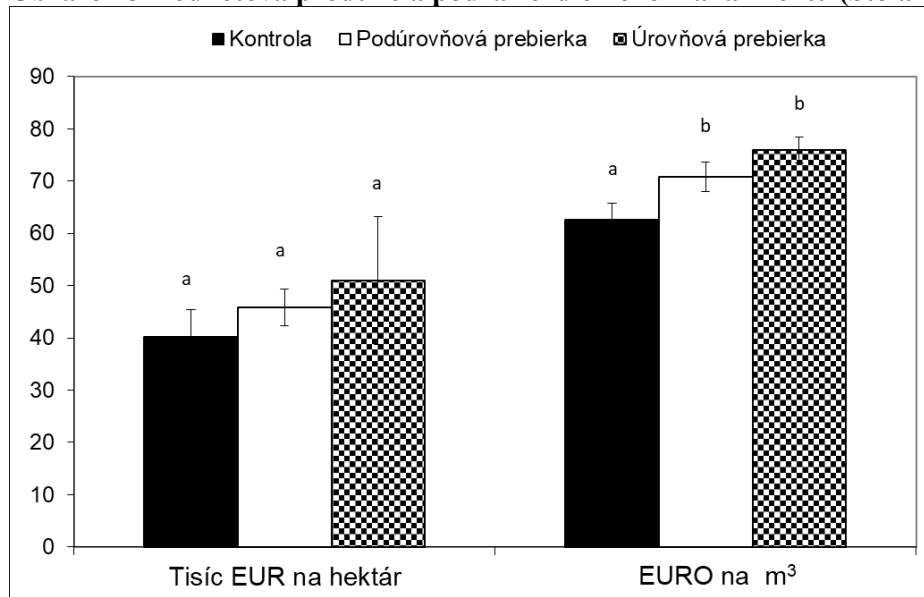


Legenda: C – plocha vychovávaná silnou podúrovňovou prebierkou; H – plocha vychovávaná Štefančíkovou úrovňovou voľnou prebierkou; 0 – plocha bez výchovy (kontrolná)



Podobne aj pri finančnom zhodnotení sledovaných troch variant sa najvyššia hodnotová produkcia dosiahla na plochách s úrovňovou voľnou prebierkou (obr.3). Jednoznačne najhoršie a to z pestovného i finančného hľadiska dopadla plocha bez výchovy (ŠTEFANČÍK et al. 2018).

Obrázok 3 Hodnotová produkcia podľa rozdielneho manažmentu (Štefančík et al. 2018)



Poznámka: Rozdielne písmená znamenajú štatisticky významný rozdiel ($p < 0.05$)

Záver

Z porovnania cieľových stromov ako významných parametrov kvalitatívnej produkcie bukových porastov vyplýva, že najlepšie výsledky sa po dlhodobej a systematickej výchove dosiahli na ploche so Štefančíkovou úrovňovou voľnou prebierkou. Na základe týchto výsledkov možno konštatovať, že z pohľadu lesníckej praxe je potrebná systematická výchova, ktorá sa zameria na kvalitatívnu produkciu. Tá je v bukových porastoch prioritná v porovnaní s kvantitatívnou produkciou.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy APVV-15-0032, APVV-17-0416, resp. projektu „Výskum a vývoj na podporu konkurencieschopnosti slovenského lesníctva – SLOVLES (2019-2021)“, financovaný z rozpočtovej kapitoly Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky.

Literatúra

1. ALTHERR, E., 1971: Wege zur Buchenstarkholzproduktion. Festschrift zur 15. Hauptversammlung des Bad. – Württ. Forstvereins und 100-Jahr-Feier der Bad. – Württ. Forstl. Vers. – Anst., Feiburg:123–127.
2. ASSMANN, E., 1968: Náuka o výnose lesa. Bratislava, Príroda: 488.
3. BARNA, M., KULFAN, J., BUBLINEC, E. (eds.), 2011: Buk a bukové ekosystémy Slovenska. Bratislava, Veda: 636.
4. DHÔTE, J.F., 1997: Effets des claircies sur le diamètre dominant dans des futaies régulières de hêtre ou de chêne sessile. Revue Forestière Française, 49: 557-578.
5. GÖMÖRY, D., PAULE, L., 2011: Trade-off between height growth and spring flushing in common beech (*Fagus sylvatica* L.). Annals of Forest Science, 68:975–984.
6. GÖMÖRY, D., COMPS, B., PAULE, L., VON WÜHLISCH, G., 2013: Allozyme and phenotypic variation in beech (*Fagus sylvatica* L.): are there any links? Plant Biosystems, 147:265–271.
7. HEIN, S., LENK, E., KLÄDTKE, J., KOHNLE, U., 2007: Effect of crop tree selectice thinning on beech (*Fagus sylvatica* L.) Allgemeine Forst- und Jagdzeitung, 178: 8-20.
8. JULLIEN, D., WIDMANN, R., LOUP, C., THIBAUT, B., 2013: Relationship between tree morphology and growth stress in mature European beech stands. Annals of Forest Science, 70:133–142.



9. KATÓ, F., MÜLDER, D., 1983: Qualitative Gruppendurchforstung der Buche. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung, 154: 139-145.
10. KENNEL, R., 1972: Die Buchendurchforstungsversuche in Bayern von 1870 bis 1970. Forstliche Forschungsberichte München, 7: 264.
11. KNOKE, TH., WENDEROTH, S.S., 2001: Ein Ansatz zur Beschreibung von Wahrscheinlichkeit und Ausmaß der
12. KORPEL, Š., 1988: Dynamika rastu a vývoja bukových porastov vo fáze mladiny až žrdoviny vplyvom pestovnej techniky. Acta Facultatis Forestalis Zvolen, 30: 9-38.
13. KUPKA K. (2013): QC.Expert 3.1. User's manual. Pardubice, TryloByte, Ltd.: 266.
14. LE GOFF, N., OTTORINI, J.M., 1993: Thinning and climate effects on growth of beech (*Fagus sylvatica* L.) in experimental stands. Forest Ecology and Management, 62: 1-14.
15. VON LÜPKE, B., 1986: Thinning, especially early thinning, of pure beech stands. Forst- und Holzwirtschaft, 41: 54-61.
16. MLINŠEK, D., BAKKER, A., 1990: Jugendwachstum und Holzqualität bei der Buche. Forstwissenschaftliches Centralblatt, 109: 242-248.
17. POLENO, Z., VACEK, S. et al., 2009: Pěstování lesů III. Praktické postupy pěstování lesů. Kostelec n. Č. lesy, Lesnická práce, 952 s.
18. POLJANEC, A., KADUNC, A., 2013: Quality and timber value of European beech (*Fagus sylvatica* L.) trees in the Karavanke region. Croatian Journal of Forest Engineering, 34: 151-165.
19. RÉH, J., 1968: Štúdium štruktúry bukovej húštiny. Lesnícky časopis, 14: 651-671.
20. ŠEBÍK, L., 1970: Kvalita a vplyv prvých úrovňových prebierok na kvalitu predrubných bukových porastov. Zborník vedeckých prác LF VŠLD vo Zvolene, 12: 31-50.
21. ŠEBÍK, L., 1971: Vplyv miernej podúrovňovej a kvalitaovej úrovňovej prebierky na štruktúru a produkciu predrubných bukových porastov. Zborník vedeckých prác LF VŠLD vo Zvolene, 13: 63-91.
22. ŠEBÍK, L., POLÁK L., 1990: Náuka o produkcii dreva. Bratislava, Príroda: 322.
23. ŠTEFANČÍK, I., 2015: Rast, štruktúra a produkcia bukových porastov. Zvolen, NLC: 148.
24. ŠTEFANČÍK, I., BOLVANSKÝ, M., 2011: Pestovanie bukových porastov. In: Barna, M., Kulfan, J., Bublinec, E. (eds.): Buk a bukové ekosystémy Slovenska. Bratislava, Veda: 431-452.
25. ŠTEFANČÍK, I., BOŠELA, M., 2014: An influence of different thinning methods on qualitative wood production of European beech (*Fagus sylvatica* L.) on two eutrophic sites in the Western Carpathians. Journal of Forest Science, 60 (10):406-416.
26. ŠTEFANČÍK, I., BOŠELA, M., PETRÁŠ, R., 2018: Effect of different management on quality and value production of pure beech stands in Slovakia. Central European Forestry Journal, 64 (1): 24-32.
27. ŠTEFANČÍK, L., 1974: Prebierky bukových žrdovín. (Lesnícke štúdie č.18). Bratislava, Príroda: 141.
28. ŠTEFANČÍK, L., 1975: Pestovanie akostnej produkcie v bukových porastoch. Lesníctví, 21: 749-766.
29. ŠTEFANČÍK, L., 1976: Hromadná kvalita bukového porastu a jej zmeny vplyvom prirodzeného vývoja a prebierky. Lesnícky časopis, 22: 141-157.
30. ŠTEFANČÍK, L., 1984: Úrovňová voľná prebierka - metóda biologickej intenzifikácie a racionalizácie selekčnej výchovy bukových porastov. In: Vedecké práce VÚLH vo Zvolene, 34: 69-112.
31. UTSCHIG, H., KÜSTERS, E., 2003: Growth reactions of common beech (*Fagus sylvatica* L.) related to thinning – 130 years observation of the thinning experiment Elmstein 20. Forstwissenschaftliches Centralblatt, 122: 389-409.
32. VACEK, S., CHROUST, L., SOUČEK, J., 1996: Produkční analýza autochtonních bučin. Lesnictví, 43:54-66.
33. VACEK, S., HEJCMAN, M., 2012: Natural layering, foliation, fertility and plant species composition of a *Fagus sylvatica* stand above the alpine timberline in the Giant (Krkonoše) Mts., Czech Republic. European Journal of Forest Research, 131:799-810.
34. VACEK, S., VACEK, Z., PODRAZSKÝ, V., BÍLEK, L., BULUŠEK, D., ŠTEFANČÍK, I., REMEŠ, J., ŠTICHA, V., AMBROŽ R., 2014: Structural Diversity of Autochthonous Beech Forests in Broumovské Stěny National Nature Reserve, Czech Republic. Austrian Journal of Forest Science, 131: 191-214.
35. VLADOVIČ, J., 2003: Oblastné východiská a princípy hodnotenia drevinového zloženia a ekologickej stability lesov Slovenska (Lesnícke štúdie č. 57/2003). Bratislava, Príroda: 160.
36. VYSKOT, M. et al. 1962: Probirky (biotechnika a efektivnost). Praha, SZN, 301.
37. ZELENÁ SPRÁVA 2019: Správa o lesnom hospodárstve v Slovenskej republike za rok 2018. Bratislava, MPRV SR; ZVOLEN, NLC: 66.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Igor Štefančík, CSc., Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav, T.G. Masaryka 22, 960 01 Zvolen, Slovenská republika. E-mail: igor.stefancik@nlcsk.org

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

Potravinárska sekcia





ANTIRADIKÁLOVÝ EFEKT VO VODE ROZPUSTNÉHO KAROTENOIDU – KROCÍNU

ANTIRADICAL EFFECT OF WATER-SOLUBLE CAROTENOID – CROCIN

Aneta Ácsová, Silvia Martiniaková, Jarmila Hojerová, Dominika Ďurčová

Abstract: Crocin is a colorant found in the stigmas of *Crocus sativus* L. that play a major role in protecting plants from harmful photooxidation processes. However, it also plays an important role in the human antioxidant system and prevents various diseases caused by excessive concentration of free radicals in the body. In this work, the antiradical effect of crocin against \cdot DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) synthetic radicals was determined and compared with conventional antioxidants. It was found that crocin is able to inhibit 76,3% of \cdot DPPH radical, which is comparable to conventional antioxidants – Butylated hydroxyanisole (77,2%), butylated hydroxytoluene (79,5%) and L-ascorbic acid (85%). Crocin appears to be a promising antioxidant for food and dietary applications.

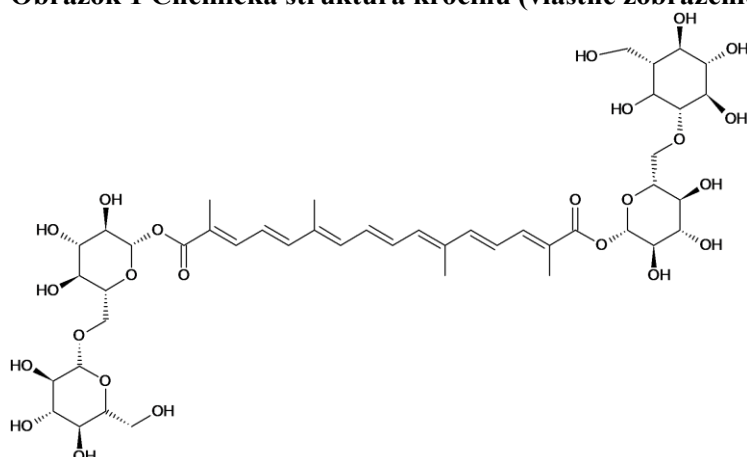
Keywords: Antioxidant activity, Crocin, Carotenoid, Free radicals, Human health

Úvod

Ľudské telo dokáže zvládnuť nadmerné ataky toxických voľných radikálov iba ak má dostatočne vybudované prirodzené ochranné mechanizmy. Prírodné antioxidanty pôsobia ako stimulátory imunity a vo forme potravy alebo topickej aplikácie dokážu zvýšiť úroveň antioxidantnej ochrany organizmu (Havelková, 2006). Semená šafránu sa javia ako jeden zo sľubných ochrancov, ktorí pomáhajú predchádzať škodlivým útokom voľných radikálov na zdravé bunky (Mykhailenko et al., 2019). Krocín má v šafráne najvyššie zastúpenie spomedzi všetkých karotenoidov a to takmer 80 % (Singla a Bhat, 2011; Wilska-Jeszka, 2006). Okrem šafránu sa nachádza aj v kvetoch gardénie (*Gardenia jasminoides* Ellis L.), kde je zastúpený v 6 až 8 %. Funguje taktiež ako prostriedok na podporu učenia a pamäte, spája sa s pozitívnymi účinkami na neurodegeneratívne poruchy mozgu, kryokonzerváciu spermií, Alzheimerovu chorobu (Singla, 2011). Má však tiež mnoho priemyselných aplikácií, napríklad ako korenie, farbivo, konzervačná látka a antioxidant (Kafi et al., 2018). Na rozdiel od väčšiny karotenoidov je rozpustný vo vode, čo vedie k novým možnostiam pôsobenia ako antioxidant. Jeho hydrofilita sa prisudzuje diesterovej štruktúre vychádzajúcej z konverzie krocetínu (C₂₀H₂₄O₄), čo je prírodná apokarotenoidová dikarboxylová kyselina, gentobiózou (C₁₂H₂₂O₁₁), disacharidom zloženého z dvoch D–glukóz (Obr. 1). Jeho schopnosť zachytávať dusitany a superoxidové anióny, inhibícia stabilných radikálov ABTS či inhibícia peroxidácie lipidov vedie k ochrane ľudských buniek pred oxidačným stresom (Zhang, 2019). Požiadavka nahradiť syntetické antioxidanty prírodnými nás viedla k výskumu tohto jedinečného karotenoidu. Cieľom práce bol pilotný experimentálny výskum týkajúci sa antioxidantného účinku karotenoidu ponteciálneho v tomto smere – krocínu voči DPPH radikálom.



Obrázok 1 Chemická štruktúra krocínu (vlastné zobrazenie)



Metodika práce

Charakteristika použitých chemikálií: Krocín (sumárny vzorec: $C_{44}H_{64}O_{24}$; $\geq 95\%$ (HPLC)) bol zakúpený ako štandard Sigma-Aldrich – Crocetin digentiobiose ester (výrobca Merck, Nemecko). Jeho chemická štruktúra je znázornená na Obr. 1. Vzorka krocínu bola skladovaná v mrazničke až do okamihu použitia (Pubchem, 2020). Butylovaný hydroxytoluén (2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, BHT) ($\geq 99,0\%$) a Butylovaný hydroxyanizol (2-*tert*-Butyl-4-hydroxyanisole, BHA) ($\geq 98,5\%$) boli zakúpené od MERCK Schuchardt, Nemecko a kyselina L-askorbová ($\geq 99,0\%$) od Centralchem Bratislava, Slovensko. Etanol a HPLC voda boli zakúpené od Thermo Scientific FISHER Slovakia.

Metóda DPPH syntetického radikálu – stanovenie antiradikálovej aktivity: Predkladaná práca je sériou pilotných experimentov so špecifickým karotenoidom – krocínom. Pred meraním antioxidačnej aktivity sa uskutočnila škála spektrofotometrických meraní na potvrdenie faktu, že krocín je hydrofilnou látkou, ktorá sa rozpúšťa primárne vo vode. Analýza sa uskutočnila rozpustením krocínu pri rovnakej koncentrácii vo viacerých rozpúšťadlách ako sú etanol, PBS a HPLC voda.

Ďalej sa hodnotila schopnosť krocínu a ďalších antioxidantov (BHA, BHT, Kyselina askorbová) zachytávať radikál 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylu. Testované látky sa rozpustili vo vode HPLC kvality na koncentráciu 0,005 mM. Syntetický radikál \cdot DPPH sa pripravil rozpustením činidla DPPH v etanole na koncentráciu 0,1 mM. Roztok radikálu \cdot DPPH a testované látky sa zmiešali v pomere 1:2 v uvedenom poradí. Zmena absorbancie bola meraná pri 517 nm v 96-jamkových platničkách (ImmunoReagents, USA) oproti vode HPLC kvality (blank) v intervale 10 min počas 60 min prístrojom Epoch 2 Microplate Spectrophotometer (BioTek Instruments Inc., USA). Antiradikálová účinnosť silice sa vyjadrila percentom inhibície DPPH radikálu, tzv. *Scavenging Effect, SE %*. Pre každú testovanú látku sa uskutočnili tri paralelné merania. Štatistická analýza sa vykonala metódou ANOVA nasledovanou Bonferroniho testom ($p < 0,05$).

Výsledky a diskusia

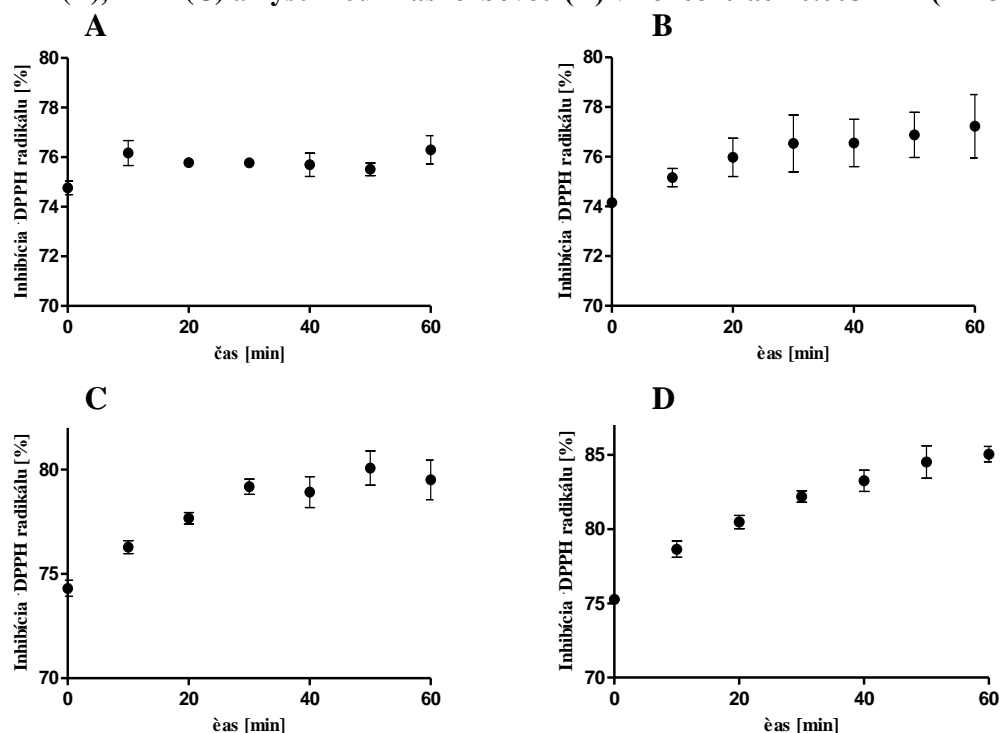
Najvyšší pík bol stanovený pri krocíne rozpustenom v HPLC vode. Po stanovení antioxidačnej aktivity boli hodnoty radikálne rozdielne, pričom najvyššie hodnoty boli stanovené jednoznačne pri použití HPLC vody ako rozpúšťadla. To je v súlade so štúdiou Lee et al. (2015), v ktorej napriek vyššej koncentrácii krocínu (0,1 mM) v metanole nebola pozorovaná takmer žiadna antioxidačná aktivita.

Hlavným cieľom práce bolo zistiť antiradikálový účinok antioxidantu krocínu a porovnať ho so štandardmi. Každý antioxidant bol meraný pri koncentrácii 0,005 mM. Na Obr.



2 sú zobrazené kinetické profily reakcie krocínu (A), BHA (B), BHT (C) a kyseliny L-askorbovej (D) s \cdot DPPH. Môžeme pozorovať, že po miernom zvýšení od nulte do desiatej minúty merania – čiže na začiatku reakcie - je tendencia antiradikálového účinku krocínu skôr klesajúca. Zvýšenie pozorujeme znova pri 60. minúte. Ako je znázornené na Obr. 3B, kinetický profil BHA má mierne stúpajúcu tendenciu. Antiradikálový účinok nadobúdal hodnoty blízke hodnotám krocínu. Kinetický profil BHT mal výraznejšiu stúpajúcu tendenciu, a antiradikálový účinok BHT nadobúda o niečo vyššie hodnoty ako pri krocíne, pričom v 50. minúte priemer z 3 paralelných meraní prevyšuje hodnotu 80%. Kinetický profil kyseliny L-askorbovej má jasnú stúpajúcu tendenciu antiradikálového účinku v čase. V porovnaní s krocínom dosahuje vyššie hodnoty, od 20. minúty až po ukončenie merania vykazuje antiradikálový účinok nad 80%.

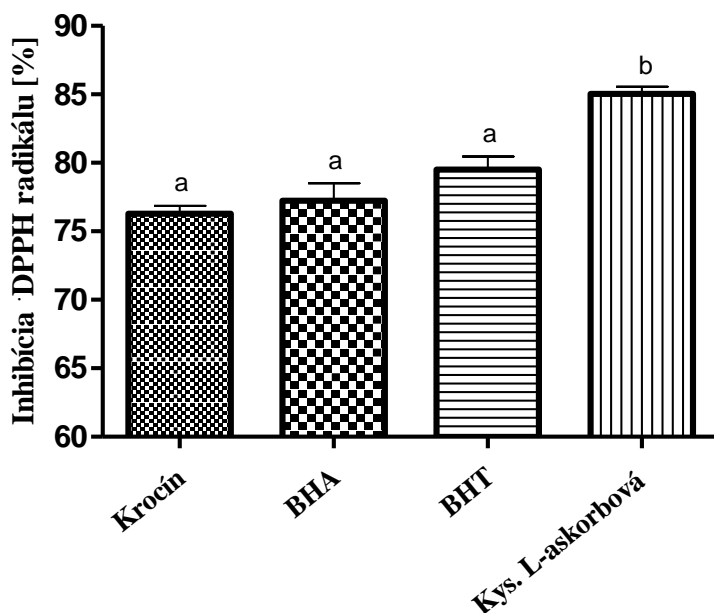
Obrázok 2 Kinetický profil percentuálneho vyjadrenia inhibície \cdot DPPH radikálu krocínom (A), BHA (B), BHT (C) a kyselinou L-askorbovou (D) v koncentrácii 0.005 mM (n = 3).



Inhibičná účinnosť sledovaných antioxidantov klesala v danom poradí: kyselina askorbová (85%), BHT (79,5%), BHA (77,2%) a krocín (76,3%) (Obr. 3). Štatistický rozdiel bol pozorovaný pre krocín v porovnaní s kyselinou L-askorbovou ($p < 0,05$), zatiaľ čo v porovnaní so syntetickými antioxidantami (BHA a BHT) nebol zaznamenaný významný rozdiel ($p > 0,05$). Assimopoulou et al. (2005) dosiahli podobné výsledky (63,8% inhibícia) pre antioxidačnú aktivitu krocínu. Na rozdiel od nášho postupu boli vzorky extraktmi zo sušených tyčínok šafránu, pripravené s rozpúšťadlom metanolom. Malá odchýlka výsledkov bola pravdepodobne spôsobená rozdielom v použitom pomere antioxidantu k radikálu \cdot DPPH, v použitom rozpúšťadle či odlišnou vstupnou surovinou. Ďalšou štúdiou, s ktorou môžeme porovnať naše stanovenie antioxidačnej aktivity krocínu je štúdia autorov Hamid et al. (2009). V experimente bol krocín izolovaný z tyčínok šafránu. Konečnej vzorke bola upravená koncentrácia v rozpúšťadle PBS na 0,0025 mM.



Obrázok 3 Porovnanie antiradikálového účinku štyroch rôznych antioxidantov v 60. minúte merania. $c = 0,005 \text{ mM}$, $(n = 3)$.



Rozdielne písmená nad stĺpcami značia štatisticky rozdielne hodnoty, $p < 0.05$.

Záver

Práca sa zameriava na tému voľných radikálov a dôsledkov nadmernej tvorby radikálov a nedostatočných prirodzených antioxidačných mechanizmov v ľudskom organizme, ktoré vedú k stavu oxidačného stresu. Karotenoidy hrajú v ľudskom tele veľmi dôležitú úlohu, nielen ako prekursor vitamínu A, ale tiež ako antioxidanty, zlúčeniny schopné zabrániť škodlivému pôsobeniu voľných radikálov. Cieľom práce bolo vyhodnotiť antioxidačné vlastnosti krocínu ako primárneho karotenoidu v šafráne, ktorý je pre vedeckú komunitu čoraz zaujímavejší z dôvodu jeho potenciálnych prínosov pre zdravie. Výsledky preukázali, že najefektívnejším antioxidantom z testovaných látok pri použitej koncentrácii $0,005 \text{ mM}$ bola štandardná antioxidačná látka – kyselina L-askorbová (85 % ·DPPH inhibičná účinnosť), avšak krocín ako prírodná alternatíva vykazovala podobnú aktivitu a to 76,3 %. Navyše, inhibičný účinok krocínu je porovnateľný so syntetickými antioxidantmi - BHA (77,2 % ·DPPH inhibičná účinnosť) a BHT (79,5 % ·DPPH inhibičná účinnosť).

Krocín vykazuje značnú antioxidačnú aktivitu, čo možno pozorovať aj v porovnaní s antiradikálnym účinkom štandardných antioxidantov, ako sú BHT, BHA a kyselina L-askorbová. Keďže išlo o prvotné experimenty, na spoľahlivejšie stanovenie antioxidačnej aktivity krocínu je potrebné experimenty zopakovať niekoľkokrát, s rozsiahlejšou koncentračnou škálou a s rôznymi pomermi testovanej látky s radikálom DPPH.

PodĎakovanie: Táto práca vznikla s podporou grantu VEGA č. 2/0136/20 a VEGA no. 1/0012/19, projektu APVV č. 16-0088 a Programu podpory Mladých výskumníkov STU VEFARO č. 1846.

Literatúra

- ASSIMOPOULOU, A. N., SINAKOS, Z., PAPAGEORGIOU, V. P. (2005). Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. In *Phytotherapy Research*. 19 (11), 997-1000.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. In *LWT – Food Science and Technology* 28 (1), 25–30.
- HAVELKOVÁ, A. (2006). Oxidační stres, lidské choroby a biomarkery. In *Bioprospect* 16 (3), 24–25.
- KAFI, M., KAMILI, A., HUSAINI, A. M. et al. (2018). An expensive spice saffron (*Crocus sativus* L.): a case study from Kashmir, Iran, and Turkey. In: *Global Perspectives on Underutilized Crops*. Springer, Cham, 109-149.



5. LEE, K. J., OH, Y. Ch., CHO, W. K. et al. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015.
6. MYKHAILENKO, O., KOVALYOV, V., GORYACHA, O. et al. (2019). Biologically active compounds and pharmacological activities of species of the genus *Crocus*: A review. In *Phytochemistry* 162, 56–89.
7. PUBCHEM [online]. [cit.2020-11-11]. Dostupné na internete: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Crocin>
8. WILSKA-JESZKA, J. Food colorants. 006, 245–274, ISBN 9781420009613.
9. ZHANG, A., SHEN, Y. CEN, M. et al. (2019). Polysaccharide and crocin contents, and antioxidant activity of saffron from different origins. In *Industrial Crops and Products* 133, 111–117.

Kontaktné adresy: Ing. Aneta Ácsová, Ing. Silvia Martiniaková, PhD.; doc. Ing. Jarmila Hojerová, PhD., Bc. Dominika Ďurčová, Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: aneta.acsova@stuba.sk, silvia.martiniakova@stuba.sk, jarmila.hojerova@stuba.sk, xdurcovad@stuba.sk



ANALÝZA CELKOVÉHO ARZÉNU V POTRAVINÁCH DETERMINATION OF TOTAL ARSENIC IN FOODS

**Daniela Borošová, Ludmila Sirotová, Renáta Briedoňová, Iveta Nagyová,
Vladimír Pavlík, Alena Ostrolucká, Jana Dolinská, Jana Markušová**

Abstract: Determination of total arsenic in foods is solved in the project No 7.15 of Programs and projects of Regionals Authorities of Public Health in Slovak Republic. During the years 2016-2019 were sampled foods for infants and young children, foods for special medical purposes and dietary supplements, and complete meals. From the 173 evaluated samples, the highest content of total arsenic was determined in samples dietary supplements on base of algae, minerals and herbal teas. The average content of total arsenic in foods for infants and young children reached the value $0,052 \pm 0,029$ mg/kg.

Keywords: arsenic, foods, atomic absorption spectrometry

Úvod

Arzén je toxický a je zaradený do 1. skupiny látok s karcinogénnym účinkom. Pre človeka sú toxickéjšie anorganické formy ako organické (Jain, C. K. et al. 2000; Leermakers, M. et al. 2006). Organické zlúčeniny sa vyskytujú hlavne v morských živočíchoch a riasach (Francesconi, K. A. et al. 2004). Množstvo 100-300 mg bolo stanovené ako letálna dávka anorganického arzénu. Otravy arzénom spôsobujú problémy tráviacej sústavy, ktoré vedú k celkovej dehydratácii organizmu a obehovému zlyhaniu, dochádza k poškodeniu pečene a obličiek. Arzén už pri nízkych koncentráciách pôsobí ako endokrinný disruptor pre receptory steroidných a tyreoidálnych hormónov a receptorov kyseliny retinovej. Mnohé štúdie potvrdili úzky vzťah medzi príjmom arzénu a vznikom rakoviny kože, pľúc, močového mechúra či pečene a poškodením nervovej sústavy (Vahter, M. et al. 2001; ADSTDR 2007; Li, L. et al. 2016).

Zdroje arzénu možno rozdeliť na prírodné a zdroje spojené s ľudskou činnosťou. Arzén je súčasťou minerálov, hlavne vo forme arzeničnanov a sulfidov (napr. realgár - As_4S_4 , arzenopyrit - FeSAs). Environmentálny zdroj arzénu je spojený s metalurgickým a hutníckym priemyslom a spaľovaním fosílnych palív. Nemalý vplyv na prítomnosť arzénu v životnom prostredí má aj použitie arzénu v prostriedkoch na konzerváciu dreva, herbicídoch a insekticídoch, či aplikácia čistiarenských kalov (Mandal, B. K. et al. 2002).

K najvýznamnejším zdrojom expozície človeka arzénu patrí pitná voda a potraviny. Príjem arzénu z potravín je rizikový hlavne v oblastiach s výraznou environmentálnou záťažou alebo súvisí s prirodzene sa vyskytujúcim vyšším obsahom arzénu v pôde a vode (Ursínyová, M. 2011). Monitorovanie arzénu v potravinách vychádza z Odporúčania komisie (EÚ) 2015/1381 a jeho účelom je presný odhad expozície zo širokej škály potravín, ktorá je odrazom spotrebiteľských návykov.

Literárne zdroje uvádzajú, že najvyššie priemerné obsahy celkového arzénu sú v komoditách ako sú ryby, morské produkty, produkty alebo výživové doplnky na báze rias (špeciálne hijiki) (2,3837 mg/kg); cereálie, cereálne produkty, ryža (0,0725 mg/kg); káva, čaj, kakao (0,0613 mg/kg); zelenina a strukoviny (0,0366 mg/kg); cukor a čokoláda (0,0321 mg/kg). Pre európsku populáciu bol stanovený priemerný denný príjem anorganického arzénu z vody a potravín na úrovni 0,56 μ g/kg tel. hmotnosti za deň. Zaujímavé je, že zvýšená konzumácia ryže, vedie k expozícii arzénu okolo 1 μ g/kg tel. hmotnosti za deň (EFSA 2010; Ursínyová, M. 2011).



Pre hodnotenie zdravotného rizika z expozície arzénu je dôležité zohľadniť formu prijímaného arzénu. V súčasnej praxi sa bežne stanovuje celkový arzén v potravinách, vodách a biologickom materiáli pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie, buď priamo atomizovaním v grafitovej kyvete (ETA AAS), alebo technikou generovania prchavých hydridov arzénu a následnou ich atomizáciou (HG-AAS) (Koreňovská, M. 2006). Pre stanovenie jednotlivých špecii je vhodné použiť techniky, ktoré umožňujú separáciu jednotlivých špecii a následnú ich detekciu (napr. HPLC-ICP-MS, HG-CT-GC-AAS) (Krachler, M. et al. 2002). Nariadenie komisie (EÚ) 2016/582, pojednáva o analýze anorganického arzénu v súlade s Nariadením komisie (ES) č. 333/2007, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a metódy analýzy na úradnú kontrolu hladín mikroprvkov a procesných kontaminujúcich látok v potravinách. Metódy analýzy použité na účely kontroly potravín musia byť v súlade s ustanoveniami prílohy III k Nariadeniu komisie (ES) č. 822/2004. Metódy analýzy pre celkový obsah arzénu sú vhodné pre skriningové účely pri kontrole hladín anorganického arzénu. Ak je celková koncentrácia arzénu nižšia ako maximálna hladina pre anorganický arzén, nevyžadujú sa ďalšie skúšky a vzorka sa považuje za vzorku, ktorá je v súlade s maximálnou hladinou pre anorganický arzén. Ak sa celková koncentrácia arzénu rovná alebo je vyššia ako maximálna hladina pre anorganický arzén, vykonajú sa následné skúšky s cieľom stanoviť, či koncentrácia anorganického As je vyššia ako najvyššie prípustné množstvo pre anorganický arzén.

Analýza celkového arzénu v potravinách sa rieši ako projekt 7.15 v rámci Programov a projektov úradov verejného zdravotníctva SR od roku 2016. Do uvedeného projektu sú zapojené RÚVZ so sídlom v Banskej Bystrici, RÚVZ so sídlom v Prešove a RÚVZ so sídlom v Nitre.

Materiál a Metódy

Pre stanovenie celkového arzénu v potravinách boli analyzované výživové doplnky na báze minerálov (napr. Ca, Zn, Mg), multivitamínov, doplnky výživy na báze rybieho oleja a rias, jednodruhové a zmesné bylinné čaje, detská strava (počiatočná a následná výživa dojčiat, t. j. ako náhrada materského mlieka, detská výživa na báze mäsa, zeleniny a ovocia, mliečne, ryžové a obilné kaše. Okrajovo bola hodnotená aj položka hotový pokrm, ktorá predstavovala obedovú porciu na báze obilnín, zemiakov, mäsa a rýb. Analyzované vzorky potravín boli odobraté z odchodnej siete v období rokov 2016 až 2019. Celkový počet analyzovaných vzoriek v jednotlivých komoditách je sumarizovaný v Tab. č. 1.

Tab. 1 Počet analyzovaných vzoriek

Rok	Spolu	Výživový doplnok	Čaj	Detská strava	Hotový pokrm
2016	15	3	4	8	
2017	48	18	18	9	3
2018	65	28	21	14	2
2019	45	20	24	0	1
Spolu	173	69	67	31	6
Podiel (%)		39,9	38,7	17,9	3,5

Metóda A: Návažok vzorky potravín podľa tabuľky č. 2 sa mineralizoval v Apione (Tessecc, ČR) v prostredí kyslíka, oxidov dusíka a ozónu. Vzniknutý popol sa rozpustil v zriedenej HNO₃ (1:1) a doplnil sa na objem 25 ml destilovanou vodou. K 10 ml rozpusteného mineralizátu sa pridali 1,2 ml koncentrovanej HCl a 1,5 ml roztoku KI (5%) s kyselinou askorbovou (5%). Roztok sa nechal stáť minimálne 16 hodín pri laboratórnej teplote. Arzén (III) v roztoku vzorky reagoval s vodíkom v stave zrodu po reakcii NaBH₄ (0,2 % v 0,5%



NaOH) s HCl (3%) v prietokovom systéme FIAS100 (PERKIN Elmer, USA). Prietok HCl bol nastavený na 7 ml/min a prietok NaBH₄ na 3,5 ml/min. Vzniknutý prchavý hydrid arzénu AsH₃ sa atomizoval v elektricky vyhrievanej kremennej cele atómového absorpčného spektrofotometra 4100 ZL (PERKIN Elmer, USA). Absorbancia arzénu sa merala pri 193,7 nm po atomizácii pri 900 °C.

Tab. 2 Návažky vzorky, limit detekcie (LOD) a limit kvantifikácie (LOQ) pre metódu A

Komodita	Návažok	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Výživové doplnky, Čaj			
Detská strava	1 g	0,005	0,012
Rastlinné a živočíšne tuky a oleje	2,5 g	0,002	0,005

Metóda B: Návažok vzorky potravín podľa tabuľky č. 3 sa mineralizoval mikrovlnným spôsobom v uzavretom systéme MARS Xpress 5 (CEM Cororation. USA). Roztok mineralizátu sa priamo analyzoval v grafitovej kyvete technikou ETA AAS. Absorbancia arzénu sa merala so Zeemanovou korekciou pozadia prístrojom SpectrAA 240Z (Varian, Australia). Príprava a analýza vzorky bola realizovaná podľa interného štandardného pracovného postupu RÚVZ so sídlom v Nitre.

Tab. 3 Návažky vzorky, limit detekcie (LOD) a limit kvantifikácie (LOQ) pre metódu B

Komodita	Návažok	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Výživové doplnky, Čaj	0,25 g	0,023	0,110
Detská strava	10 g	0,0006	0,0028
Rastlinné a živočíšne tuky a oleje	1 g	0,006	0,028

Metóda C: Návažok vzorky potravín podľa tabuľky č. 4 sa spaľoval v prítomnosti koncentrovanej HNO₃ v muflovej peci (A9X, Aneta, SR) pri 400-450 °C (6-8 hod.). Atomizácia As prebieha v grafitovej kyvete technikou ETA AAS. Absorbancia sa merala so Zeemanovou korekciou pozadia prístrojom AAnalyst 800 (PERKIN Elmer, USA). Príprava a analýza vzorky bola realizovaná podľa interného štandardného pracovného postupu RÚVZ so sídlom v Prešove.

Tab. 4 Návažky vzorky, limit detekcie (LOD) a limit kvantifikácie (LOQ) pre metódu C

Komodita	Návažok	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Výživové doplnky, Čaj			
Detská strava	0,25 g	0,007	0,023
Rastlinné a živočíšne tuky a oleje	0,5 g	0,003	0,012

Výsledky a Diskusia

Cieľom projektu Analýza celkového arzénu v potravinách je monitoring obsahu celkového arzénu v potravinách s dôrazom na potraviny na počiatočnú a následnú výživu dojčiat a malých detí, na potraviny určené na osobitné lekárske účely a výživové doplnky.

Maximálne hodnoty obsahu arzénu (anorganický As) v potravinách určuje Nariadenie komisie (EÚ) 2015/1006 pokiaľ ide o maximálne hodnoty obsahu anorganického arzénu v potravinách, v rámci novelizácie Nariadenia Komisie (ES) č. 1881/2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov. Legislatívne v SR je obsah arzénu v potravinách limitovaný podľa Výnosu MP SR a MZ SR č. 18558/2006 SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu SR upravujúca kontaminanty v potravinách.

Požiadavky na potraviny na osobitné výživové účely a na výživové doplnky určuje Výnos MP SR a MZ SR č.16826/2007-OL s novelizáciami č. 20374/2009-OL a č. 9015/2010-



OL a Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 609/2013, s delegovaným Nariadením komisie (EÚ) č. 2016/127, ktorý určuje zloženie a informácie platné pre potraviny na počiatočnú a následnú výživu dojčiat, výživové prípravky na báze obilia a ostatné potraviny na výživu dojčiat a malých detí a č. 2016/128, ktorý určuje požiadavky na zloženie potravín na osobitné lekárske účely.

Z hodnotených komodít je legislatívne posudzovaná len maximálna hodnota obsahu anorganického arzenu pre ryžu určenú na výrobu potravín pre dojčatá a malé deti (0,1 mg/kg). Obsah arzenu v ostatných kontrolovaných komoditách sa hodnotí ako monitoring, pre následné legislatívne konania v rámci expozície arzenu z potravín.

Stanovené obsahy celkového arzenu v hodnotených komoditách sumarizuje Tab. č. 5. Najvyššie priemerné obsahy celkového arzenu sa stanovili v komodite výživový doplnok, následne v bylinných čajoch a v strave určenej pre dojčatá a malé deti, kde sa stanovil priemerný obsah celkového arzenu $0,052 \pm 0,029$ mg/kg. Priemerný najnižší obsah arzenu bol stanovený v hotovom pokrme.

Tab. 5 Rozsah obsahu celkového arzenu v hodnotených komoditách

Komodita	Počet vzoriek < LOQ*	Obsah celkového As (mg/kg)	Priemerný obsah celkového As (mg/kg)
Výživový doplnok	17	0,007 – 14,2	$0,838 \pm 3,242$
Čaj	43	0,008 – 0,330	$0,102 \pm 0,081$
Detská strava	29	0,018 – 0,073	$0,052 \pm 0,029$
Hotový pokrm	3	0,028 – 0,058	$0,043 \pm 0,021$

LOQ* – limit kvantifikácie

V rámci analyzovaných vzoriek najvyšší obsah celkového arzenu bol stanovený vo výživovom doplnku na báze rias ($14,2 \pm 2,0$ mg/kg). Vysoký obsah arzenu je charakteristický pre morské ryby, riasy a zvlášť morské kôrovce a mäkkýše. V týchto potravinách je ale prevažná časť arzenu obsiahnutá takmer v netoxických organických zlúčeninách. Ale podľa odporúčania (EÚ) 2018/464 o monitorovaní kovov a jódu v morských riasach, halofytoch a vo výrobkoch na báze morských rias je povolený maximálny limit na celkový arzén 3 mg/kg. Na zváženie by v tomto prípade stálo vykonanie analýzy na stanovenie organického a anorganického arzenu. Vo výživovom doplnku na báze minerálov (Ca, Mg, a Zn) bol stanovený obsah celkového arzenu 0,790 mg/kg.

Rozsah obsahu celkového arzenu v bylinných čajoch značne varioval. Dôvodom môžu byť rôzne podmienky pestovania bylín, spojené s prirodzeným pôdnym zložením, alebo v dôsledku environmentálnej kontaminácie. Najvyšší obsah arzenu sa stanovil v sušenej žihľave dvojdomej.

Z 31 hodnotených vzoriek potravín na prípravu detskej stravy, v 29 vzorkách bol analyzovaný obsah celkového arzenu pod hodnotu LOQ (0,012 mg/kg). Priemerný obsah celkového arzenu v strave na počiatočnú a následnú výživu dojčiat a malých detí bol ($0,052 \pm 0,029$) mg/kg, v rozsahu 0,018 – 0,073 mg/kg. Pre porovnanie, v štúdií Jacson et al. 2012, uvádza obsah celkového arzenu v počiatočnej mliečnej výžive 0,0022 – 0,0126 mg/kg, v ovocnom a zeleninovom pyré 0,0003-0,022 mg/kg. Aj v rámci monitoringu RÚVZ sa potvrdila skutočnosť, že fortifikovaná detská výživa s ryžou obsahovala vyššie množstvo celkového arzenu ako strava bez ryže. Z hodnotených vzoriek potravín na prípravu detskej stravy bol stanovený najvyšší obsah celkového arzenu v sušenej ryžovej kaši ($0,073 \pm 0,004$) mg/kg. Stanovenie arzenu v hotovom pokrme je zaujímavý ukazovateľ expozície tomuto prvku. Hoci monitoring ukázal najnižší priemerný obsah celkového arzenu v hodnotených



komoditách, nemôžeme ho považovať za jednoznačný ukazovateľ expozície, vzhľadom k malému počtu analyzovaných vzoriek bez širšej surovinovej základne.

V rámci rozsiahleho monitoringu v SR bolo zhodnotené riziko príjmu arzénu z potravín a vôd vypočítaním priemerného denného príjmu celkového arzénu z potravín na úrovni 0,53 µg/kg telesnej hmotnosti za deň a maximálneho príjmu na úrovni 4,56 µg/kg telesnej hmotnosti za deň¹¹. Hoci vybrané komodity v rámci monitoringu RÚVZ neprekračovali najvyššie prípustné hodnoty pre celkový arzén, môžu pri pravidelnej konzumácii výrazne prispieť k celkovej expozícii arzénu z potravín. Obzvlášť treba venovať pozornosť potravinám na prípravu stravy určenej pre dojčatá a malé deti.

Záver

V rámci projektu Analýza celkového arzénu v potravinách boli hodnotené potraviny na počiatočnú a následnú výživu dojčiat a malých detí, potraviny určené na osobitné lekárske účely, výživové doplnky a hotové pokrmy. Zo 173 hodnotených vzoriek bol stanovený najvyšší priemerný obsah celkového arzénu vo výživových doplnkoch na báze rias, následne na báze minerálnych zložiek a čajov. Pri hodnotení obsahu arzénu v detskej strave sa potvrdila skutočnosť o vyšších obsahoch arzénu, ak zložkou potraviny bola ryža. Hoci až 53% z hodnotených vzoriek neprekročilo hodnotu limitu kvantifikácie 0,012 mg/kg, z výsledkov vyplýva dôležitosť monitoringu celkového arzénu, jednak pre kontrolu kvality a zdravotnej neškodnosti predávaných produktov, ale aj pre hodnotenie výslednej expozície človeka z príjmu arzénu.

Literatúra

1. ADSTDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007, TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ARSENIC, p. 559.
2. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2010. Scientific Opinion on Arsenic in Food, EFSA Journal, vol. 7, no. 10, p. 1351.
3. Francesconi, K. A. et al. 2004. Determination of Arsenic Species: A Critical Review of Methods and Applications, 2000-2003. Analyst, vol. 129, p. 373-395.
4. Jackson, B. P. et al. 2012. Arsenic concentration and speciation in infant formulas and first foods. Pure and Applied Chemistry, vol. 84, no. 2, p. 215-223.
5. Jain, C. K. et al. 2000. Arsenic: Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques. Water Research, vol. 34, p. 4304 - 4012.
6. Koreňovská, M. 2006. Determination of arsenic, antimony, and selenium by FI-HG-AAS in foods consumed in Slovakia. Journal of Food and Nutrition Research, vol. 45, no. 2, p. 84-88.
7. Krachler, M. et al. 2002. HPLC-HG-AAS and HPLC-ICP-MS for speciation of arsenic and antimony in biomonitoring. Application Note, p. 10-14.
8. Leermakers, M. et al. 2006. Toxic Arsenic Compounds in Environmental Samples: Speciation and Validation. TrAC Trends in Analytical Chemistry, vol. 25, p. 1-10.
9. Li, L.; Chen, F.: Oxidative Stress, Epigenetics, and Cancer Stem Cells in Arsenic Carcinogenesis and Prevention. Free Radicals Medicine (X Shi, Section Editor), 2016
10. Mandal, B. K. et al. 2002. Arsenic round the world: a review. Talanta, vol. 58, p. 201-235.
11. Ursínyová, M. 2011. Hodnotenie rizika príjmu arzénu z potravín a vody v SR (<https://www.mpsr.sk/hodnotenie-rizika-z-prijmu-arzenu-z-potravin-a-vody-v-sr/525-111-525-5123/>)
12. Vahter, M. et al. 2001. Concha, G.: Role of Metabolism in Arsenic Toxicity. Pharmacology & Toxicology, vol. 89, p. 1-5.

Kontaktné adresy: Ing. Daniela Borošová, PhD., MPH, Ing. Ludmila Sirotová, PhD., Ing. Renáta Briedoňová, Ing. Iveta Nagyová, PhD., Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici, Cesta k nemocnici 1, 975 56 Banská Bystrica, Slovensko. E-mail: daniela.borosova@vzbb.sk, sirotova@vzbb.sk, renata.briedonova@vzbb.sk, nagyova@vzbb.sk. Ing. Vladimír Pavlík, PhD., Ing. Alena Ostrolucká, PhD., Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Nitre, Štefánikova 58, 949 63 Nitra, Slovensko. E-mail: nr.aas@uvzs.sk. Ing. Jana Dolinská, Ing. Jana Markušová, Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Prešove, Hollého 5, 080 01 Prešov, Slovensko. E-mail: po.dolinska@uvzs.sk, po.markusova@uvzs.sk



HODNOTENIE ANTIMIKROBIÁLNEJ AKTIVITY Kyseliny fenylmliečnej a kyseliny 4- hydroxyfenylmliečnej produkovaných *Geotrichum candidum* G EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PHENYLACTIC ACID AND 4-HYDROXYPHENYLACTIC ACID PRODUCED BY *Geotrichum candidum* G

Mária Greifová, Gabriel Greif, Lucia Čaladiková

Abstract: The *G. candidum* G strain was able to transform the precursor amino acids phenylalanine and tyrosine into respective organic acids phenyllactic acid (PLA) and 4-hydroxyphenyllactic acid (4-OHPLA) in synthetic medium (SM). The SM medium was supplemented with tryptone to promote the growth of *G. candidum* G, thereby step up the production of the metabolite. The evaluation of the antimicrobial activity of produced organic acids PLA and 4-OHPLA in SM, showed their antibacterial activity against *E. coli* CCM 3988, *L. monocytogenes* NCTC 4886 and *P. aeruginosa* CCM 3955 and their antifungal activity by inhibiting the growth of *P. purpurogenum* CCM F-257 and *R. oryzae* CCM F-8284.

Keywords: *Geotrichum candidum*; phenolic acids: PLA, 4-OHPLA; antimicrobial activity

Úvod

Baktérie mliečneho kysnutia (BMK) sú známe produkciou antagonistických zlúčenín, ktoré inhibujú plesne a baktérie spôsobujúce kazenie potravín (Yoo, Lim, Yoon, 2016). Kyselina 3-fenylmliečna (kyselina 2-hydroxy-3-fenylpropánová alebo kyselina β-fenylmliečna, PLA) a 4-hydroxyfenylmliečna (4-OHPLA) môžu byť produkované mnohými mikroorganizmami, predovšetkým BMK (Mu et al., 2012), ako sú *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Weissella* a *Leuconostoc* (Liu et al., 2017), avšak ich produkcia sa medzi kmeňmi a druhmi značne líši. Predpokladá sa, že správanie protiplesňovej aktivity pozitívne súvisí s obsahom PLA a 4-OHPLA vo filtráte bakteriálnej kultúry (Mu et al., 2012).

Kyselina PLA je organická kyselina, ktorá bola po prvýkrát purifikovaná z *G. candidum*. Je to prírodná širokospektrálna antimikrobiálna zlúčenina odvodená od katabolizmu fenylalanínu (Jung, Hwang, Lee, 2019) s účinkom pôsobiacim proti baktériám, kvasinkám a plesniam (Wang et al., 2018). Kyselina 4-hydroxyfenylmliečna alebo 4-hydroxyfenyllaktát (L-forma) je metabolit tyrozinu.

Lavermicocca et al. sa zamerali na štúdium produkcie PLA a 4-OHPLA z *Lactobacillus plantarum* 21B, izolovaného z kvásku s protiplesňovou aktivitou proti niekoľkým druhom vláknitých húb, čo bola prvá správa poukazujúca na produkciu PLA a 4-OHPLA pomocou BMK (Mu et al., 2010). Určité kmene *L. plantarum*, ako napríklad *L. plantarum* 1081, *L. plantarum* 778, *L. plantarum* 1073 a *L. plantarum* CECT-221, môžu produkovať PLA v množstvách až 5,2, 4,1, 2,6, 1 a 1,38 mM PLA *in vitro*, zatiaľ čo kmene kvasiniek, ako je *G. candidum*, môžu produkovať 5,2 mM PLA (Naz, Cretenet, Vernoux, 2013). V poslednej dobe bolo niekoľko BMK testovaných na antimykotický potenciál a ich schopnosť produkovať PLA, ale v tejto oblasti sú potrebné ďalšie štúdie z dôvodu veľkej rozmanitosti BMK a plesní spôsobujúcich kazenie potravín (Yoo, Lim, Yoon, 2016).



Na druhej strane PLA môže inhibovať mnoho gram-pozitívnych baktérií, zahŕňajúc *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* a *Bacillus cereus* a gram-negatívnych baktérií vrátane *Salmonella enteritidis*, *E. coli* (Liu et al., 2018) a *Klebsiella oxytoca* (Yoo, Lim, Yoon, 2016). Okrem antibakteriálnej aktivity PLA pôsobiacej na patogénne baktérie v potravinách, spolu s jej príbuznou zlúčeninou 4-OHPLA, môžu tiež inhibovať kvasinky a plesne (Liu et al., 2017) spôsobujúce kazenie potravín, ako sú kvasinky *Candida pulcherrima*, *Candida parapsilosis* a *Rhodotorula mucilaginosa* a široké spektrum plesní vrátane mykotoxických druhov, ako sú *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* a *Penicillium citrinum* (Yu et al., 2015). Kyselina fenylmliečna demonštruje širokospektrálnu antibakteriálnu a antifungálnu aktivitu prostredníctvom synergie s ostatnými metabolitmi produkovanými BMK s aktivitou závislou od deštrukcie bunkových membrán (Jung, Hwang, Lee, 2019). Kyselina fenylmliečna je považovaná za racionálnu antibakteriálnu látku, pomocou ktorej je možné kontrolovať bakteriálnu kontamináciu v potravinárskych výrobkoch a spracovateľských závodoch (Liu et al., 2018). Vzhľadom na svoju širokú inhibičnú aktivitu proti množstvu mikroorganizmov prenášaných potravinami má PLA zaujímavý potenciál ako antimikrobiálne činidlo v potravinárskom priemysle (Yu et al., 2015)

Cieľom našej práce bolo štúdium produkcie PLA a 4-OHPLA *G. candidum* v syntetickom médiu a v syntetickom médiu s pridaným tryptónom a antimikrobiálnej účinnosti vyprodukovaných fenolových kyselín voči vybraným baktériám a plesniam.

Materiál a metódy

Testovaný kmeň: *Geotrichum candidum* G (izolovaný a identifikovaný z cottage syra na oddelení výživy a hodnotenia potravín FCHPT STU Bratislava) bol stacionárne kultivovaný v bankách obsahujúcich po 10 ml syntetického média s rôznym zastúpením prekursorov tyrozínu a fenylalanínu pri teplote 30 °C za aeróbnych podmienok. Jeho vstupná koncentrácia bola 10⁶ KTJ/ml. V stanovených časových intervaloch sme odoberali vzorky z jednotlivých syntetických médií a zmerali sme ich pH. Následne sme vzorku odstredili pri 9000 ot.min⁻¹ počas 10 minút. Bezbunkový supernatant sme zmrazili do následnej analýzy metabolitov pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC) ako aj analýzy ich antimikrobiálnej aktivity.

Analýzy pomocou HPLC kyselín fenylmliečnej a 4-hydroxyfenylmliečnej boli realizované na kvapalinovom chromatografe DeltaChrom™ (Watrex, Bratislava, Slovensko) vybavenom detektorom UV- Applied Biosystem 759A (210 nm) (San Diego, USA) a detektorom indexu lomu WellChromK-2301 (Knauer, Berlín, Nemecko). Analytické podmienky boli nasledujúce: kolóna AMINEX HPX-87H⁺ (300 × 7,8 mm), 8 μm, (Bio-Rad Laboratories, Inc Česká republika; mobilná fáza, kyselina sírová (H₂SO₄, c = 5 mmol.dm⁻³); prietoková rýchlosť, 0,7 ml / min; údaje boli zhromaždené a spracované chromatografickou stanicou Clarity (DataApex, Praha, Česká republika).

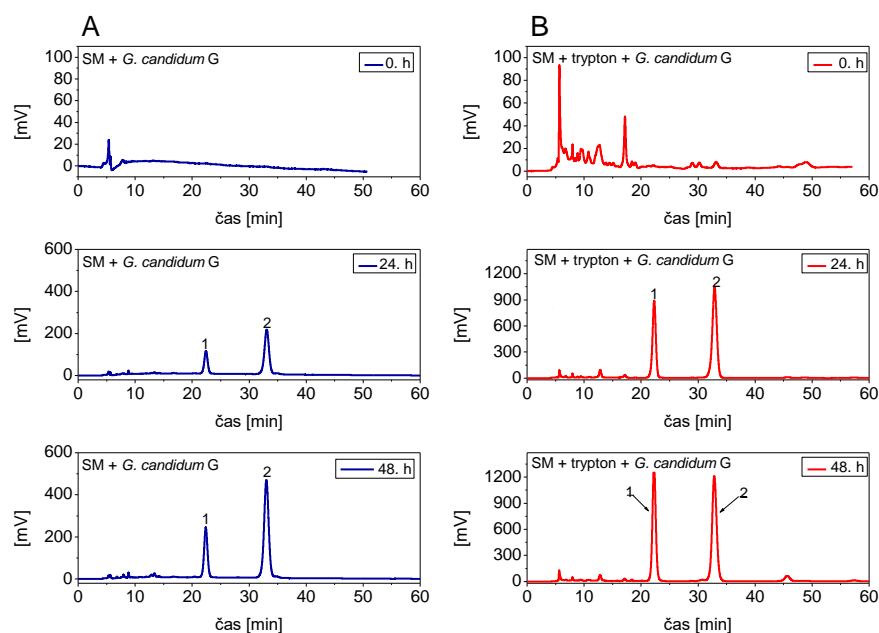
Antimikrobiálna aktivita metabolitov bola hodnotená platňovou metódou s využitím diskovej difúznej metódy na vybraných kmeňoch mikroorganizmov.

Indikátorové mikroorganizmy: *Candida parapsilosis* ATCC 22019; *Escherichia coli* CCM 3988; *Listeria monocytogenes* NCTC 4886; *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955; *Staphylococcus aureus* CCM 3953; *Alternaria alternata* CCM F-128; *Aspergillus flavus* CCM F-171; *Mucor racemosus* CCM 8190; *Penicillium purpurogenum* CCM F-257; *Rhizopus oryzae* CCM F-8284. Všetky pokusy boli robené opakovane, namerané hodnoty boli spracované v programe MS Excel 2010, z ktorých bol vypočítaný priemer a smerodajná odchýlka.

Výsledky a diskusia

Produkcija fenolových kyselín Geotrichum candidum G v syntetickom médiu a syntetickom médiu obohatenom o tryptón: Produkcia fenolových kyselín bola sledovaná v syntetickom médiu obohatenom o aminokyseliny (0,1 % tyrozín a 0,1 % fenylalanín) (A) po pridaní *G. candidum G* pri stacionárnej kultivácii v termostate pri 30 °C za aeróbných podmienok. V prípade pokusu B bola produkcia organických kyselín sledovaná v syntetickom médiu s rovnakým prídavkom tyrozínu a fenylalanínu ako v pokuse A a taktiež pri rovnakých podmienkach kultivácie, avšak do syntetického média bol pridaný tryptón.

Obrázok 1 Chromatogramy produkcie fenolových kyselín: 4-OHPLA (1), PLA (2) v SM (A) a v SM+tryptón (B) transformovaných z tyrozínu a fenylalanínu *G. candidum G* pri 30 °C



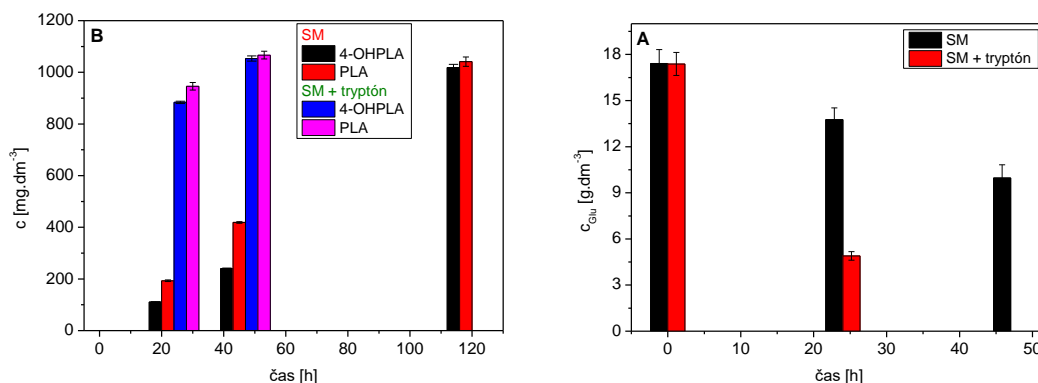
Z chromatogramov HPLC produkcie fenolových kyselín (Obr. 1.) možno vidieť, že v prípade oboch vzoriek syntetického média z pokusov A a B v čase 0 h. nebola detekovaná prítomnosť fenolových kyselín. V ďalších vzorkách odoberaných v 24 hodinových časových intervaloch možno pozorovať postupnú produkciu kyselín 4-OHPLA a PLA transformáciou aminokyselín tyrozínu a fenylalanínu.

Kultivačné médiá v pokusoch A a B boli obohatené o glukózu ($15 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) ako zdroj uhlíka. Spotreba glukózy bola väčšia v médiu s prídavkom tryptónu ako zdroja dusíka (Obr. 2A), čo súviselo aj s rastom *G. candidum G*.

V syntetickom médiu bez prídavku tryptónu bola spotreba glukózy pomalšia v porovnaní so syntetickým médiom obohateným o tryptón (Obr. 2A), čo bolo zapríčinené práve prítomnosťou tryptónu, ktorý je v kultivačných médiách využívaný ako zdroj dusíka pre podporenie rastu mikroorganizmov. Koncentrácie fenolových kyselín počas procesu transformácie prekursorových aminokyselín v pokuse A dosiahli v 120 hodine hodnoty (4-OHPLA $1018,14 \pm 12,79 \text{ [mg} \cdot \text{dm}^{-3}]$ a PLA $1041,18 \text{ [mg} \cdot \text{dm}^{-3}]$). Avšak v pokuse B boli koncentrácie sledovaných kyselín (4-OHPLA $1053,36 \pm 18,36 \text{ [mg} \cdot \text{dm}^{-3}]$ a PLA $1066,21 \pm 14,96 \text{ [mg} \cdot \text{dm}^{-3}]$) dosiahnuté už v 48 hodine (Obr. 2A). Bolo to zapríčinené prítomnosťou tryptónu, ktorý ako zdroj dusíka podporoval rast *G. candidum G*, a tým došlo k intenzívnejšej transformácii organických kyselín.



Obrázok 2 Spotreba glukózy (A) a produkcia fenolových kyselín (B) *G. candidum* G v syntetickom médiu a syntetickom médiu s tryptónom pri 30 °C



Hodnotenie antibakteriálnej aktivity organických kyselín: Bola sledovaná antibakteriálna aktivita organických kyselín transformovaných z tyrozínu a fenylalanínu po pridaní *G. candidum* G do syntetického média a syntetického média s tryptónom. Schopnosť inhibície rastu vyprodukovaných kyselín 4-OHPLA a PLA bola pozorovaná voči vybraným indikátorovým baktériám v percentuálnom vyjadrení.

Antimikrobiálnu aktivitu vyprodukovaných organických kyselín v syntetickom médiu a syntetickom médiu s tryptónom sme hodnotili diskovou difúznou metódou s využitím mozgovo-srdcového (BHI) soft agaru proti dvom gram-pozitívnym baktériám, a to *L. monocytogenes* NCTC 4886 a *S. aureus* CCM 3953, dvom gram-negatívnym baktériám *E. coli* CCM 3988 a *P. aeruginosa* CCM 3955. Rastová odpoveď (% inhibície) uvedených indikátorových mikroorganizmov sa sledovala v prítomnosti vytvorených kyselín PLA a 4-OHPLA. V oboch prípadoch vzoriek syntetického média bol pozorovaný inhibičný účinok už po 24 hodinovej inkubácii médií, kedy sa začali vytvárať prvé množstvá PLA a 4-OHPLA. Porovnaním výsledkov možno zhodnotiť, že v prípade syntetického média s tryptónom bola inhibičná účinnosť voči testovaným indikátorovým mikroorganizmom výraznejšia ako v prípade syntetického média bez prídavku tryptónu, kde bola inhibícia minimálna. Súvisí to s vyššími koncentraciami transformovaných organických kyselín v syntetickom médiu s tryptónom (Obr. 2B).

Hodnotenie antifungálnej aktivity organických kyselín: Antifungálnu aktivitu sme sledovali proti piatim rôznym indikátorovým kmeňom húb, a to *A. alternata* CCM F-128, *A. flavus* CCM F-171, *M. racemosus* CCM 8190, *P. purpurogenum* CCM F-257 a *R. oryzae* CCM F-8284. Pri hodnotení stupňa inhibície sme suspenzie spór inokulovali do soft Sabouraudovej pôdy. Kyselina fenylmliečna a jej zodpovedajúci 4-hydroxyderivát (4-OHPLA) vykazovali antifungálnu aktivitu proti dvom z vybraných indikátorových plesní, *P. purpurogenum* CCM F-257 a *R. oryzae* CCM F-8284. V prípade ostatných testovaných kmeňov nebola pozorovaná žiadna viditeľná inhibícia. Vzhľadom na získané číselné hodnoty % inhibície je preukázateľné, že antifungálna aktivita PLA a 4-OHPLA bola významnejšia ako ich antibakteriálna aktivita. V prípade *R. oryzae* CCM F-8284 boli inhibičné zóny viditeľné po 24 hodinách, avšak pri *P. purpurogenum* CCM F-257 boli zóny viditeľné až po 4 dňoch. Z výsledkov vyplýva, že s narastajúcou koncentráciou vytvorených kyselín PLA a 4-OHPLA, a teda s klesajúcim pH dochádzalo k zvyšovaniu inhibičného účinku voči indikátorovým plesniam. Najcitlivejším voči vyprodukovaným kyselinám bol *R. oryzae* CCM F-8284, pri ktorom sa dosiahla 10 % inhibícia v prípade syntetického média a 7,5 % inhibícia u syntetického média s tryptónom s použitím vzoriek odobratých po 72 hodinovej kultivácii. Menej citlivá bola pleseň *P. purpurogenum*



CCM F-257 s dosiahnutou inhibíciou 0,4 % pre syntetické médium a 2,3 % pre syntetické médium s tryptónom vo vzorkách odoberaných v rovnakých časoch.

V zhrnutí možno skonštatovať, že v prípade vyššej koncentrácie vytvorených PLA a 4-OHPLA by sme mohli dosiahnuť vyšší stupeň inhibície. Aj francúzsky inštitút pre pivovarníctvo a sladovníctvo podal v septembri 1999 patent s názvom „Očkovanie *Geotrichum candidum* počas skladovania obilnín alebo iných rastlín“ (Boivin, Malanda, 1999). Vynález spočíva v použití kmeňa *G. candidum*, vláknitej kvasinky, na inhibíciu rastu nežiaducich mikroorganizmov, ako je napríklad *Fusarium* spp. počas procesu výroby sladu, aby sa zabránilo kontaminácii piva toxínom T-2. *Geotrichum candidum* znižuje proliferáciu *Fusarium* spp. a produkciu toxických metabolitov, ale mechanizmus účinku *G. candidum* ešte nebol známy. Kawtharani et al. (2020) sa vo svojej štúdii zamerali na objasnenie mechanizmu interakcie medzi *G. candidum* a *Fusarium* spp. za účelom zlepšenia tohto bioprocesu. Kokultivácia *G. candidum* a *Fusarium* spp. vykazovala takmer 90 % zníženie koncentrácie toxínu T-2. Preukázali, že *G. candidum* produkuje PLA v počiatočných štádiách rastu, čo mohlo byť potenciálne zodpovedné za zníženie rastu fusária a produkcie toxínu T-2. Na preukázanie účinku PLA potom kultivovali *Fusarium sporotrichioides* a *Fusarium langsethiae* v médiu doplnenom o PLA. Očakávané výsledky sa dosiahli pri koncentrácii PLA 300 mg.dm⁻³.

Záver

Dospeli sme k záveru, že kmeň *G. candidum* G je schopný transformovať prekurzorové aminokyseliny fenylalanín a tyrozín na organické kyseliny PLA a 4-OHPLA v syntetickom médiu, pričom doplnením syntetického média o tryptón bol podporený rast *G. candidum* G, a tým sa zintenzívnila aj produkcia daných metabolitov. Pri hodnotení antimikrobiálnej aktivity vyprodukovaných organických kyselín PLA a 4-OHPLA v syntetickom médiu sme potvrdili ich antibakteriálnu aktivitu pôsobiacu proti *E. coli* CCM 3988, *L. monocytogenes* NCTC 4886 a *P. aeruginosa* CCM 3955, ako aj ich antifungálnu aktivitu inhibujúcu rast *P. purpurogenum* CCM F-257 a *R. oryzae* CCM F-8284. Na základe vypočítaných percent inhibície možno zhodnotiť, že ich antifungálna aktivita bola o niečo výraznejšia ako antibakteriálna. Avšak zistené stupne inhibície neboli príliš markantné, čo môže byť dôsledok nízkych koncentrácií transformovaných fenolových kyselín.

Možno skonštatovať, že na overenie účinnosti nami stanovených metabolitov s antimikrobiálnymi vlastnosťami v potravinovom systéme a na podrobnejšie porovnanie s inými typickými antimikrobiálnymi látkami je potrebné uskutočniť viac detailnejších výskumov. Hoci konkrétne PLA sa vyskytuje v mnohých bežných potravinách, akými sú napríklad fermentované potraviny BMK alebo med, stále nie je podľa právnych predpisov povolené používať túto zlúčeninu ako doplnkovú látku v potravinách. Vďaka svojej širokej inhibičnej aktivite proti rôznym mikroorganizmom v potravinách má zaujímavý potenciál pre praktickú aplikáciu ako antimikrobiálne činidlo v potravinárskom priemysle poskytujúc nové perspektívne možnosti použitia tejto prírodnej antimikrobiálnej zlúčeniny na kontrolu plesňových kontaminantov a predĺženie trvanlivosti potravín a/alebo krmív. Na štúdium metabolizmu, účinkov na zdravie a možných toxických účinkov PLA je potrebné vykonať viac pokusov na ľuďoch. Tieto údaje by poskytli možnosť schválenia tejto látky ako legálneho doplnku v potravinách.

PodĎakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. Boivin, P.; Malanda, M. (1999). Inoculation by *Geotrichum candidum* during Malting of Cereals or Other Plants. US Patent 5,955,070, 21 September 1999.



2. Jung, S., Hwang, H., Lee, J. H. 2019. Effect of lactic acid bacteria on phenyllactic acid production in kimchi. *Food Control*, 106, Article Number 106701.
3. Kawtharani, H., Snini, S. P., Heang, S., Bouajila, J., Taillandier, P., Mathieu, F., Beaufort, S. (2020). Phenyllactic acid produced by *Geotrichum candidum* reduces *Fusarium sporotrichioides* and *F. langsethiae* growth and T-2 Toxin concentration. *Toxins*, 12 (4), Article Number 209.
4. Liu, F., Du, L., Zhao, T., Zhao, P., Doyle, M. P. (2017). Effects of phenyllactic acid as sanitizing agent for inactivation of *Listeria monocytogenes* biofilms. *Food Control*, 78, 72-78.
5. Liu, F., Wang, F., Du, L., Zhao, T., Doyle, M. P., Wang, D., Zhang, X., Sun, Z., Xu, W. 2018. Antibacterial and antibiofilm activity of phenyllactic acid against *Enterobacter cloacae*. *Food Control*, 84, 442-448.
6. Mu, W., Yang, Y., Jia, J., Zhang, T., Jiang, B. (2010). Production of 4-hydroxyphenyllactic acid by *Lactobacillus* sp. SK007 fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109 (4), 369-371.
7. Mu, W., Yu, S., Zhu, L., Jiang, B., Zhang, T. (2012). Production of 3-phenyllactic acid and 4-hydroxyphenyllactic acid by *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 fermentation. *European Food Research and Technology*, 235, 581-585.
8. Naz, S., Gueguen-Minerbe, M., Cretenet, M., Vernoux, J. P. (2013). Aromatic amino acids as precursors of antimicrobial metabolites in *Geotrichum candidum*. *FEMS Microbiology Letters*, 344, 39-47.
9. Yoo, J. A., Lim, Y. M., Yoon, M. H. (2016). Production and antifungal effect of 3-phenyllactic acid (PLA) by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 59 (3), 173-178.
10. Yu, S., Zhou, Ch., Zhang, T., Jiang, B., Mu, W. (2015). Short communication: 3-Phenyllactic acid production in milk by *Pediococcus pentosaceus* SK25 during laboratory fermentation process. *Journal of Dairy Science*, 98, 813-817.
11. Wang, F., Wu, H., Jin, P., Sun, Z., Liu, F., Du, L., Wang, D., Xu, W. (2018). Antimicrobial Activity of Phenyllactic Acid Against *Enterococcus faecalis* and Its Effect on Cell Membrane. *Foodborne pathogens and disease*, 15 (10), 645-652.

Kontaktné adresy: doc. Ing. Mária Greifová, PhD., Ing. Gabriel Greif, PhD., Ing. Lucia Čaladíková, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: maria.greifova@stuba.sk, gabriel.greif@stuba.sk, luciacaladikova@gmail.com



ČUČORIEDKY AKO ZDROJ ZDRAVIU PROSPEŠNÝCH ZLÚČENÍN BLUEBERRIES AS A SOURCE OF HEALTH-PROMOTING COMPOUNDS

Eva Hybenová, Anna Mikulajová, Gabriela Luknárová, Ladislav Staruch

Abstract: The aim of this work was to analyse health-promoting substances present in wild bilberries *V. myrtillus* L. and in commercially grown blueberries *V. corymbosum* L. The total polyphenols, flavonoids, anthocyanins, and vitamin C of the berries were evaluated. The results confirmed a relatively high content of these compounds in bilberries, commercially grown berries had substantially lower content of these compounds. The phenolic compounds content ranged from 556.05 to 604.68 mg GAE/100 g of fresh weight (FW) in *V. myrtillus*, and from 199.94 to 244.57 mg GAE/100 g FW in *V. corymbosum*. Total flavonoid content ranged from 128.91 to 206.34 mg/100 g FW in *V. myrtillus*, and from 68.81 to 94.74 mg/100 g FW in *V. corymbosum* (expressed as quercetin equivalent). Total anthocyanin contents were 188.18 mg/100 g FW in *V. myrtillus*, and 7.85 mg/100 g FW in *V. corymbosum*. These differences were also confirmed in vitamin C content, 12.19 mg/100 g FW in *V. myrtillus*, and 5.79 mg/100 g FW in *V. corymbosum*. The results show the blueberry as a source of phenolic compounds and also show that there are different levels of concentrations of phenolic compounds and vitamin C according to the species.

Keywords: bilberry, phenolics, anthocyanins, flavonoids, vitamin C

Úvod

Brusnica čučoriedková (*Vaccinium myrtillus* L.) je jednou z najviac rozšírených divoko rastúcich čučoriedok v Európe. Na Slovensku sa bežne vyskytuje v lesoch a horských oblastiach. V súčasnosti sa na slovenskom aj európskom trhu častejšie objavuje brusnica chocholíkatá označovaná aj ako čučoriedka kanadská (*Vaccinium corymbosum* L.), ktorá je pestovaná komerčne na upravených pôdach. Spotrebiteľský záujem o túto, ale aj iné druhy čučoriedok neustále rastie, najmä kvôli ich potenciálnym zdravotným prospešným účinkom na ľudský organizmus a ich vyváženej sladko-kyslej chuti. Bobule sa môžu konzumovať čerstvé alebo vo forme kompótov, džemov, džúsov, sirupov, ale aj v koncentrovanej forme ako doplnky stravy.

Čučoriedky obsahujú široké spektrum fenolových zlúčenín, známych pre svoje biologické účinky, ako je antioxidačná aktivita, protizápalové a antimikrobiálne účinky. Za najvýznamnejšie v týchto bobuliach sa považujú antokyaníny, ktoré tvoria až 90% z celkových fenolov nachádzajúcich sa v dužine a šupke, ktoré okrem iného dodávajú plodom aj typickú farbu. Čučoriedky obsahujú aj vitamíny a minerálne látky, ktoré taktiež prispievajú k ich zdravotným účinkom. Z vitamínov sú najviac zastúpené vitamín E a vitamín C, ktoré sú známe svojimi antioxidačnými, kancerostatickými a ďalšími pozitívnymi účinkami. Plody obsahujú aj cukry a organické kyseliny, ktorých vzájomný pomer výrazne ovplyvňuje ich chuť. Zloženie čučoriedok je vysoko variabilné a závisí od množstva faktorov, v prvom rade od druhu čučoriedky, ale aj od miesta pestovania, počasia, stupňa zrelosti plodov počas zberu a spôsobu zberu (Zoratti et al., 2016).

Materiál a metódy

Na analýzy boli použité 2 druhy čučoriedok:



- Brusnica čučoriedková (*Vaccinium myrtillus* L.), rok zberu: 2017, Vysoké Tatry, SR
- Brusnica chocholíkatá (*Vaccinium corymbosum* L.), pôvod: Slovensko, zakúpené v roku 2017, producent: Boni Fruti s.r.o., SR

Čučoriedky boli uchovávané v mrazničke pri teplote - 40 °C a pred každou analýzou, resp. prípravou extraktov, bolo odobraté a rozmrazené adekvátne množstvo čučoriedok.

Príprava extraktov: Približne 5 g bobúľ sa zhomogenizovalo a zmiešalo s 50 ml rozpúšťadla (acetón, metanol a etanol). Obsah sa pretrepával v tmavých prachovniciach na trepačke pri 180 rpm a teplote miestnosti po dobu 24 hodín. Prefiltrovaný extrakt sa zahustil na rotačnej vákuovej odparke. Odparky sa následne rozpustili v 50 ml 96% etanolu. Pripravené extrakty boli použité na stanovenie polyfenolov a celkových flavonoidov.

Sledované parametre:

- celkové množstvo fenolových zlúčenín reakciou s Folin-Ciocalteu činidlom (Waterhouse, 2003; Khoddami, 2013). Výsledok je vyjadrený v mg kyseliny galovej (GAE)/100 g čerstvých plodov.
- celkové množstvo flavonoidov modifikovanou spektrofotometrickou metódou s chloridom hlinitým (Kumar et al. 2011). Výsledok je vyjadrený v mg kvercetínu/100 g čerstvých plodov.
- celkové množstvo antokyanínov pomocou pH diferenciálnej metódy (Giusti, Wrolstad, 2001). Výsledok je vyjadrený v mg kyanidín-3-glukozidu/100 g čerstvých plodov.
- vitamín C pomocou spektrofotometrickej metódy s 2,6-dichlórfenolindofenolom v benzénovej modifikácii (Príběla, 1996).

Výsledky a diskusia

Čučoriedky *V. myrtillus* mali najvyšší obsah polyfenolov v acetónovom extrakte (604,68 mg GAE/100 g FW (FW = fresh weight, hmotnosť čerstvých plodov). Najnižší obsah polyfenolových látok bol nameraný v komerčne pestovaných čučoriedkach *V. corymbosum*, ktoré v acetónovom extrakte predstavovali 244,57 mg GAE/100 g FW, čo je takmer o 2/3 menej ako u divo rastúcich čučoriedok (tab. 1).

Zoratti et al. (2016) zosumarizovali údaje viacerých štúdií o divo rastúcich čučoriedkach *V. myrtillus* a zistili, že obsah polyfenolov sa pohyboval v širokom rozmedzí 355-1246 mg/100 g FW. Ich štúdie potvrdili, že obsahové látky čučoriedok aj toho istého druhu môžu byť veľmi premenlivé, najmä v závislosti od environmentálnych faktorov. Vplyv má však aj použitá analytická metóda a rok zberu.

Obsah polyfenolov v komerčne pestovaných čučoriedkach *V. corymbosum* z fariem v New Jersey bol v rozmedzí 128,7-287,6 mg/100 g FW (Wang et al., 2008). Kim et al. (2013) porovnávali obsah polyfenolov vo viacerých odrodách *V. corymbosum* z Kórei, pričom ich hodnoty sa pohybovali v rozmedzí 170,9-523,8 mg/100 g FW. Opäť je vidieť veľkú premenlivosť v obsahu polyfenolových látok jedného druhu čučoriedok, ktorá môže byť vo všeobecnosti pripisovaná rôznym environmentálnym podmienkam počas rastu, rôznorodosti kultivarov daného druhu a použitým analytickým metódam.

Tab. 1 Obsah celkových polyfenolov v čučoriedkových extraktoch vyjadrený v mg kyseliny galovej (GAE) na 100 g čerstvých plodov (± sd)

Extrakt	<i>V. myrtillus</i>	<i>V. corymbosum</i>
Acetón	604,68 ± 4,83	244,57 ± 3,72
Metanol	589,22 ± 5,97	260,07 ± 5,48
Etanol	556,05 ± 9,29	199,94 ± 5,95

sd = smerodajná odchýlka



Obsah celkových flavonoidov v extraktoch čučoriedok je uvedený v tab. 2. Najvyšší obsah celkových flavonoidov bol nameraný v acetónovom extrakte plodov *V. myrtillus*, 206,34 mg kvercetínu/100 g FW (tab. 2). Výrazne nižší obsah flavonoidov bol nameraný v plodoch *V. corymbosum* v acetónovom extrakte bol cca o 58% nižší v porovnaní s acetónovým extraktom *V. myrtillus*.

Tab. 2 Obsah celkových flavonoidov v čučoriedkových extraktoch vyjadrený v mg kvercetínu na 100 g čerstvých plodov (\pm sd)

Extrakt	<i>V. myrtillus</i>	<i>V. corymbosum</i>
Acetón	206,34 \pm 3,02	94,74 \pm 0,50
Metanol	142,26 \pm 6,10	88,52 \pm 3,08
Etanol	128,91 \pm 4,10	68,81 \pm 3,04

sd = smerodajná odchýlka

Sellapan et al. (2002) v štúdiu zameranej na čučoriedky *V. corymbosum* identifikovali prítomné flavonoidy metódou HPLC. Najviac zastúpenými boli kvercetín a katechín, ktorých obsah sa výrazne menil v závislosti od odrody, nasledovali myricetín a kempferol. Korus et al. (2015) v plodoch *V. myrtillus* stanovili 342 mg flavonoidov v ekvivalente katechínu na 100 g čerstvých plodov. Marinova et al. (2005) porovnávali obsah flavonoidov (v ekvivalente katechínu, CE) vo viacerých druhoch ovocia. V čučoriedkach druhu *V. myrtillus* namerali 190,3 mg CE v 100 g čerstvých plodov.

Čučoriedky patria medzi ovocie s najvyšším obsahom antokyanínov. Obsah celkových antokyanínov v lesných čučoriedkach *V. myrtillus* bol v porovnaní s komerčne pestovanými čučoriedkami *V. corymbosum* významne vyšší (tab. 3). Antokyaníny v plodoch *V. corymbosum* sa nachádzajú hlavne v šupke, kým antokyaníny v plodoch *V. myrtillus* sú distribuované v šupke aj dužine, čo vysvetľuje ich podstatne väčší obsah (Celik et al., 2018).

Riihinen et al. (2008) skúmali distribúciu fenolových zlúčenín v šupke a dužine voľne rastúcich a komerčne pestovaných plodov čučoriedok a potvrdili predošlé tvrdenie. Celik et al. (2018) porovnávali obsah antokyanínov v acetónových extraktoch plodov *V. myrtillus* a *V. corymbosum*. V 100 g čerstvých plodov *V. myrtillus* sa obsah antokyanínov pohyboval v rozmedzí 307-342 mg, komerčné čučoriedky *V. corymbosum* obsahovali 142 mg na 100 g plodov.

Mikulic-Petkovsek et al. (2014) analyzovali čučoriedky *V. myrtillus* z rôznych lokalít Slovinska. Obsah antokyanínov stanovovali v metanolových extraktoch, pričom ich hodnoty sa pohybovali v rozmedzí 90-325 mg na 100 g čerstvých plodov v závislosti od lokality. Čučoriedky nazbierané v oblastiach s lepšími svetelnými podmienkami obsahovali podstatne viac antokyanínov, nakoľko syntéza antokyanínov je výrazne ovplyvnená dostupnosťou svetla. V štúdiu identifikovali aj jednotlivé antokyanidínové glykozidy. Najväčší podiel z celkových analyzovaných antokyanínov predstavoval kyanidínový glykozid (52%), nasledoval glykozid delfinínu (27%), glykozid malvidínu (8%), glykozid petunidínu (7%) a peonidínu (6%).

V čučoriedkach *V. myrtillus* z rôznych oblastí Fínska bolo stanovených 350-522 mg celkových antokyanínov na 100 g čerstvých plodov (Lätti et al., 2008). V tejto štúdiu boli taktiež identifikované antokyanidínové glykozidy. Priemerné hodnoty v mg na 100 g čerstvých plodov boli nasledovné: glykozid delfinínu (136), glykozid kyanidínu (135), glykozid petunidínu (59), glykozid malvidínu (52) a glykozid peonidínu (29).

Porovnaním výsledkov z viacerých štúdií možno pozorovať pomerne veľký rozsah koncentrácie antokyanínov v čučoriedkach. Viaceré literárne zdroje túto variabilitu pripisujú rôznym lokalitám a podmienkam rastu, ale aj roku zberu a použitej analytickej metóde. Veľký význam má pravdepodobne aj použité rozpúšťadlo.



Tab. 3 Obsah antokyanínov v čučoriedkach vyjadrený v mg kyanidín-3-glukozidu na 100 g čerstvých plodov (\pm sd)

Vzorka	
<i>V. myrtillus</i>	188,18 \pm 2,41
<i>V. corymbosum</i>	7,85 \pm 0,10

sd = smerodajná odchýlka

Obsah vitamínu C (tab. 4) v lesných čučoriedkach *V. myrtillus* bol v porovnaní s komerčne pestovanými čučoriedkami *V. corymbosum* takmer o polovicu vyšší. Porovnaním hodnôt v potravinových tabuľkách (16,6 mg/100 g) mali plody *V. myrtillus* o 26,6% nižší obsah ako uvádzajú tabuľky (Online potravinová databáza). Hodnoty uvedené v potravinových tabuľkách korelujú s výsledkami poľskej štúdie čučoriedok *V. myrtillus*, ktoré obsahovali 16,8 mg vitamínu C na 100 g plodov (Korus et al., 2015). Naše výsledky korelujú so štúdiou *V. myrtillus* nazbieraných na území Slovenska v okolí Oščadnice, kde bolo nameraných 11,83 mg vitamínu C na 100 g plodov (Habánová, Habán, 2009).

Fínski autori skúmali obsah vitamínu C v plodoch čučoriedok *V. myrtillus* v závislosti od stupňa zrelosti. Zistili, že najvyšší obsah vitamínu C (8,25 mg/100 g) bol v nedozretých, ešte zelených plodoch, tento obsah sa však počas dozrievania výrazne nemenil a v plne dozretých bobuliach namerali 6,14 mg vitamínu C na 100 g plodov (Cocetta et al., 2012).

Celik et al. (2018) vo svojej štúdií taktiež porovnávali množstvo vitamínu C vo voľne rastúcich čučoriedkach *V. myrtillus* s komerčne produkovaným druhom čučoriedok *V. corymbosum*, kultivar „Bluecrop“. Obsah vitamínu C sa pohyboval v rozmedzí 4-8 mg na 100 g čerstvých plodov *V. myrtillus*, podstatne vyššie hodnoty boli namerané v plodoch „Bluecrop“, a to až 39 mg vitamínu C na 100 g plodov.

Skupieň (2006) hodnotila obsah vitamínu C vo viacerých kultivaroch čučoriedok *V. corymbosum* a aj zmeny počas skladovania. Najvyššie hodnoty vitamínu C namerala v čerstvých plodoch kultivaru „Bluecrop“ (22,7 mg/100 g), čo je o 42% menej v porovnaní so štúdiou Celik et al. (2018). Po 6 mesiacoch skladovania hodnota klesla na 9,1 mg vitamínu C na 100 g plodov, pričom skladovanie po dobu ďalších 6 mesiacov vplyv na obsah vitamínu C už nemalo. Hodnoty vitamínu C sa menia v závislosti od druhu čučoriedok, pričom veľký vplyv má aj kultivar, environmentálne faktory, ale aj doba skladovania a ďalšie faktory.

Tab. 4 Obsah vitamínu C vo vzorkách čučoriedok

Vzorka	Vitamín C (mg/100 g \pm sd)
<i>V. myrtillus</i>	12,19 \pm 0,14
<i>V. corymbosum</i>	5,79 \pm 0,14

sd = smerodajná odchýlka

Záver

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať že divo rastúce čučoriedky *V. myrtillus* sú významným zdrojom biologicky aktívnych zlúčenín. Tieto čučoriedky obsahujú podstatne vyššie koncentrácie polyfenolových látok, antokyanínov, flavonoidov a aj vitamínu C v porovnaní s komerčne pestovanými druhmi *V. corymbosum*. Viaceré štúdie zaoberajúce sa analýzou čučoriedok prišli k obdobnému záveru, avšak namerané hodnoty sú veľmi variabilné, aj čo sa týka jednotlivých kultivarov čučoriedok. Pozorované rozdiely sú pripisované najmä rozdielnym environmentálnym podmienkam počas rastu, stupňa dozretia, spôsobu zberu a v neposlednom rade aj použitým analytickým metódam.

PodĎakovanie: Táto práca bola realizovaná vďaka podpore projektu „Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood“ (ITMS kód projektu: 313011V336) a projektu VEGA 1/0363/19 „Fermentované cereálne a pseudocereálne výrobky pre nutrične hendikepované skupiny konzumentov:



optimalizácia podmienok fermentácie a zloženia kyslíkových a doplnkových kultúr s probiotickým potenciálom vo fermentovaných maticiach“.

Literatúra

1. CELIK, F., BOZHUYUK, M. R., ERCISLI, S., GUNDOGDU, M. (2018). Physicochemical and bioactive characteristics of wild grown bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) genotypes from Northeastern Turkey. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 128-133.
2. COCETTA, G. *et al.* (2012). Ascorbic acid metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development. *Journal of Plant Physiology*, 169, 1059-1065.
3. GIUSTY, M. M., WROLSTAD, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons Inc, New York, USA.
4. HABÁNOVÁ, M., HABÁN, M. (2009). Zhodnotenie kvalitatívnych ukazovateľov vybraných druhov lesných plodov. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.
5. KHODDAMI, A., WILKES, M. A., ROBERTS, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
6. KIM, J. G., KIM, H. L., KIM, S. J., PARK, K.-S. (2013). Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 14, 793-799.
7. KORUS, A., JAWORSKA, G., BERNAS, E., JUSZCZAK, L. (2015). Characteristics of physico-chemical properties of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) jams with added herbs. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2815-2823.
8. KUMAR, Y. M. S., DUTTA, R., PRASAD, D., MISRA, K. (2011). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127(3), 1309-1316.
9. LÄTTI, A.K., RIIHINEN, K. R., KAINULAINEN, P. S. (2008). Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 190-196.
10. MARINOVA, D., RIBAROVA, F., ATANASSOVA, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40, 255-260.
11. MIKULIC-PETKOVSEK, M. *et al.* (2014). A comparison of fruit quality parameters of wild bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) growing at different locations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 776-785.
12. ONLINE POTRAVINOVÁ DATABÁZA. [online]. NPPC-VÚP. Dostupné na internete: < <http://www.pbd-online.sk/>>.
13. PRÍBELA, A. (1996). Analýza potravín. Bratislava: STU, 225s. ISBN 80-227-0846-1.
14. RIIHINEN, K., JAAKOLA, L., KÄRENLAMPI, S., HOHTOLA, A. (2008). Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). *Food Chemistry*, 110(1), 156-160.
15. SELLAPPAN, S., AKOH, C.C., KREWER, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2432-2438.
16. SKUPIEN, K. (2006). Evaluation of chemical composition of fresh and frozen blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum*, 5(1), 19-25.
17. WANG, S. Y. *et al.* (2008). Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5788-5794.
18. WATTERHOUSE, A. L. (2003). Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons Inc, New York, USA.
19. ZORATTI, L., KLEMETTLÄ, H., JAAKOLA, L. (2016). Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Ecotypes. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. London: Elsevier, 83-99. ISBN 978-0-12-408117-8.

Kontaktná adresa: Ing. Eva Hybenová, PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: eva.hybenova@stuba.sk



RASTLINNÉ OLEJE A ICH FOTOPROTEKTÍVNE VLASTNOSTI VEGETABLE OILS AND THEIR PHOTOPROTECTIVE PROPERTIES

Lívia Janotková, Jarmila Hojerová, Veronika Hamranová, František Kreps,
Zuzana Krepsová, Marianna Potočňáková, Hana Bendová, Lucie Jedličková

Abstract: In this work, we focused on common, but also rare vegetable oils and determination of their photoprotective properties in the UVB region using *in vitro* and *in vivo* methods. The SPF (Sun Protection Factor) values of vegetable oils were relatively low, ranging from 0.02 (hazelnut oil) to 0.58 (shea butter) *in vitro* and from 2.5 (chaulmoogra oil) to 4.5 (shea butter) *in vivo*. Our results show that vegetable oils do not provide sufficient protection against UVB radiation. The only exception was tamanu oil, whose *in vitro* SPF value was 11.2 and *in vivo* 4.1.

Keywords: vegetable oil, photoprotection, SPF, Mansur equation, UVB radiation

Úvod

Slnčné žiarenie dopadajúce na zemský povrch a tým aj na povrch našej pokožky obsahuje infračervené, viditeľné a UV žiarenie. UV zložka predstavuje takmer 10 % celkovej energie emitovanej slnkom a má žiarenie s vlnovými dĺžkami 290 až 400 nm. Existujú tri oblasti UV žiarenia: UVA (320 – 400 nm), UVB (290 – 320 nm) a UVC (200 – 290 nm). Kratšie UV vlnové dĺžky sú energetickejšie a potenciálne deštruktívnejšie ako dlhšie vlnové dĺžky. UVC, najkratšia vlnová dĺžka v UV spektre, je však ozónovou vrstvou úplne absorbovaná. UV žiarenie zasahujúce pokožku pozostáva preto iba z UVA a UVB (Lim and Draelos, 2008). Na poludnie sa na zemský povrch dostane približne 95 % UVA a 5 % UVB. Stratosférická ozónová vrstva absorbuje UVB žiarenie. S postupným stenčovaním ozónovej vrstvy sa však zvyšuje množstvo dopadajúceho UVB žiarenia (Modenese et al., 2018). Vlnové dĺžky UV žiarenia prenikajú do pokožky v rôznej miere, pričom platí, že čím dlhšia je vlnová dĺžka, tým hlbší je prienik. UVA je schopné preniknúť hlboko do kože, čo má za následok okamžitú pigmentáciu pokožky a zmeny súvisiace s fotostarnutím. UVB má schopnosť preniknúť cez epidermu až po dermálne papily. V porovnaní s UVA, UVB môže vyvolať neskorú pigmentáciu a tiež je hlavnou príčinou akútneho poškodenia kože akým je erytém a spálenie slnkom. Má potenciál indukovať rakovinu kože a súvisí so zmenami v bunkovej DNA (Wang and Lim, 2016, Manaia et al., 2013).

Existuje viacero spôsobov ochrany pred škodlivými účinkami UV žiarenia. Primárnou ochranou je tieň, odev, okuliare. Sekundárnou ochranou je topická aplikácia prípravkov, ktoré obsahujú látky absorbujúce alebo odrážajúce UV žiarenie. Podľa ochranného mechanizmu je ich možné rozdeliť na organické a anorganické UV filtre. Na základe legislatívnych nariadení sa smú použiť len v obmedzenej koncentrácii. V súčasnosti sa preto overujú určité prírodné zdroje ako možná náhrada alebo zníženie množstva syntetických UV filtrov pridávaných do výrobkov na ochranu pred slnečným žiarením. Okrem absorpcie UV žiarenia poskytujú tieto alternatívy aj ďalšiu ochranu pred nepriaznivými účinkami UV žiarenia, keďže väčšina z nich má antioxidantné, protizápalové a imunomodulačné vlastnosti (Saewan and Jimtaisong, 2015).

Uvádza sa, že aj rastlinné oleje majú fotoprotektívne vlastnosti a vykazujú významné hodnoty ochranného slnečného faktora (SPF) (Montenegro and Santagati, 2019). Použitím *in vitro* metódy, Kaur and Saraf (2010) stanovili v prípade olivového a kokosového oleja SPF hodnotu približne 8, zatiaľ čo pre ricínový, mandľový a chaulmoogrový olej SPF hodnota bola



okolo 6, 5 a 3. Potenciálnym prípravkom na ochranu pred slnečným žiarením je podľa Shantanu et al. (2010) emulzia obsahujúca 5 % (hm./obj.) bazalkového esenciálneho oleja. Suryawanshi (2016) stanovil pomerne vysoké SPF hodnoty mrkvového oleja; oleja z pšeničných klíčkov od 18,84 až 22,4. Bambuckému maslu, pomerne často používanej zložke v kozmetických výrobkoch, sa pripisujú fotoprotektívne vlastnosti. V rozsahu vlnových dĺžok 250 – 300 nm vykazuje silnú absorbciu UV žiarenia (Israel, 2014, Alander, 2004).

Niektorí autori však naopak tvrdia, že väčšina rastlinných olejov neposkytuje dostatočnú resp. žiadnu ochranu pred slnečným žiarením (Anil Kumar and Viswanathan, 2013, Gause and Chauhan, 2016, Ranjithkumar et al., 2016).

V tejto práci sme sa preto zamerali na overenie fotoprotektívnej účinnosti bežných a raritných rastlinných olejov pomocou *in vitro* a *in vivo* metódy.

Materiál a metódy

Hodnotené rastlinné oleje získané lisovaním za studena: Oleje sme vybrali na základe publikovaných a medializovaných indícií o ich možnom fotoprotektívnom účinku (šípkový olej, mrkvový olej, malinový olej, olej z pšeničných klíčkov). Ďalej sme sa pri výbere zamerali na raritné oleje, u ktorých sme predpokladali istú fotoprotektívnu schopnosť. Väčšinu olejov nám darovali spoločnosti M+H Slovakia, s.r.o. (i), Levice, Dr. Feel Good Dareum, s.r.o. Bratislava (ii), Brenntag Slovakia s.r.o., Pezinok; Inolex Provence (Francúzsko) (iii), prípadne boli osobne dovezené priamo zo spracovateľskej farmy Assouss Argane (iv) v Maroku alebo zakúpené v spoločnosti Pharmafit Czech s.r.o. (v).

Olej: argánový bio raw (iv), avelánový bio raw (ii), avokádový bio (i), bambucké maslo bio raw (ii), chaulmoogrový (iii), konopný bio (i), malinový bio (i), moringový (v), mrkvový bio raw (ii), nigella sativa bio raw (iii), z pšeničných klíčkov (i), šípkový bio extra (i), tamanu bio raw (ii).

In vitro stanovenie SPF hodnoty: K stanoveniu *in vitro* fotoprotektívnej účinnosti rastlinných olejov bola použitá metóda popísaná autormi Mansur et al. (1986b), Mansur et al. (1986a). Podstatou tejto metodiky je stanovenie absorpcie látky patrične nariadenej v príslušných rozpúšťadlách v rozsahu vlnových dĺžok 290 – 320 nm. Predpísanými rozpúšťadlami v tejto metóde sú etanol (v prípade vzoriek emulzií) a petroléter (v prípade vzoriek olejov). Vzorky sa zriedia v rozpúšťadle na referenčnú koncentráciu 0,20 mg.mL⁻¹.

Za účelom overenia reprodukovateľnosti použitej *in vitro* metódy sme pred začiatkom analýz pripravili štandardnú emulziu s obsahom 8 % UV filtra homosalátu (HMS) (Merck, Nemecko). Štandardná HMS-emulzia bola pripravená podľa receptúry a postupu predpísaného FDA Food (2019). Stanovené SPF hodnoty nami pripravenej štandardnej HMS-emulzie 3,60 ± 0,47 boli v požadovanom rozsahu 4,47 ± 1,27, čo je v súlade s limitom predpísaným FDA (Food, 2019). Na základe SPF hodnoty získanej pre štandardnú HMS-emulziu v našej práci, sme podľa vzťahu z publikácie Ácsová et al. (2020) vypočítali aktuálny korekčný faktor (CFa). Použili sme ho aj vo všetkých ďalších výpočtoch SPF hodnoty *in vitro*:

$$CFa = 10 * \frac{SPF_{\text{štandardná HMS-emulzia in vivo}}}{SPF_{\text{štandardná HMS-emulzia in vitro}}}$$

kde: CFa = aktuálny korekčný faktor rovný 12,4; 10 = korekčný faktor podľa Mansur et al. (1986a) protokolu; $SPF_{\text{štandard HMS in vivo}}$ = hodnota odpovedajúca štandardnej HMS emulzie podľa FDA (= 4,47); $SPF_{\text{štandard HMS in vitro}}$ = SPF hodnota pre štandardnú HMS emulzie stanovená v tejto práci *in vitro* metódou (=3,60).

Pri dosiahnutí želaného rozsahu absorpcie je potrebné na základe protokolu podľa Mansur et al. (1986a) zohľadniť aj úpravu analyzovanej koncentrácie oproti referenčnej



koncentracii 0,02 % (hm./obj.), teda 0,2 mg.mL⁻¹. V prípade, že je potrebné vzorku zriediť alebo skoncentrovať oproti referenčnej koncentrácii, výpočet SPF hodnoty je nutné korigovať aj tzv. zriedovacím faktorom. Následne je vzťah podľa Mansur et al. (1986a) modifikovaný do tvaru:

$$SPF_{\text{spektrofotometricky}} = CFa \times \sum_{290 \text{ nm}}^{320 \text{ nm}} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot A(\lambda) \cdot \text{zriedovací faktor}$$

kde, CFa = aktuálny korekčný faktor (= 12,4); $EE(\lambda)$ = spektrum erytémovej účinnosti pri odpovedajúcej vlnovej dĺžke; $I(\lambda)$ = spektrum intenzity slnečného žiarenia pri odpovedajúcej vlnovej dĺžke; $EE(\lambda)$ a $I(\lambda)$ sú normalizované hodnoty uvedené v Tab. 1 vychádzajúce z výskumu (Sayre et al., 1979). $A(\lambda)$ = absorbancia vzorky; *zriedovací faktor* = referenčná koncentrácia (0,2 mg/ml) / analyzovaná koncentrácia (? mg/ml).

Tab. 1 Štandardizované hodnoty EE×I pre vlnové dĺžky 290 – 320 nm (Sayre et al., 1979)

λ	290	295	300	305	310	315	320
EE×I	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180

Analýza rastlinných olejov: Do 50 ml odmernej banky sme odvážili $0,5 \pm 0,0001$ g vzorky rastlinného oleja a pridali 25 ml extrakčného rozpúšťadla (petroléter). Zmes sme bez zahrievania premiešali, odplyneným rozpúšťadlom doplnili na objem 50 ml, vložili do ultrasonikačného kúpeľa na 1 minútu a v prípade potreby ešte doplnili rozpúšťadlom po značku. Analýzy sme uskutočnili cez 1 cm vrstvu roztoku v QS kyvete (materiál SUPRASIL, kremenné sklo) (Helma Analytics, Nemecko) dvojlúčovým spektrofotometrom Shimadzu UV-Vis 1800 s UV-Probe software (Shimadzu, Japonsko) oproti petroléteru p.a. (50 – 70 °C) (Centralchem a.s, Slovensko). Absorbancie sme merali v rozsahu vlnových dĺžok 290 – 400 nm. Ak boli hodnoty absorbancie nad 0,8, 1 % zásobný roztok oleja sme znova zriedili petroléterom na takú koncentráciu, aby hodnoty absorbancií mali želané parametre. Všetky analýzy sme opakovali nezávisle najmenej trikrát. Jedinou výnimkou bol tamanu olej, ktorého absorbancie boli analyzované 8 paralelnými meraniami. Následne sme stanovené hodnoty absorbancií aplikovali do vyššie uvedeného, modifikovaného vzťahu podľa Mansur et al. (1986a) a vypočítali SPF hodnoty rastlinných olejov.

In vivo metóda stanovenia SPF hodnoty: Účinnosť komerčných produktov na ochranu pred slnečným žiarením v UVB oblasti (oneskorené spálenie) sa primárne hodnotí pomocou SPF hodnoty *in vivo* metódou. Štandardná metóda na stanovenie hodnoty SPF je založená na *in vivo* meraní minimálnej erytémovej dávky (MED) na dobrovoľníkoch s alebo bez použitia prípravkov na ochranu pred slnečným žiarením. V našom výskume bolo stanovenie SPF hodnoty *in vivo* štandardného krému P2 a všetkých vzoriek oleja uskutočnené metódou ochrany pred slnečným žiarením EN ISO 24444 (Standardization, 2010) v akreditovanom laboratóriu Národného referenčného centra pre kozmetiku v Prahe v Českej republike.

SPF_i hodnota u každého jednotlivca bola vypočítaná ako pomer MED_p k MED_u :

$$SPF_i = \frac{MED_p - \text{chránená pokožka}}{MED_u - \text{nechránená pokožka}}$$

kde, SPF_i je individuálny slnečný ochranný faktor; MED_p (mJ.cm⁻²) je MED jednotlivca na pokožke chránenej s olejom; MED_u je MED jednotlivca na nechránenej pokožke.



Výsledky a diskusia

V Tab. 2 uvádzame porovnanie SPF hodnôt rastlinných olejov stanovených metódou *in vitro* a *in vivo*. V prípade štyroch najviac medializovaných olejov boli hodnoty SPF *in vitro* a *in vivo* podstatne nižšie (0,4 a 2,6 pre malinový olej; 0,1 a 3,0 pre mrkvový olej; 0,2 a 2,6 pre šípkový olej a 0,2 a 2,8 pre olej z pšeničných klíčkov) v porovnaní s vyššími hodnotami (SPF do 50), ktoré stanovili výskumníci Oomah et al. (2000), Kaur and Saraf (2010), Suryawanshi (2016) v dôsledku nedodržania metodiky navrhutej podľa Mansur et al. (1986a). SPF hodnoty ostatných olejov boli v rozsahu od 0,02 (avelánový a chaulmoogrový olej) do 0,58 (bambucké maslo) pre *in vitro* stanovenia a 2,5 (chaulmoogrový, konopný a nigella olej) až 4,5 (bambucké maslo) v prípade *in vivo*.

Nízky fotoprotektívny potenciál rastlinných olejov potvrdili aj niektorí výskumníci. Ranjithkumar et al. (2016) stanovili *in vitro* SPF hodnotu avokádového oleja od 0,02 (pri koncentrácii 0,05 %) až 0,08 (1,00 %), čo zodpovedá aj nášmu stanoveniu v koncentrácii 1,00 % pre túto vzorku. Na slabé fotoprotektívne vlastnosti malinového oleja a oleja z pšeničných klíčkov (SPF hodnota 1,8) poukázali aj Badea et al. (2015).

Tab. 2 Porovnanie SPF hodnôt stanovených *in vitro* a *in vivo* metódou

OLEJ	Referenčná koncentrácia (mg.mL ⁻¹)	Analyzovaná koncentrácia (mg.mL ⁻¹)	SPF <i>in vitro</i> CF = 12,4 ± SD (n = 3), *(n = 8)	SPF <i>in vivo</i> ± SD n=10
Arganový	0,2	10,0	0,097 ± 0,001	3,2 ± 0,7
Avelánový	0,2	10,0	0,017 ± 0,003	2,7 ± 0,4
Avokádový	0,2	10,0	0,081 ± 0,002	2,7 ± 0,6
Bambucké maslo	0,2	1,0	0,580 ± 0,036	4,5 ± 1,0
Chaulmoogra	0,2	10,0	0,023 ± 0,002	2,5 ± 0,6
Konopný	0,2	10,0	0,052 ± 0,003	2,5 ± 0,6
Malinový	0,2	4,0	0,384 ± 0,016	2,6 ± 0,5
Moringový	0,2	10,0	0,071 ± 0,002	2,9 ± 0,6
Mrkvový	0,2	10,0	0,087 ± 0,002	3,0 ± 0,4
Nigella sativa	0,2	10,0	0,072 ± 0,001	2,5 ± 0,6
Z pšen. klíčkov	0,2	5,0	0,199 ± 0,002	2,8 ± 0,6
Šípkový	0,2	4,0	0,215 ± 0,014	2,6 ± 0,6
Tamanu*	0,2	0,1	11,170 ± 0,429	4,1 ± 1,0

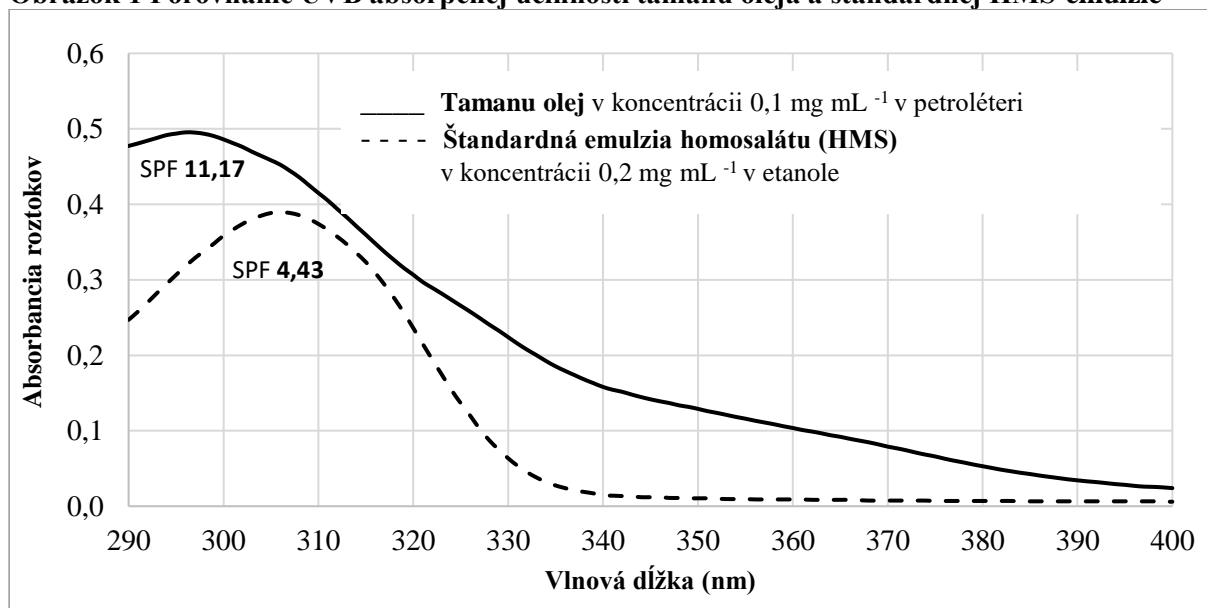
Poznámka: SD = štandardná odchýlka

Tamanu olej ako jediný v našom výskume preukázal výraznú absorbanciu v UVB oblasti. Pre tento olej sme stanovili *in vitro* metódou prevapivo vyššiu SPF hodnotu, približne 11,2 ± 0,4, zatiaľ čo SPF hodnota stanovená metódou *in vivo* (4,1 ± 1,0) sa javila byť na úrovni bambuckého masla (4,5 ± 1,0). Rejeki and Wahyuningsih (2015) stanovili *in vitro* SPF hodnotu tohto oleja 10,34 ± 0,06 v koncentrácii 0,2 mg.mL⁻¹, čo zodpovedá nášmu stanoveniu, UVB absorpčná účinnosť tamanu oleja v koncentrácii 0,1 mg.mL⁻¹ (0,01 % hm./obj.) v petroléterii je porovnateľná s UV-absorpciou štandardnej emulzie s obsahom 8 % homosalátu pri koncentrácii 0,2 mg.mL⁻¹ (0,0016 % (hm./obj.) čistého UV filtra HMS) v etanole (Obr. 1). Triacylglyceroly tamanu oleja sú charakteristické bežným zastúpením mastných kyselín (MK) bez konjugovaných väzieb (Raharivelomanana et al., 2018). Nerafinovaný olej však má pomerne bohaté zastúpenie nezmydeliteľného podielu (20 až 25 %) s bioaktívnymi látkami. V tomto oleji sú obsiahnuté zlúčeniny ako *calophyllolide*, *inophyllum* (C, D, E a P), *tamanolide* D a P, *calanolide* Gut 70 a *calanolide* A, B, D, ktoré patria do skupiny neoflavonoidov. Tieto zlúčeniny obsahujú najmenej jednu aromatickú štruktúru alebo tiež iné konjugované dvojité



väzby uhlík-uhlík (Ginigini et al., 2019). Práve tieto štruktúry pravdepodobne umožňujú, aby tamanu olej absorboval UVB lúče.

Obrázok 1 Porovnanie UVB absorpčnej účinnosti tamanu oleja a štandardnej HMS-emulzie



Záver

V tejto práci sme sa zamerali na overenie fotoprotektívnych vlastností viacerých rastlinných olejov. Z našich výsledkov vyplýva, že prevažná väčšina rastlinných olejov neposkytuje dostatočnú ochranu pred UV žiarením. Spomedzi trinástich rastlinných olejov lisovaných za studena, dvanásť z nich poskytuje zanedbateľnú, resp. žiadnu ochranu pred UVB lúčmi. Štyri najviac medializované rastlinné oleje (malinový, mrkvový, šípkový a z pšeničných klíčkov) majú v skutočnosti výrazne nižšiu SPF hodnotu než je prezentované prostredníctvom masmédií. Z dôvodu ich chemického zloženia výrazne neabsorbujú UVB lúče. Pozostávajú z triacylglycerolov bežných MK bez prítomnosti konjugovaných dvojitéch väzieb. Nezmydeliteľný podiel neobsahuje v molekulách dostatok zlúčenín so skupinami, ktoré by umožnili týmto olejom absorpciu UVB.

Tamanu olej, ako jediný zo skúmaných olejov, preukázal výraznú absorpciu v UVB oblasti. Vďaka obsahu viacerých biologicky aktívnych zlúčenín ako callophylide, tamanolide a ďalších zlúčenín s aromatickou štruktúrou, je tamanu olej schopný absorbovať UVB lúče. V budúcnosti by bol preto potrebný ďalší výskum.

Benefity rastlinných olejov sú nespochybniteľné, avšak je potrebné ich prezentovať pravdivo.

PodĎakovanie : Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmlúv č. APVV-16-0088 „Komplexné využitie rastlinnej biomasy v biopotravinách s pridanou hodnotou” a APVV-17-0212 „Bioaktívne látky rakytníka rešetliakového a ich uplatnenie vo funkčných potravinách”. Práca bola tiež podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe zmluvy Vega 1/0012/19 „Štúdium získavania zdraviu prospešných látok z rastlinnej biomasy a ich implementácia do potravín”.

Literatúra

1. ÁCSOVÁ, A., HOJEROVÁ, J., MARTINIAKOVÁ, S., JANOTKOVÁ, L., BENDOVÁ, H., JEDLIČKOVÁ, L., HAMRANOVÁ, V., 2020. The true protective effect of vegetable oils against UVB radiation – in vitro and in vivo studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v recenznom konaní.
2. ALANDER, J. 2004. Shea butter-a multifunctional ingredient for food and cosmetics. *Lipid technology*, 16, 202-205.



3. ANIL KUMAR, K. & VISWANATHAN, K. 2013. Study of UV transmission through a few edible oils and chicken oil. *Journal of Spectroscopy*, 2013.
4. BADEA, G., LĂCĂTUȘU, I., BADEA, N., OTT, C. & MEGHEA, A. 2015. Use of various vegetable oils in designing photoprotective nanostructured formulations for UV protection and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 67, 18-24.
5. FOOD, U. 2019. Drug Administration. Code of Federal Regulations–Title 21–Food and Drugs| FDA.
6. GAUSE, S. & CHAUHAN, A. 2016. UV-blocking potential of oils and juices. *International journal of cosmetic science*, 38, 354-363.
7. GINIGINI, J., LECHELLIER, G. J., NICOLAS, M., NOUR, M., HNAWIA, E., LEBOUVIER, N., HERBETTE, G., LOCKHART, P. & RAHARIVELOMANANA, P. 2019. Chemodiversity of Calophyllum inophyllum L. oil bioactive components related to their specific geographical distribution in the South Pacific region. *PeerJ*, 7, e6896.
8. ISRAEL, M. O. 2014. Effects of topical and dietary use of shea butter on animals. *Am J Life Sci*, 2, 303-307.
9. KAUR, C. D. & SARAF, S. 2010. In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. *Pharmacognosy research*, 2, 22.
10. LIM, H. W. & DRAELOS, Z. D. 2008. Photoprotection in Moisturizers and Day Care Products. *Clinical Guide to Sunscreens and Photoprotection*. CRC Press.
11. MANAIA, E. B., KAMINSKI, R. C. K., CORRÊA, M. A. & CHIAVACCI, L. A. 2013. Inorganic UV filters. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 49, 201-209.
12. MANSUR, J., BREDER, M., MANSUR, M. D. A. & AZULAY, R. D. 1986a. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *An Bras Dermatol*, 61, 167-172.
13. MANSUR, J. D. S., BREDER, M. N. R., MANSUR, M. C. D. A. & AZULAY, R. D. 1986b. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. bras. dermatol*, 121-4.
14. MODENESE, A., KORPINEN, L. & GOBBA, F. 2018. Solar radiation exposure and outdoor work: an underestimated occupational risk. *International journal of environmental research and public health*, 15, 2063.
15. MONTENEGRO, L. & SANTAGATI, L. M. 2019. Use of vegetable oils to improve the sun protection factor of sunscreen formulations. *Cosmetics*, 6, 25.
16. OOMAH, B. D., LADET, S., GODFREY, D. V., LIANG, J. & GIRARD, B. 2000. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food chemistry*, 69, 187-193.
17. RAHARIVELOMANANA, P., ANSEL, J.-L., LUPO, E., MIJOUIN, L., GUILLOT, S., BUTAUD, J.-F., HO, R., LECHELLIER, G. & PICHON, C. 2018. Tamanu oil and skin active properties: from traditional to modern cosmetic uses. *OCL*, 25, D504.
18. RANJITHKUMAR, J., SAMEESH, A. & RAMAKRISHNAN, K. 2016. Sun Screen Efficacy of Punica granatum (Pomegranate) and Citrullus colocynthis (Indrayani) Seed Oils. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences (IJARBS)*, 3, 198-206.
19. REJEKI, S. & WAHYUNINGSIH, S. S. 2015. Formulasi gel tabir surya minyak nyamplung (Tamanu Oil) dan uji nilai spf secara in vitro.
20. SAEWAN, N. & JIMTAISONG, A. 2015. Natural products as photoprotection. *Journal of cosmetic dermatology*, 14, 47-63.
21. SAYRE, R. M., AGIN, P. P., LEVEE, G. J. & MARLOWE, E. 1979. A comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas. *Photochemistry and Photobiology*, 29, 559-566.
22. SHANTANU, K., PRASHANT, G., AMMAR, A., ASHWINI, W. & AMOL, S. 2010. Formulation and in-vitro determination of sun protection factor of Nigella sativa Linn. seed oil sunscreen cream. *International Journal of PharmTech Research*, 2, 2194-2197.
23. STANDARDIZATION, I. O. F. 2010. ISO 24444: 2010 Cosmetics–sun protection test methods–in vivo determination of the sun protection factor (SPF).
24. SURYAWANSHI, J. 2016. In vitro determination of sun protection factor and evaluation of herbal oils. *Int. J Pharma Res*, 6, 37-43.
25. WANG, S. Q. & LIM, H. W. 2016. *Principles and practice of photoprotection*, Springer.

Kontaktné adresy: Ing. Lívia Janotková, doc. Ing. Jarmila Hojerová, PhD., Ing. Veronika Hamranová, doc. Ing. František Kreps, PhD., Ing. Zuzana Krepsová, PhD., Ing. Marianna Potočnáková, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: livia.janotkova@stuba.sk, jarmila.hojerova@stuba.sk, hamranovaveronika@gmail.com, frantisek.kreps@stuba.sk, zuzana.krepsova@stuba.sk, marianna.potocnakova@stuba.sk. RNDr. Hana Bendová, Ph.D. Mgr. Lucie Jedličková, Ph.D, Národní referenční centrum pro kosmetiku, Státní zdravotní ústav, Praha 10, Česká republika. E-mail: hana.bendova@szu.cz, lucie.jedlickova@szu.cz



ANTIOXIDANTY VO VÍNE ANTIOXIDANTS IN WINE

Eva Kancírová, Eva Hybenová, Ladislav Staruch

Abstract: The scientific work deals with defining antioxidants in red wines of different origins and determining their concentration. For analysis were used fifteen red wines. Five wines came from Hungary, four from Slovakia, three from Uruguay and one wine each from Bulgaria, Romania, and Spain. A method was used to determine total polyphenols with Folin-Ciocalteu reagent and HPLC method for the determination of phenolic acids and flavonoids in samples. The final total polyphenol concentration ranged from 0,03-0,12 mg GAE/ml. Another method was high performance liquid chromatography which was used to determine phenolic acids and flavonoids.

Keywords: red wine, antioxidant activity, polyphenol compounds, health effects

Úvod

Konzumácia červeného vína v striedanej forme má preukázateľne pozitívne účinky na ľudské zdravie. Je všeobecne známe, že antioxidanty dokážu inhibovať oxidačné reakcie produkujúce radikály, ktoré by potom v reťazových reakciách mohli poškodiť bunky ľudského tela (DeFeudis et al., 2003). Vo Francúzsku bol pozorovaný jav nazývaný francúzsky paradox, ktorý predstavoval myšlienku, že pri miernej pravidelnej konzumácii vína bol u týchto ľudí pozorovaný oveľa nižší výskyt srdcovo-cievnych chorôb aj napriek konzumácii väčšieho množstva nasýtených tukov a nezdravému životnému štýlu. Je známe, že prírodné polyfenoly vplývajú na zápalové a kardiovaskulárne choroby a majú pozitívny efekt v prevencii rakovinových ochorení (Espley et al., 2013; Lee et al., 2014). Vedecká práca sa zaoberá definovaním antioxidantov v červených vínach rôzneho pôvodu a stanovovaním ich koncentrácie. Medzi tieto látky patria flavonoly, antokyaníny, flavanoly, fenolové kyseliny a polyfenolický stilbén resveratrol. Práve resveratrol je považovaný za najdôležitejší antioxidant. V červených vínach sa nachádza vo vyššej koncentrácii ako v bielych (Mattivi, 1993).

Materiál a metódy

Predkladaná práca sa venuje analýze antioxidačne pôsobiacich látok v 15 vzorkách červených vín. Išlo o rôzne druhy červených vín, rôznych ročníkov a aj pôvodu; 5 vín bolo z Maďarska, 4 zo Slovenska, 3 z Uruguaja a po jednom víne z Bulharska, Rumunska a Španielska. Vo vínach bol stanovený obsah celkových fenolov, fenolových kyselín a flavonoidov kvercetínu a rutínu. Všetky analýzy boli vykonané v minimálne dvoch paralelných stanoveniach.

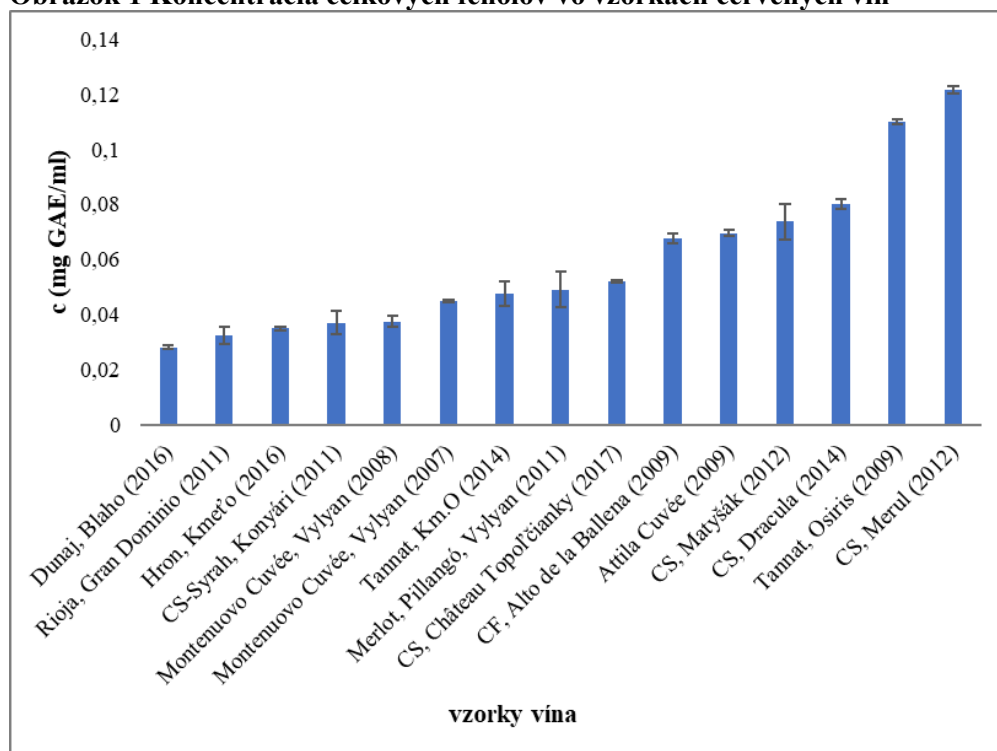
Stanovenie celkových fenolov s činidlom Folin-Ciocalteu je metóda často používaná pre stanovenie celkových polyfenolov v potravinách (Brune et al., 1991) predovšetkým pre víno. Obsah celkových polyfenolov bol stanovený metódou podľa (Faitová et al., 2003). Celkové polyfenoly boli stanovované spektrofotometricky pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla. Vzorky vín neboli nijako upravené, boli len zriedené s deionizovanou vodou v pomere 2:98 (2 ml vína, 98 ml deionizovanej vody). Koncentrácie celkových fenolov vo vzorkách vín boli vypočítané z kalibračnej čiary kyseliny galovej a vyjadrené v mg kyseliny galovej (GAE).

Stanovenie fenolových kyselín a flavonoidov prebehlo pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC) na prístroji HPLC Agilent, kolóna LiChrospher® 100 RP-18 a DAD detektor. Analýza vybraných organických zlúčenín bola realizovaná pri 270, 320 a 350 nm (De Quirós et al., 2009).

Výsledky a diskusia

Medzi vína s najvyššou koncentráciou polyfenolov patria bulharský Cabernet Sauvignon Merul a uruguajský Tannat Osiris. Tieto vína pochádzajú z teplejších klimatických podmienok a majú aj vysoký obsah alkoholu (nad 14 obj.%). K zvýšenému obsahu polyfenolov by mohol prispieť aj fakt, že tieto vína patria k starším, rok výroby 2009, resp. 2012. Navyše, podľa údajov výrobcov, obidve vína boli barikované 12 mesiacov v nových dubových sudoch. Zo slovenských vín obsahovalo najviac polyfenolov víno Cabernet Sauvignon Matyšák, ročník 2012. Naopak najnižší obsah polyfenolov malo slovenské víno Dunaj Blaho, ročník 2016. Za ním nasledovalo španielske Rioja Gran Dominio, ročník 2011 a slovenský Hron Kmeťo, ročník 2016. Koncentrácie polyfenolov v červených vínach z Maďarska patrili k stredným hodnotám. Z výsledkov analýz celkových fenolov teda vyplýva, že vyšší obsah polyfenolov vykazovali staršie barikované vína pochádzajúce z teplejších oblastí.

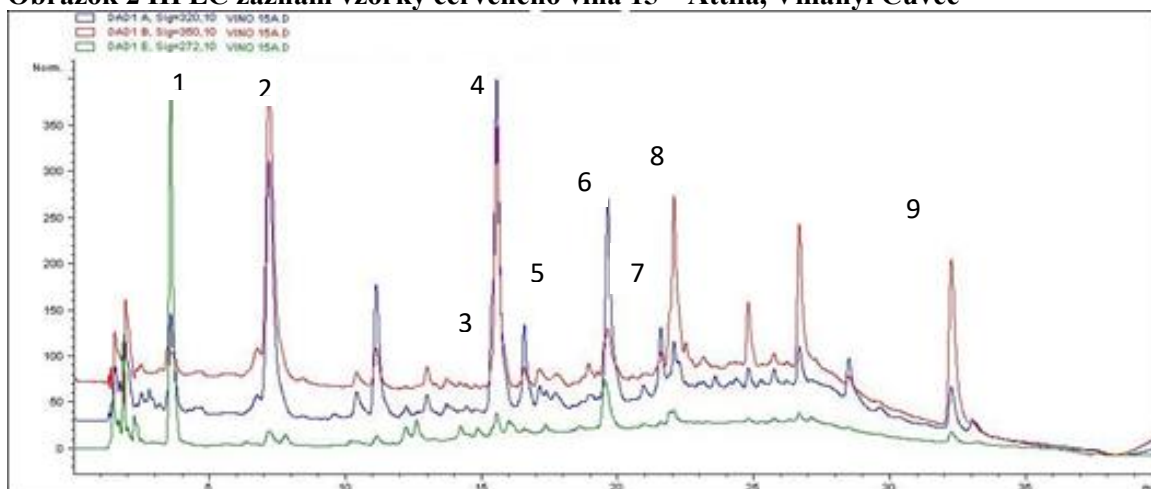
Obrázok 1 Koncentrácia celkových fenolov vo vzorkách červených vín



Obsah fenolových kyselín bol stanovený vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou v dvoch paralelných meraniach. Spomedzi stanovovaných kyselín bola najviac zastúpená kyselina galová, ktorej koncentrácia sa pohybovala v rozmedzí 32,4-133,8 $\mu\text{g/ml}$; nasledovala kyselina syringová v rozmedzí 6,7-44,1 $\mu\text{g/ml}$ a kyselina vanilínová v rozmedzí 5,9-28,6 $\mu\text{g/ml}$. Naopak v najmenšom množstve sme zaznamenali kyselinu ferulovú v rozmedzí 0,7-6,4 $\mu\text{g/ml}$ a kyselinu p-kumarovú v rozmedzí 0,3-13,9 $\mu\text{g/ml}$. Práve táto kyselina sa nachádzala aj v najmenšom počte vzoriek vín, konkrétne v ôsmich vzorkách z celkového počtu 15. Množstvo fenolových kyselín vo vzorkách červených vín bolo veľmi rozdielne; mnohé fenolové kyseliny sa vyskytovali v nízkych koncentráciách, alebo sa nevyskytovali vôbec.



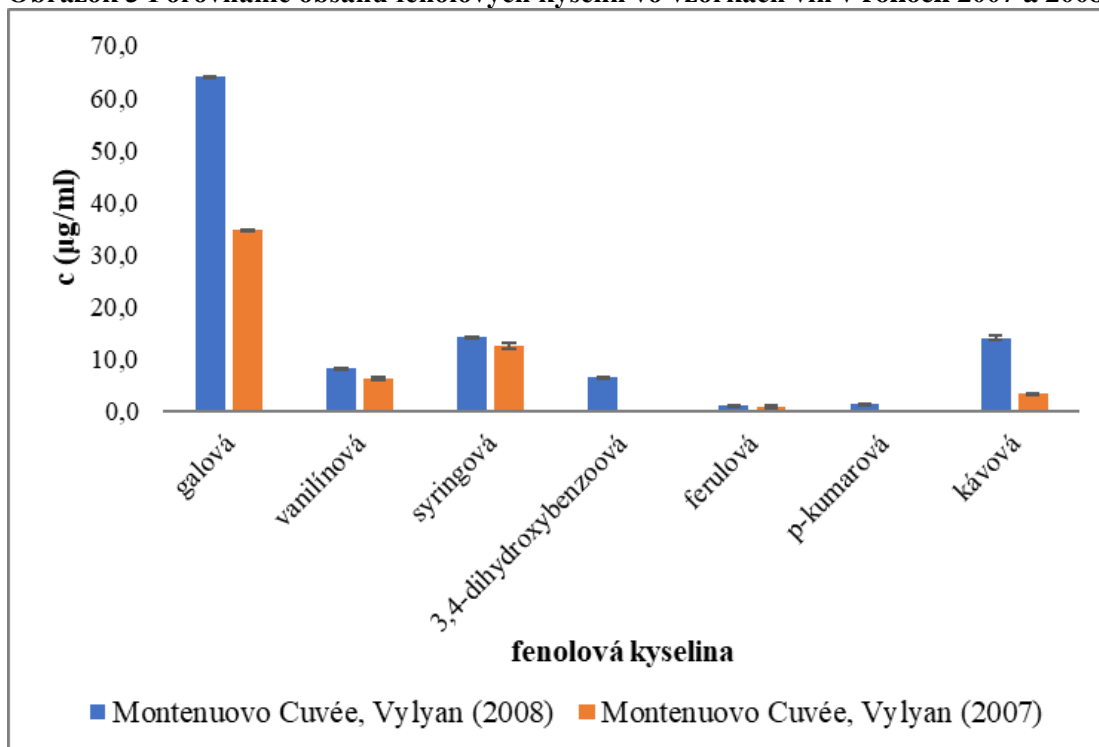
Obrázok 2 HPLC záznam vzorky červeného vína 15 – Attila, Villányi Cuvée



Vysvetlivky: 1-kyselina galová, 2-kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, 3-kyselina vanilínová, 4-kyselina kávová, 5-kyselina syringová, 6-kyselina p-kumarová, 7-kyselina ferulová, 8-rutín, 9-kvercetin

Pre vzájomné porovnanie obsahu fenolových kyselín sme vybrali dve maďarské vína Montenuovo Cuvée od značky Vylyan z roku 2007 a 2008. Vo víne ročník 2008 bol zaznamenaný vyšší obsah kyselín, najviac kyselina galová, syringová a kávová. Kyselina 3,4-dihydroxybenzoová a p-kumarová sa nachádzali iba v cuvée ročník 2008. Na značne nižší obsah kyselín vo vzorke Montenuovo Cuvée z roku 2007 môže mať vplyv iný pomer vín, z ktorých je cuvée zhotovené, environmentálne podmienky v danom roku a zrelosť bobúľ. Montenuovo Cuvée sú vína zložené z rôzneho pomeru odrôd Cabernet Franc, Merlot, Syrah a Zweigelt. Unikátna chuť sa každý rok dosahuje aj podmienkami pri výrobe, ktoré by mohli mať vplyv na obsah fenolových kyselín vo víne. Podľa údajov výrobcu: zatiaľ čo cuvée z roku 2007 prešlo kratšou maceráciou a intenzívnejšou fermentáciou, víno z roku 2008 sa naopak macerovalo dlhšie, a to 14-25 dní.

Obrázok 3 Porovnanie obsahu fenolových kyselín vo vzorkách vín v rokoch 2007 a 2008





Vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou v dvoch paralelných meraniach bol vo vzorkách stanovený aj obsah flavonoidov, kvercetínu a rutínu. Environmentálne faktory ako slnečné žiarenie či úhrn zrážok vplyvajú vo vysokej miere na koncentrácie flavonoidov. Obsah flavonoidov je ovplyvnený aj ďalšími faktormi, ako je rôzny stupeň zrelosti bobúľ, odroda hrozna, technologické spracovanie vína. Porovnaním obsahu týchto dvoch flavonoidov sa zistilo, že rutín sa nachádzal priemerne vo vyššej koncentrácii a taktiež vo väčšom počte vzoriek. Najvyššia koncentrácia rutínu bola pozorovaná pri vzorke 3- Hron, Kmet' o (ročník 2016) s hodnotou 12,4 µg/ml, 5- CS, Matyšák (ročník 2012) s hodnotou 16,9 µg/ml, a 15- Attila Cuvée, Villányi (ročník 2009) s hodnotou 16,4 µg/ml. Ako je zrejmé z údajov, v niektorých vzorkách sa tieto flavonoidy nenachádzali vôbec, alebo boli pod medzou detekcie.

Tab. 1 Koncentrácie kvercetínu a rutínu vo vzorkách červených vín v µg/ml±sd

Vzorka	Kvercetín	Rutín
1	2,176 ± 0,014	1,512 ± 0,086
2	ND	1,219 ± 0,121
3	1,706 ± 0,003	12,362 ± 0,009
4	1,517 ± 0,001	ND
5	3,097 ± 0,018	16,935 ± 0,052
6	2,120 ± 0,003	4,586 ± 0,419
7	ND	4,736 ± 0,112
8	ND	ND
9	ND	ND
10	ND	6,110 ± 0,147
11	1,328 ± 0,0	3,277 ± 0,060
12	1,145 ± 0,217	6,433 ± 0,276
13	ND	1,259 ± 0,039
14	1,307 ± 0,033	6,925 ± 0,696
15	5,877 ± 0,041	16,409 ± 0,078

Vysvetlivky: sd* - smerodajná odchýlka; ND - pod medzou detekcie

Záver

Odborná práca sa zaoberá stanovením antioxidantov v červených vínach rôzneho pôvodu. Stanovili sme celkové polyfenoly spektrofotometricky pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla. Najvyššiu koncentráciu celkových polyfenolov vykazovali staršie barikované vína s vyšším obsahom alkoholu, pochádzajúce z teplejších oblastí. Fenolové kyseliny a flavonoidy boli stanovené vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou – HPLC. V najvyššej koncentrácii sa nachádzala kyselina galová. Porovnanie dvoch maďarských cuvéé preukázalo, že na koncentráciu fenolových kyselín môžu mať vplyv aj faktory ako pomer vín, environmentálne podmienky, zrelosť bobúľ či technologické spracovanie. Z flavonoidov sme stanovili kvercetín a rutín. Okrem už spomenutých faktorov sa na koncentrácii flavonoidov podieľa aj odroda hrozna.

Literatúra

1. BRUNE, M., HALLBERG, L., SKÅNBERG, A. 1991. Determination of iron-binding phenolic groups in foods. *Journal of Food Science*, 1991, 56.1: 128-131.
2. DE QUIRÓS, A. Rodríguez-Bernaldo; LAGE-YUSTY, M. A.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. 2009. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*, 2009, 42.8: 1018-1022.
3. DEFEUDIS, F. V., PAPADOPOULOS, V., DRIEU, K. 2003. Ginkgo biloba extracts and cancer: a research area in its infancy. *Fundamental & clinical pharmacology*, 2003, 17.4: 405-417.



4. ESPLEY, R. V., et al. 2013. Dietary flavonoids from modified apple reduce inflammation markers and modulate gut microbiota in mice. *The Journal of nutrition*, 2013, 144.2: 146-154.
5. FAITOVÁ, K., et al. 2003. Kolísání obsahu celkových polyfenolických látek a resveratrolu v lahvích Tramínu stejné šarže. In *Vitamíny 2003 - Přírodní antioxidanty a volné radikály*, Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003, s. 167-170 ISBN80-7194-549-8.
6. LEE, S. G., et al. 2014. Berry anthocyanins suppress the expression and secretion of proinflammatory mediators in macrophages by inhibiting nuclear translocation of NF- κ B independent of NRF2-mediated mechanism. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2014, 25.4: 404-411.
7. MATTIVI, F. 1993. Solid phase extraction of trans-resveratrol from wines for HPLC analysis. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1993, 196.6: 522-525.

Kontaktné adresy: Bc. Eva Kancírová, Ing. Eva Hybenová, PhD., Ing. Ladislav Staruch, PhD., Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: xkancirova@stuba.sk, eva.hybenova@stuba.sk, ladislav.staruch@stuba.sk



HODNOTENIE POTENCIÁLU CELOZRNNEJ OVSENEJ MÚKY PRI VÝROBE NOVÝCH DRUHOV PROBIOTICKÝCH NÁPOJOV

EVALUATION OF WHOLEMEAL OAT FLOUR POTENTIAL FOR PRODUCTION OF PROBIOTIC BEVERAGES

**Zlatica Kohajdová, Jolana Karovičová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová,
Mária Greifová, Gabriel Greif, Jarmila Hojerová**

Abstract: The purpose of this work was the evaluation of wholemeal oat flour potential for production of probiotic beverages. Commercially available probiotic culture including *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Streptococcus thermophilus* was used in this study. The pH, acidity and organic acids content of beverages were determined together with the viscosity and sensory attributes of the products. From the results concluded that the oat based beverages showed a good probiotic potential.

Keywords: oat, lactic acid fermentation, probiotics, non-dairy beverages, sensory evaluation

Úvod

Probiotiká predstavujú živé mikroorganizmy, ktoré podávané v dostatočnom množstve majú preukázateľne priaznivý účinok na hostiteľa (prijemcu). Ide o také baktérie, ktoré svojou prítomnosťou v organizme potláčajú rast patogénnych mikroorganizmov a vykazujú aj ďalšie priaznivé účinky na organizmus človeka (Ondriová et al., 2015). Hlavnými nosičmi probiotických baktérií sú v súčasnosti mliečne produkty (Matejčeková et al., 2018). V poslednom období sa však zvyšuje záujem spotrebiteľov o nemliečne produkty s obsahom probiotických mikroorganizmov, čo súvisí najmä s rastúcim počtom pacientov, u ktorých bola preukázaná intolerancia na laktózu alebo alergia na bielkovinu kravského mlieka (Mäkinen et al., 2016; Sethi et al. 2016; Gupta a Bajaj, 2017).

Výskumná činnosť v tejto oblasti je zameraná predovšetkým na posúdenie vhodnosti rôznych druhov cereálnych substrátov na prípravu fermentovaných probiotických nápojov (Angelov et al. 2005 a 2006; Magala et al., 2015; Karovičová et al., 2020).

Ovos predstavuje vo výžive človeka jednu z najvýznamnejších cereálií, pretože obsahuje vysoké množstvá hodnotných výživových zložiek a to bielkoviny, vlákninu, nenasýtené mastné kyseliny, minerálne látky, vitamíny a fytochemikálie (Magala et al., 2015). Vzhľadom na túto skutočnosť, cieľom práce bolo posúdiť potenciál celozrnnej ovsenej múky pri výrobe probiotických nápojov.

Materiál a metódy

Na prípravu fermentovaných nápojov bola použitá celozrnná ovsená múka (Natural, Jihlava, Česká republika) zakúpená v maloobchodnej sieti. Fermentované ovsené nápoje boli pripravené podľa autorov Magala et al. (2015). Nápoj A neobsahoval inulín. Nápoj B obsahoval 1 % inulínu. Nápoje boli inokulované komerčnou probiotickou kultúrou (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus thermophilus*), pričom počiatočná koncentrácia mikroorganizmov v nápojoch pred fermentáciou predstavovala 10^8 KTJ.cm⁻³. Fermentácia nápojov prebiehala 6 h pri teplote 37 °C.

V priebehu fermentácie boli vo vzorkách sledované zmeny pH ((inoLab pH Level 2, WTW, Weilheim, Nemecko), titračná kyslosť (Kohajdová a Karovičová, 2004) a produkcia



organických kyselín metódou kapilárnej izotachoforézy (Kohajdová et al., 2006). Obsah kyseliny mliečnej a octovej bol stanovený s použitím izotachoforetického analyzátoru ZKI 01 (Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko) vybaveného vodivostným detektorom a dvojlíniovým zapisovačom TZ 4200 (Laboratórní přístroje, Praha, Česká republika).

Viskozita nápojov bola sledovaná pomocou rotačného viskozimetra (Haake VT 550, Haake Mess – Technic, Nemecko) (Magala et al., 2015).

Predpokladaný počet mliečnych paličiek bol stanovený podľa normy STN ISO 15214 (2002) a predpokladaný počet mliečnych kokov podľa normy STN EN ISO 4833-1 (2013).

Na senzorické hodnotenie nápojov bola použitá 9 bodová hedonická stupnica (Lim, 2011). Celková prijateľnosť nápojov bola hodnotená pomocou grafickej neštrukturovanej úsečky s popisom krajných bodov (Kohajdová a Karovičová, 2004).

Výsledky a diskusia

Použitie ovsu pre potravinárske účely bolo v minulosti obmedzené na získavanie ovsených vločiek alebo výrobu celozrnnnej ovsenej múky. Spotrebiteľia však v poslednom období prejavujú zvýšený záujem o nákup a konzumáciu výrobkov, ktoré považujú za zdravšie (Gajdošová a Šturdík, 2005). Do tejto skupiny výrobkov je možné zaradiť aj nápoje na báze ovsu, ktoré vykazujú v tomto smere veľký potenciál (Karovičová et al., 2020). V práci boli pripravené ovsené nápoje fermentované komerčnou probiotickou kultúrou. Zmeny vybraných chemických parametrov a viskozity v priebehu fermentácie nápojov sú uvedené v tabuľke 1. V priebehu fermentácie došlo k poklesu pH a nárastu titračnej kyslosti nápojov z 7,29-7,45 na 4,09 - 4,43 resp. 3,08 -5,13 na 10,76 – 13,84 mmol.kg⁻¹. Rovnaký trend bol pozorovaný aj počas fermentácie nápojov na báze mrlíka čilského za rovnakých fermentačných podmienok (Karovičová et al., 2020). Peyer et al. (2016) uvádzajú, že pH fermentovaných cereálnych nápojov je dôležitým faktorom, ktorý ovplyvňuje prijateľnosť finálneho produktu spotrebiteľmi, pričom bolo zistené, že vyššie hodnoty pH (> pH 3,55) pozitívne korelujú s vyššou akceptáciou nápojov.

Metabolická aktivita prítomných mikroorganizmov bola monitorovaná metódou kapilárnej izotachoforézy, pričom sa sledovala produkcia organických kyselín (kyselina mliečna a octová). Nápoj B bol pripravený s 1 % prídavkom inulínu. Prídavkom rastových faktorov medzi, ktoré patrí aj inulín je možné zlepšiť životaschopnosť probiotických kultúr, predovšetkým bifidobaktérií a inulín pôsobí zároveň aj ako prebiotikum (Matejčeková et al., 2018). Ukázalo sa, že v nápojoch s prídavkom inulínu došlo v priebehu fermentačného procesu k vyššej produkcii organických kyselín a k výraznejšiemu poklesu pH.

Tab. 1 Sledovanie zmien vybraných parametrov v priebehu fermentácie ovsených nápojov

Čas fermentácie	Nápoj A		Nápoj B	
	0	6	0	6
	(h)		(h)	
Chemické parametre				
pH	7,45 ± 0,02	4,43 ± 0,01	7,29 ± 0,03	4,09 ± 0,00
Titračná kyslosť (mmol.kg⁻¹)	3,08 ± 0,00	10,76 ± 0,72	5,13 ± 0,00	13,84 ± 0,72
Obsah organických kyselín (g.dm⁻³)				
Kyselina mliečna	0,06 ± 0,00	1,09 ± 0,00	0,18 ± 0,00	1,38 ± 0,08
Kyselina octová	ND	0,07 ± 0,00	ND	0,09 ± 0,02
Viskozita (Pa·s)				
	1,30	2,04	1,21	2,12

Nápoj A - bez prídavku inulínu, Nápoj B - 1 % prídavok inulínu, ND - pod limitom stanovenia



Viskozita je jedným z najdôležitejších parametrov, ktorý sa posudzuje pri vývoji fermentovaných nápojov na báze cereálií (Matersson et al., 2000). Z nameraných výsledkov vyplynulo, že v priebehu fermentácie došlo k výraznému nárastu viskozity nápojov. Podobné výsledky boli pozorované aj autormi Karovičová et al. (2020) v priebehu fermentácie nápojov pripravených z mrlíka čilského.

Odborná literatúra uvádza, že probiotické produkty by mali obsahovať minimálne 10^6 KTJ.cm⁻³ probiotických mliečnych baktérií (Nyanzi a Jooste, 2012). Fermentované ovsené nápoje obsahovali $0,94 - 0,96 \cdot 10^8$ KTJ.cm⁻³ mliečnych kokov a $0,25 - 0,27 \cdot 10^8$ KTJ.cm⁻³ mliečnych paličiek, čo poukazuje na ich probiotický charakter.

Výsledky senzorickeho hodnotenia fermentovaných nápojov sú uvedené v tabuľke 2. Bolo zistené, že fermentácia výrazne ovplyvnila chuť a vôňu nápojov ale nemala vplyv na ich farbu. Pripravené nápoje sa vyznačovali kyslou chuťou a vôňou.

Tab. 2 Výsledky senzorickeho hodnotenia fermentovaných nápojov

	Farba	Vôňa	Chuť	Konzistencia	Celková prijateľnosť (%)
Nápoj A					
0 h	6,22 ± 0,48	6,44 ± 0,10	6,88 ± 0,23	6,43 ± 0,15	58,43 ± 2,75
6 h	6,10 ± 0,13	7,33 ± 0,12	7,38 ± 0,39	7,29 ± 0,36	72,00 ± 1,56
Nápoj B					
0 h	6,23 ± 0,61	6,56 ± 0,67	6,50 ± 0,20	6,71 ± 0,06	57,00 ± 1,67
6 h	6,11 ± 0,40	7,44 ± 0,21	7,13 ± 0,47	7,00 ± 0,08	73,71 ± 2,49

Nápoj A - bez prídavku inulínu, Nápoj B - 1 % prídavok inulínu

V priebehu fermentácie cereálnych substrátov dochádza k tvorbe rôznych druhov prchavých a neprchavých zlúčenín (napr. kyselina mliečna a octová), ktoré významnou mierou ovplyvňujú senzoricke parametre finálneho produktu (Peyer et al., 2016). Z výsledkov senzorickej analýzy bolo možné konštatovať, že fermentácia zvýšila celkovú prijateľnosť nápojov o 13,6 až 16,7 %. Aj napriek tejto skutočnosti však bola celková prijateľnosť nápojov nižšia (72,00 – 73,71 %), preto je potrebné hľadať spôsoby na zvýšenie akceptovateľnosti takéhoto typu nápojov spotrebiteľmi.

Záver

Z výsledkov práce vyplynulo, že celozrnná ovsená múka predstavuje perspektívnu surovinu, ktorú je možné použiť na výrobu fermentovaných probiotických nápojov nemliečného charakteru. Prídavkom rôznych druhov ochucujúcich zložiek je možné zvýšiť senzoricke akceptovateľnosť cereálnych fermentovaných nápojov (Urquizo et al., 2017). Pri výbere týchto zložiek je potrebné brať do úvahy aj špecifické potreby vybraných skupín spotrebiteľov.

Pod'akovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci projektu VEGA č. 1/0487/16 a Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- ANGELOV, A. – GOTCHEVA, V. – KUNCHEVA, R. – HRISTOZOVA, T.: Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 112, 2006, p. 75–80.
- ANGELOV, A. – GOTCHEVA, V.: Application of pure and mixed probiotic lactic acid bacteria and yeast cultures for oat fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 85, 2005, no. 12, p. 2134–2141.
- GAJDOŠOVÁ, A. – ŠTURDÍK, E.: Potravinárske využitie ovsu. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, roč. 44, 2005, č. 3-4, s. 169-184.



4. GUPTA, M. – BAJAJ, B. K.: Development of fermented oatflour beverage as a potential probiotic vehicle. *Food Bioscience*, vol. 20, 2017, p. 104-109.
5. KAROVIČOVÁ, J.- KOHAJDOVÁ, Z. – MINAROVICHOVÁ, L. – LAUKOVÁ, M. – GREIFOVÁ, M. – GREIF, G. – HOJEROVÁ, J.: Utilisation of quinoa for development of fermented beverages. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 14, 2020, p. 465 – 472.
6. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. – GREIFOVÁ, M.: Lactic acid fermentation of some vegetable juices. *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 45, 2006, no. 3, p. 115-119.
7. KOHAJDOVÁ, Z. – KAROVIČOVÁ, J.: Optimisation of method of fermentation of cabbage juice. *Czech Journal of Food Science*, vol. 22, 2004, no. 2, p. 39-50.
8. KOHAJDOVÁ, Z.: Fermented cereal products. In *Microorganisms and fermentation of traditional foods* (R.C. Ray, D. Montet, Ed.) pp.78-107, 2014, CRC Press, Boca Raton.
9. LIM, J.: Hedonic scaling: A review of methods and theory, *Food Quality and Preference*, vol. 22, no. 8, 2011, p. 733 – 747.
10. MAGALA, M. – KOHAJDOVÁ, Z. – KAROVIČOVÁ, J. – GREIFOVÁ, M. – GREIF, G.: Využitie ovsenej múky na prípravu mliečne fermentovaných nápojov. *Chemické Listy*, roč. 109, 2015, č. 3, s. 210 –213.
11. MARTENSSON, O. – ÖSTE, R. - HOLST, O.: Lactic acid bacteria in an oat-based non-dairy milk substitute: Fermentation characteristics and exopolysaccharide formation. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 33, 2000, p. 525-530.
12. MATEJČEKOVÁ, Z. – LIPTÁKOVÁ, D. – VALÍK, E.: Prebiotiká a ich aplikácie v potravinárskom priemysle. *Chemické Listy*, roč. 112, 2018, s. 366-371.
13. MÄKINEN, O. E. - WANHALINNA, V. - ZANNINI, E. - ARENDT, E. K.: Foods for special dietary needs: Non-dairy plant-based milk substitutes and fermented dairy-type products. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, vol. 56, 2016, no. 3, p. 339-349.
14. NYANZI, R. – JOOSTE, P. L.: Cereal based functional foods. In: *Probiotics*. Intech. Rijeka, 2012, p. 161-197.
15. ONDRIOVÁ, I. - FERTALOVÁ, T. MAGUROVÁ, D.: Klinické využitie probiotík v prevencii a liečbe porúch tráviaceho traktu. *Klinická farmakológia a farmacie*, roč. 29, 2015, č. 1, s. 116-118.
16. PEYER, L. C. - ZANNINI, E. – ARENDT, E. K.: Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science and Technology*, vol. 54, p. 17-25.
17. SETHI, S. - TYAGI, S. K. - ANURAG, R. K.: Plant –based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, vol. 53, 2016, no. 9, p. 3408-34232016.
18. STN EN ISO 4833 (2013). Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov.
19. STN ISO 15214 (2002). Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mezofilných kyslomliečnych baktérií. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C.
20. URQUIZO, F. E. L. - TORREZ, S. M. G. - TOLONEN, T. - JAAKKOLA, M. - PENA-NUHR, M. G. - WRIGHT, A. – REPO-CAROMED-RHONEN, H. - PLUMED-FERRER, C.: Development of a fermented quinoa-based beverages. *Food Science and Nutrition*, vol. 5, 2017, p. 602-608.

Kontaktné adresy: Ing. Zlatica Kohajdová, PhD.; Doc. Ing. Jolana Karovičová, PhD.; Ing. Michaela Lauková, PhD.; Ing. Lucia Minarovičová, PhD.; doc. Ing. Mária Greifová, PhD.; Ing. Gabriel Greif, PhD.; doc. Ing. Jarmila Hojerová, PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 821 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: zlatica.kohajdova@stuba.sk, jolana.karovicova@stuba.sk, michaela.laukova@stuba.sk, lucia.minarovicova@stuba.sk, maria.greifova@stuba.sk, gabriel.greif@stuba.sk, jarmila.hojerova@stuba.sk



REOLOGICKÉ VLASTNOSTI KOMPOZITNÝCH MÚČNYCH ZMESÍ

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF COMPOSITE FLOUR MIXTURES

Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová

Abstract: In the present study, the farinographic characteristics (water absorption, dough development time, dough stability and mechanical tolerance index) of composite flour mixtures were determined. Composite flour mixtures were prepared by mixing of fine wheat flour with various level of bamboo fibre (0-10%). From the results concluded, that bamboo fibre significantly affected mechanical properties of wheat dough (increasing of water absorption and dough developing time, decreasing of mechanical tolerance index).

Keywords: bamboo fibre, composite flour mixtures, rheological properties, farinograph, wheat dough

Úvod

V súčasnosti spotrebitelia prejavujú zvýšený záujem o konzumáciu zdravších potravín (Kohajdová et al., 2011a). Do tejto skupiny výrobkov patria aj potraviny so zvýšeným obsahom vlákniny (Kuchtová et al., 2013). Vlákna zohráva dôležitú úlohu v prevencii a liečbe rôznych ochorení ako sú kardiovaskulárne choroby, cukrovka, obezita a rakovina (Kohajdová et al., 2012).

Viaceré svetové firmy sa zameriavajú na výrobu a predaj vlákninových produktov, ktoré pochádzajú z rôznych zdrojov (napr. cukrová repa, mrkva, hrach, zemiaky, čakanka a iné) (Mariassyová a Šimeková, 1998). Tieto produkty majú široké uplatnenie v potravinárskom priemysle (Yangilar, 2013).

Cereálne produkty predstavujú výrobky každodennej spotreby a preto je ich možné považovať za ideálne nosiče potravinovej vlákniny (Kohajdová a Karovičová, 2009). Účelom prídavku potravinovej vlákniny do týchto výrobkov je predovšetkým zvýšenie príjmu vlákniny v potravine a zníženie energetickej hodnoty výrobkov (Kohajdová et al., 2009), okrem toho ich prídavok ponúka celý aj rad technologických výhod (zlepšenie reologických vlastností cesta, predĺženie čerstvosti výrobkov) (Kohajdová et al., 2012; Kuchtová et al., 2013; Yangilar, 2013). V poslednom období sa preto mnoho výskumných prác zameriava na štúdium vplyvu prídavku komerčne vyrábaných vlákninových produktov na reologické vlastnosti pšeničného cesta, kvalitatívne parametre a senzorické atribúty pripravených výrobkov (Wang et al., 2002; Kohajdová et al., 2011b; Kučerová et al., 2013; Jurasová et al., 2016; Lauková et al., 2018).

Na princípe merania reologických vlastností cesta je založená celá rada prístrojov. Cieľom týchto meraní je na základe reologických vlastností cesta alebo suspenzie múky predvídať chovanie sa materiálu v priebehu technologického procesu, eventuálne získať podklady k vykonaniu včasných prevádzkových zásahov (Kohajdová et al., 2013b). Cieľom tejto práce bolo stanoviť reologické vlastnosti cesta pripraveného z kompozitných múk s rôznym podielom komerčne vyrábanej bambusovej vlákniny.

Materiál a metódy

Použité suroviny: pšeničná múka hladká 00 Extra (Penam Slovakia, a.s.) s obsahom mokrého lepku $40,59 \pm 0,17$ % a suchého lepku $13,54 \pm 0,03$ %, komerčná bambusová vlákna typu BAF 400 (produkt firmy Vitacel®) s obsahom celkovej potravinovej vlákniny min. 97 %.



Príprava kompozitných múčnych zmesí: bambusová vlákna sa použila ako náhrada pšeničnej múky v množstve 0; 2,5; 5; 7,5 a 10 %.

Farinografické parametre pšeničného cesta (farinografická väznosť, doba vývinu cesta, stabilita cesta a index mechanickej odolnosti) boli sledované pomocou farinografu (Brabender, Duisburg, Nemecko) (ISO 5530-1:2013).

Výsledky a diskusia

Prídavok vlákna modifikuje reologické vlastnosti pšeničného cesta (Figuerola et al., 2005; Kohajdová et al., 2011a). V tabuľke 1 je uvedený vplyv prídavku bambusovej vlákna na farinografické parametre pšeničného cesta. Z nameraných výsledkov vyplynulo, že prídavok bambusovej vlákna mal za následok zvýšenie väznosti kompozitných zmesí. Rovnaký trend bol pozorovaný aj autormi Kučerová et al. (2013) v kompozitných zmesiach obsahujúcich 1 až 3 % bambusovej vlákna. Odborná literatúra uvádza, že zvýšenie hodnôt väznosti múky je spôsobené prítomnosťou väčšieho počtu hydroxylových skupín vo vlákne, ktoré napomáhajú prostredníctvom vodíkových väzieb početným interakciám s vodou (Kohajdová et al., 2012; Kuchtová et al., 2013; Lauková et al., 2018).

Doba vývinu predstavuje čas, ktorý je potrebný na dosiahnutie maximálnej konzistencie cesta a odráža predovšetkým hydratačnú schopnosť múky a mechanicko-chemické zmeny lepku (Gažar a Bojňanská, 2010; Kohajdová et al., 2013a). Bolo zistené, že prídavok bambusovej vlákna predĺžil dobu vývinu cesta. K rovnakému záveru dospeli aj autori Chen et al. (1988) a Sudha et al. (2007) pri inkorporácii jablkovej vlákna do pšeničného cesta. Viacerí autori opísali, že predĺženie doby vývinu cesta spôsobené prídavkom vlákna je zapríčinené spomalením procesu hydratácie lepku (Sudha et al., 2007; Kohajdová et al., 2014; Lauková et al., 2018).

Stabilita cesta reprezentuje parameter, ktorý vyjadruje odolnosť cesta voči mechanickému namáhaniu a v menšej miere i voči vplyvom enzýmov (Gažar a Bojňanská, 2010). Prídavok bambusovej vlákna mal za následok zvýšenie stability cesta, čo môže byť spôsobené zvýšenou interakciou vlákna, vody a bielkovín v múke (Kohajdová et al., 2012 a 2014).

Ďalej bolo zistené, že prídavok bambusovej vlákna mal za následok pokles indexu mechanickej odolnosti kompozitných zmesí. Táto skutočnosť je spôsobená interakciou medzi vláknom a lepkom (Kohajdová et al., 2014).

Tab. 1 Farinografické vlastnosti pšeničného cesta s rôznym podielom bambusovej vlákna

Prídavok bambusovej vlákna (%)	Väznosť (%)	Doba vývinu cesta (min)	Stabilita cesta (min)	Index mechanickej odolnosti (BJ)
0	53,82 ± 0,14	2,24 ± 0,05	9,56 ± 0,08	73,00 ± 2,97
2,5	59,90 ± 0,41	2,35 ± 0,07	9,80 ± 0,28	65,00 ± 2,83
5	59,94 ± 0,41	2,63 ± 0,04	12,40 ± 0,57	59,00 ± 2,12
7,5	60,42 ± 0,81	2,67 ± 0,06	15,50 ± 0,14	49,50 ± 1,84
10	60,46 ± 0,13	2,75 ± 0,07	16,00 ± 0,71	48,00 ± 1,41

B J – Brabenderové jednotky

Záver

Farinografické vlastnosti pšeničného cesta nám poskytujú dôležité informácie o správaní sa cesta počas jeho spracovania (Kohajdová et al., 2012 a 2014). Namerané parametre je možné využiť v receptúrach na odhadnutie množstva vody potrebného na vytvorenie cesta, na vyhodnotenie vplyvu rôznych ingrediencií na vlastnosti cesta počas miesenia ako aj na



stanovenie vlastností kompozitných zmesí (Lauková et al., 2018). V práci boli sledované farinografické charakteristiky kompozitných múčnych zmesí s rôznym podielom bambusovej vlákniny (0-10 %). Výsledky ukázali, že prídavok bambusovej vlákniny spôsobil zvýšenie väznosti kompozitných zmesí, predĺžil dobu vývinu cesta a stabilitu cesta. Je možné konštatovať, že inkorporácia bambusovej vlákniny do pšeničného cesta má významný vplyv na mechanické vlastnosti cesta.

Pod'akovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci projektu VEGA č. 1/0487/16 a Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. FIGUEROLA, F. - HURTADO, M. L. - ESTÉVEZ, A. M. - CHIFFELLE, I., ASENJO, F.: Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, vol. 91, 2005, no. 3, s. 395 – 401.
2. GAŽAR, R. - BOJŇANSKÁ, T.: Zmeny konzistencie, vývinu a stability cesta po prídavku pohánkovej, ovsenej, šošovicovej a cicerovej múky. *Potravinárstvo*, roč. 4, 2010, s. 33-39.
3. GÓMEZ M. - JIMÉNEZ S. - RUIZ E. - OLIETE B.: Effect of extruded wheat bran on dough rheology and bread quality. *LWT – Food Science and Technology*, vol. 44, 2010, no. 10, s. 2231-2237.
4. CHEN, H. - RUBENTHALER, G. L. - LEUNG, H. K. - BARANOWSKI, J. D.: Chemical, physical, and baking properties of apple fiber compared with wheat and oat bran. *Cereal Chemistry*, vol. 65, 1988, no. 3, p. 244 – 247.
5. ISO 5530-1:2013. Wheat flour – Physical characteristics of doughs – Part 1: Determination of water absorption and rheological properties using a farinograph.
6. JURASOVÁ, M. - KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J.: Effect of incorporating potato dietary fibre to wheat dough on the quality of baked rolls. *Acta Chimica Slovaca*, vol. 9, 2016, no. 1, p. 14-18.
7. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - JURASOVÁ, M. - KUKUROVÁ, K.: Application of citrus dietary fibre preparation in biscuit production. *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 50, 2011a, no. 3, s. 182 – 190.
8. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - JURASOVÁ, M. - KUKUROVÁ, K.: Effect of the addition of commercial apple fibre powder on the baking and sensory properties of cookies. *Acta Chimica Slovaca*, vol. 4, 2011b, no. 2, p. 88-97.
9. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - JURASOVÁ, M. - MAGALA, M.: Cereálie, cukor, cukrovinky I. Návody na laboratórne cvičenia. 1. vyd. Bratislava: Slovenská chemická knižnica, 2013b. 105 s. ISBN 978-80-89597-10-9.
10. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - MAGALA, M. - KUČTOVÁ, V.: Effect of apple pomace powder addition on farinographic properties of wheat dough and biscuits quality. *Chemical Papers*, vol. 68, 2014, no. 8, p. 1059-1065.
11. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - MAGALA, M.: Effect of lentil and bean flours on rheological and baking properties of wheat dough. *Chemical Papers*, vol. 67, 2013a, no. 4, p. 298-407.
12. KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J.: Využitie vedľajších produktov pri spracovaní jabĺk pre pekárenské účely. *Pekárstvo-Cukrárstvo*, 2009, roč. 10, č. 4, s. 4.
13. KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J., JURASOVÁ, M.: Influence of carrot pomace powder on the rheological characteristics of wheat flour dough and on wheat rolls quality. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, vol. 11, 2012, no. 4, p. 381-387.
14. KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J., ŠIMKOVÁ, S. 2009. Využitie jablčnej vlákniny v pekárstve. In *Acta fytotechnika et zootechnika*, roč. 12, 2009, č. Špecial, s. 286 – 290.
15. KUČEROVÁ, J. - ŠOTTNÍKOVÁ, V. - NEDOMOVÁ, Š.: Influence of dietary fibre addition on the rheological and sensory properties of dough and bakery products. *Czech Journal of Food Science*, vol. 31, 2013, no.4, p. 340-346.
16. KUČTOVÁ, V. - KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - MAGALA, M.: Vplyv prídavku jablkového vlákninového preparátu na farinografické vlastnosti pšeničného cesta. *Potravinárstvo*, 2013, vol. 7, 2013, p. 176-179.
17. LAUKOVÁ, M. - KOHAJDOVÁ, Z. - KAROVIČOVÁ, J. - MINAROVÍČOVÁ, L.: Vplyv prídavku práškovej celulózy na termomechanické vlastnosti pšeničného cesta. *Chemické listy*, vol. 112, 2018, p. 34–37.
18. MÁRIÁSSYOVÁ, M. - ŠIMEKOVÁ, E.: Zdroje a príprava potravinovej vlákniny. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, roč. 37, 1998, č. 4, s. 247–256.



19. SUDHA, M. L. - BASKARAN, V. - LEELAVATHI, K.: Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, vol. 104, 2007, no. 2, p. 686–692.
20. WANG, J. – ROSELL, C. –DE BARBER, C., B.: Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, vol. 79, 2002, no. 2, p. 221-226.
21. YANGILAR, F.: Application of dietary fibre in food industry: structural features, effects on health and definition, obtaining and analysis of dietary fibre: A review. *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 1, 2013, no. 3, 13-23.

Kontaktné adresy: Ing. Zlatica Kohajdová, PhD.; Ing. Michaela Lauková, PhD.; Ing. Lucia Minarovičová, PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 821 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: zlatica.kohajdova@stuba.sk, michaela.laukova@stuba.sk, lucia.minarovicova@stuba.sk



VÝSKYT REZISTENTNÝCH BAKTÉRIÍ V POTRAVINÁCH TYPU SUSHI NA SLOVENSKU PREVALENCE OF ANTIBIOTIC RESISTANT BACTERIA IN FOOD OF SUSHI IN SLOVAKIA

Monika Krahulcová, Klára Cverenkárová, Lucia Bírošová

Abstract: Sushi is a traditional Japanese dish, that has recently increased popularity among consumers. One of his main ingrediency is raw fish. In case of this type of food, hygiene plays an important role in order to maintain their microbial safety. Based on our survey, we found resistant coliform bacteria that can pose risk for consumer, which many of consumers are not aware of.

Keywords: Monitoring, Resistant bacteria, Coliform bacteria, Antibiotics, Sushi

Úvod

Rozsiahle používanie antibiotík vo veterinárnej a humánnej sfére prispelo k nekontrolovateľnému nárastu rezistentných kmeňov mikroorganizmov v prostredí. Bakteriálne infekcie zapríčinené rezistentnými kmeňmi sú čoraz ťažšie liečiteľné konvenčnými postupmi medicíny, ktoré zvyšujú náročnosť liečby. Mnoho ľudí považuje problém antimikrobiálnej rezistencie za hrozbu nemocníc. Skutočnosť však ukazuje na úzke prepojenie jednotlivých oblastí výskytu rezistencie, nakoľko je toto šírenie sprostredkované mnohými vektormi nachádzajúcimi sa v enviromente.

Trendy súčasného stravovania preferujú surové, neopracované potraviny, kam zaraďujeme aj potraviny typu „sushi“, ako nutrične bohaté komodity. Ich mikrobiálna stabilita je však položená na hygienických postupoch spracovania. Tieto typy potravín sa považujú za rizikové z hľadiska prítomnosti patogénnych baktérií, nakoľko počas procesu výroby nebola použitá kontrola aplikovaním teploty ani iné obmedzujúce faktory. Keďže problematika rezistencie nepozná hranice môžu tieto potravinové patogény predstavovať zdroj génov rezistencie obohacujúci črevný rezistóm človeka. Sushi je tradičným japonským pokrmom, ktorý je pripravený zo surovej ryby a varenej ryže (Hsin-I Feng, 2012). Mäso rýb je častokrát skloňované so zdravým životným štýlom. Ryby sú vo všeobecnosti dôležitým zdrojom esenciálnych mastných kyselín, bielkovín, vitamínov a minerálnych látok. Jedným z hlavných benefitov sú n-3 polynenasýtených mastných kyselín pôsobiace preventívne proti vzniku kardiovaskulárnych ochorení (Hosomi et al., 2012). V prípade netradičných pokrmov sushi je väčšina surových rýb dovážaná, čo môže zvyšovať riziko mikrobiálnej, ale aj chemickej kontaminácie (Daschner A., 2016). Epidémie zapríčinené konzumáciou rýb typu sushi sú pomerne časté. Najčastejšie detegované kontaminanty sú *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, a rôzne druhy salmonely (Feng et al., 2012). V USA bol v januári 2019 zaznamenaný prípad infekcie baktériou rodu *Salmonella* spp. z mrazeného tuniaka, predávaného vo forme sushi (CDC, 2019). Nemecká štúdia analyzovala vzorky sushi, ktoré obsahovali lososa a krevety s potvrdeným výskytom *Escherichia coli* a *S. aureus* (Atanassova et al., 2007). Prevalenciu potenciálne patogénnych mikroorganizmov preukázali výsledky gréckej štúdie, ktorá analyzovala vzorky morských rýb vrátane kreviet, ktoré bývajú častou súčasťou sushi. Najčastejšie sa jednalo o výskyt *Aeromonas hydrophilia*, *E.coli*, alebo *Klebsiella ozonae* (Papadopoulou et al., 2007).



Potraviny môžu predstavovať transportný medzičlánok rezistentných baktérií a génov rezistencie v reťazci smerujúcom ku človeku (Singh et al., 2017). Priamy dôsledok horizontálneho šírenia génov je spojený s prítomnosťou rezistentných patogénov a génov rezistencie v potravinových maticiach, kde sa ku konzumentovi dostávajú prostredníctvom procesu trávenia (Florez-Cuadrado et al., 2018), čo môže viesť k zvýšeniu prevalencie rezistentov v ľudskom mikrobióme. Súčasný vývoj rezistencie u potravinových patogénov je predmetom obáv. Problém rezistencie si žiada interdisciplinárny pohľad, ktorého záverom je koncept označovaný ako „jedno zdravie“. Princíp jedného zdravia si uvedomuje blízke prepojenie ľudského zdravia, poľnohospodárstva, zvierat a životného prostredia (Tiedje et al., 2019). Do prípravy a vykonávania tohto akčného plánu by sa preto mali zapojiť všetky odvetvia, relevantné ministerstvá, vysoko-kvalifikované laboratória, odvetvia rastlinnej produkcie, medicínske a veterinárne útvary, výskumníci a akademický systém, spoločnosť ako taká, farmári a v neposlednom rade treba zohľadniť obchodnú politiku jednotlivých krajín (WHO, FAO, OIE, 2016).

Materiál a metódy

Ako vzorky boli použité kúsky rýb z 18 pokrmov sushi. odobraných zo 4 prevádzok v Bratislave. Monitorovanými mikroorganizmami boli koliformné baktérie, ktoré sú považované za ukazovatele úrovne hygieny a za najbežnejšie kontaminanty v surových potravinových maticiach. Okrem celkového počtu týchto baktérií boli pri monitoringu pridávané koncentrácie rôznych antibiotík pre zachytenie rezistentných kmeňov. Hranice rezistencie boli použité podľa európskej normy (EUCAST, 2020). V prípade koliformných baktérií bola sledovaná rezistencia voči antibiotikám: ampicilín, gentamycín, ciprofloxacín, chlofamfenikol, tetracyklín. Rezistentné bakteriálne kmene boli následne odizolované a identifikované pomocou hmotnostného spektrometra MALDI-TOF.

Výsledky a diskusia

Koliformné baktérie sa pohybovali v rozmedzí 0,0-3,0 log KTJ/g. Rezistentné baktérie boli prevažne zaznamenané v prípade použitia antibiotika ampicilín, kde sa počty koliformných baktérií pohybovali od 0,0-2,7 log KTJ/g (Tabuľka č.1). Iba jednej prevádzke bola zaznamenaná rezistencia voči gentamycínu. U troch vzorkách sushi rýb neboli detegované celkové ani rezistentné koliformné baktérie. Všetky vzorky boli z jednej prevádzky a jednalo sa o vzorky tuniaka, lososa a krevety.

Úspešne sme identifikovali 61 rezistentných koliformných baktérií. Prevažne boli identifikované baktérie rodu *Klebsiella* spp. (39 %) a *Enterobacter* spp. (39 %), menovite *K. oxycota*, *K. pneumoniae* a *K. variicola*. V prípade baktérií rodu *Enterobacter* spp. to boli *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. freundii*, *E. hormaechei*. Podarilo sa nám identifikovať dve baktérie *E. coli* odizolované z antibiotických misiek s prídavkom ampicilínu a gentamycínu. Ďalšie úspešne odizolované a identifikované kmene boli *Serratia liquefaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Cronobacter sakazakii* a ďalšie.

Tab. 1 Prevalencia koliformných baktérií v potravinách typu sushi

Vzorka	1-L	1-T	1-K	2-L-m	2-K	2-T	2-L	2-T-m	3-T
log KTJ/g									
CCA	3,00 ± 0,11	1,09 ± 0,02	1,32 ± 0,04	1,87 ± 0,05	1,54 ± 0,04	2,64 ± 0,09	1,68 ± 0,02	2,22 ± 0,11	ND
AMP	2,86 ± 0,14	0,82 ± 0,02	0,52 ± 0,01	1,16 ± 0,03	0,05 ± 0,01	2,63 ± 0,08	ND	1,60 ± 0,03	ND
GEN	ND	ND	0,05 ± 0,01	ND	ND	2,15 ± 0,06	ND	ND	ND
CIP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CHF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TET	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND



Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

Vzorka	3-L	3-K	3-L-r	3-L-s	4-T	4-L	4-K	4-Ú	4-S
	log KTJ/g								
CCA	ND	ND	0,65 ± 0,01	0,74 ± 0,02	2,17 ± 0,07	1,94 ± 0,05	1,28 ± 0,03	1,22 ± 0,04	1,35 ± 0,04
AMP	ND	ND	ND	0,35 ± 0,01	2,01 ± 0,08	1,85 ± 0,05	1,16 ± 0,05	1,05 ± 0,02	1,25 ± 0,04
GEN	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,05	ND	ND
CIP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CHF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TET	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Záver

Mikrobiálna rezistencia patrí medzi najväčšie hrozby súčasnosti. Jej šírenie zapríčiňuje stále častejšiu evidenciu prípadov, ktoré majú fatálne následky. Rezistentné kmene baktérií sa nachádzajú ubikvitne v prostredí, nevinímajúc potravinový reťazec. S nárastom záujmu ľudí o zdravý životný štýl rastie aj záujem o tzv. zdravé potraviny kam patria aj ryby ako hlavná zložka sushi pokrmov. Bežný konzument si častokrát neuvedomuje možné riziká spojené s konzumom týchto tepelne neopracovaných potravín. Dôkazom je prítomnosť koliformných baktérií vo vzorkách sushi. Identifikácia preukázala prítomnosť baktérií rodu *Klebsiella* spp. či *E. coli* a preto je diskutabilné pozitívne hľadisko konzumu takýchto potravín prihliadajúc na mikrobiálnu stránku.

Pod'akovanie: Autori ďakujú za finančnú podporu Vedeckej grantovej agentúry VEGA (1/0096/17), Výskumnej agentúry SR (ITMS 2623012006), Agentúre pre výskum a vývoj (16-0171) a Grantu na podporu mladých výskumníkov (AMRFISH 1857).

Literatúra

1. ATANASSOVA, V. et al. 2008. Microbiological Quality of Sushi from Sushi Bars and Retailers. In *Journal of food protection*. Vol. 71, no. 4. p. 860-864.
2. CDC. 2019. Outbreak of Salmonella Infections Linked to Frozen Raw Tuna. [online].[cit.20120-09-29].<https://www.cdc.gov/salmonella/newport-04-19/index.html>
3. FENG, C.H.I. 2012. The tale of sushi: History and regulations. Compr. In *Food Science and Food Safety*, 2012, Vol. 11, p. 205-220. DOI:10.1111/j.1541-4337.2011.00180.x.
4. FLOREZ-CUADRADO, D. et al. 2018. Antimicrobial Resistance in the Food Chain in the European Union. In *Advances in Food and Nutrition Research*, 2018, Vol. 86, p. 115-136. DOI:10.1016/bs.afnr.2018.04.004.
5. HOSOMI, R. et al. 2012. Seafood Consumption and Components for Health. In *Glob J Health Sci*. Vol. 4, no 3. p. 72-86.
6. HSIN-I FENG, C. 2012. The Tale of Sushi: History and Regulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol.11, issue 2
7. PAPADOPOULOU, C. et al. 2007. Microbiological and pathogenic contaminants of seafood in greece. In *Journal of food quality*. Vol. 30, issue 1.
8. SINGH, V. et al. 2017. In *Foodborne Pathogens and Antimicrobial Resistance*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2017, ISBN 9781119139164.
9. TIEDJE, J.M. et al. 2019. Antibiotic Resistance Genes in the Human-Impacted Environment: A One Health Perspective. In *Pedosphere*, 2019, Vol. 29, p. 273-282. DOI:10.1016/S1002-0160(18)60062-1.
10. WHO – FAO – OIE. 2016. A manual for developing national action plans. [online].[cit.2019-10-14]. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204470/9789241549530_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Kontaktné adresy: Ing. Monika Kraľulcová, Ing. Klára Cverenkárová, doc. Ing. Lucia Bírošová, PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, Bratislava 81237, Slovenská republika. E-mail: monika.krahulcova@stuba.sk, klara.cverenkarova@stuba.sk, lucia.birosova@stuba.sk



OXIDAČNÉ PRODUKTY TOKOFEROLOV VZNIKAJÚCE POČAS OHREVVU RASTLINNÝCH OLEJOV OXIDATION PRODUCTS OF TOCOPHEROLS FORMED DURING HEATING OF VEGETABLE OILS

František Kreps, Zuzana Krepsová, Lívia Janotková, Mariana Potočnáková,
Svetlana Schubertová

Abstract : The work deals with the formation of tocopheryl quinones (TQ), which are known as end oxidation products of tocopherols. The results of our work show that the formation of α - and γ -TQ is influenced by oxidative reactions of fatty acids taking place in oil during frying. We have found that the more unsaturated fatty acids the oil contains, the faster TQs are formed. For this reason, we determined higher α -TQ values in sunflower oil compared to rapeseed oil. The amount of oil used for frying had a major influence on the formation of TQ, because during surface-guided frying / heating of oils we determined up to 2 times higher values of α -TQ than in oils heated under deep-frying conditions.

Keywords: tocopheryl quinones, tocopherols, oxidation, frying

Úvod

Vplyvom pôsobenia vysokej teploty, kyslíka, kovov a unikajúcej vodnej pary počas vyprážania, dochádza k chemickým zmenám v používanom oleji. Výsledkom reakcií je degradácia mastných kyselín, tokoferolov, karotenoidov a ďalších nutrične dôležitých zložiek olejov. Dominantné chemické reakcie prebiehajúce počas vyprážania sú oxidácia, hydrolýza a polymerizácia mastných kyselín (Schmidt, 2011). Výsledkom týchto reakcií sa menia fyzikálno-chemické, sensorické a nutričné vlastnosti olejov.

Tokoferoly, v tuku rozpustné antioxidanty, brzdia oxidáciu mastných kyselín (Rossi *et al.*, 2007). Mechanizmus antioxidantného účinku tokoferolov možno popísať nasledovne: Hydroperoxidové radikály vznikajúce počas vyprážania oxidáciami reakciami, reagujú s tokoferolmi za vzniku hydroperoxidov a radikálov tokoferolov. Vďaka vzniku radikálu tokoferolu, dochádza k terminácii reťazovej radikálovej reakcii. Vzniknutý radikál tokoferolu nie je dostatočne reaktívny na to, aby atakoval a akceleroval oxidáciu ďalšej molekuly lipidu. Radikál tokoferolu sa môže stabilizovať reakciou s hydroperoxidovým radikálom alebo reakciou s druhou molekulou radikálu tokoferolu za vzniku dimérov, prípadne až trimérov tokoferolov. Koncovými oxidáciami produktami tokoferolov sú stabilné tokoferylchinóny. Ich vznik počas tepelného namáhania olejov potvrdzujú viaceré štúdie (Liebler *et al.*, 1990; Murkovic *et al.*, 1997; Verleyen *et al.*, 2001).

Biologické účinky TQ sa vplyvom rôzneho umiestnenia metylových skupín značne líšia (Cornwell *et al.*, 2003). Zatiaľ čo nukleofilný α -TQ nevykazuje žiadne cytotoxické vlastnosti (Yang *et al.*, 2010), z chemickej štruktúry γ - a δ -TQ vyplýva, že sú elektrofilné látky a teda budú ochotne vstupovať do reakcií s nukleofilmi. Čiastočne substituovaný aromatický kruh γ - a δ -TQ robí tieto látky cytotoxickými arilačnými elektrofilmi, ktoré obsahujú α - a β -nenасыtené karbonylové štruktúry. Z toho dôvodu je nevyhnutné sledovať vznik a obsah týchto látok v rastlinných olejoch.



Materiál a metódy

Použité suroviny: Slničnicový olej- **SO-** (Venusz, Maďarsko) obsahoval 527 mg/kg α -T, 23 mg/kg β -T, 13 mg/kg γ -T a 8 mg/kg δ -T; 0,13 % hm. VMK; 32 % rel. kyseliny olejovej, 58 % rel. kyseliny linolovej a mal peroxidové číslo 0,92 mmol 0,5 O₂ kg⁻¹.

Repkový olej-**RO-** (Venusz, Maďarsko) obsahoval 333 mg/kg α -T, 8 mg/kg β -T, 244 mg/kg, γ -T a 17 mg/kg δ -T; 0,19 % rel. VMK; 58 % rel. kyseliny olejovej, 22 % rel. kyseliny linolovej a mal peroxidové číslo 0,28 mmol 0,5 O₂ kg⁻¹.

Podmienky ohrevu rastlinných olejov:

1. **Ohrev olejov na teplotu 180 °C:** Povrchovo vedené vyprážanie (350 ml)/hlboko vedené vyprážanie (1,5 l oleja). Doba ohrevu oleja bola 1 hodina. Priemer panvice 18 cm; povrch 254,34 cm²; povrchová úprava panvice teflón.
2. **Ohrev olejov v mikrovlnnej peci:** Mikrovlnná pec EME 1960, Elektrolux s maximálnym výkonom magnetronu 700 W. Doba činnosti magnetronu počas ohrevu 90 %, zvyšných 10 % z času bol magnetron vypnutý. Ohrev olejov prebiehal 10 min. Olej v množstve 10 ml bol pipetovaný do Petriho misiek (priemer 9 cm). Súčasne sa ohrievalo v mikrovlnnej peci spolu 5 vzoriek.

Analýza α -TQ a γ -TQ v ohrievaných rastlinných olejoch:

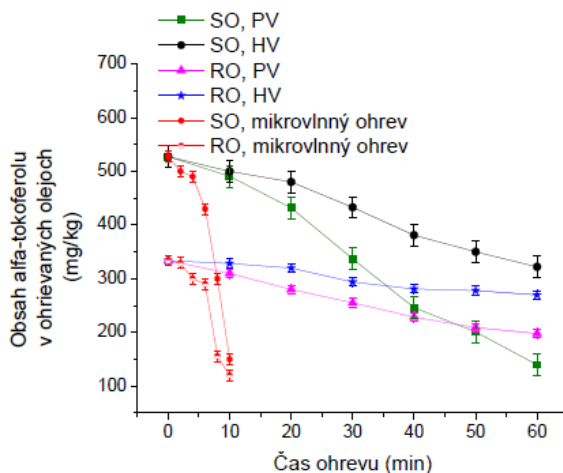
1. **Analýza α -TQ:** HPLC-UV, vlnová dĺžka 258 nm, koncentrácia vzorky 1 mg/ml, nástrek 20 μ l, mobilná fáza n-hexán a izopropanol v pomere 99 : 1, prietok mobilnej fázy 1 ml min⁻¹, dve za sebou zapojené kolóny Nucleodur 100 Si (5 μ m; 250 \times 4 mm).
2. **Analýza γ -TQ:** GC-FID, kolóna HP-5 (30 m \times 320 μ m \times 0,25 μ m), koncentrácia vzorky 10 mg/ml, nástrek 1 μ l; teplota pri nástreku 220 °C, split 10 : 1, nosný plyn dusík s prietokom 16,4 cm³ min⁻¹, tlak 220 kPa, teplotný gradient: teplota pece 180 °C a počas 7 min dosiahla teplotu 190 °C, ktorú udržiavala 2 min; potom rýchlosťou 7 °C za minútu dosiahla teplotu 220 °C, ktorú udržiava 5 min, do FID detektora prúdil vodík s prietokovou rýchlosťou 40 cm³ min⁻¹ a vzduch s prietokovou rýchlosťou 450 cm³ min⁻¹.
3. **Analýza obsahu tokoferolov:** Obsah tokoferolov a priebeh ich degradácie vplyvom rôznych podmienok vyprážania sme analyzovali pomocou kvapalinovej chromatografie s UV detekciou (1100 series, Agilent, USA). Zamerali sme sa najmä na stanovenie α - a γ -tokoferolov, ktoré sa separovali v dvoch za sebou zapojených kolónach (Nucleodur 100 Si; 5 μ m; 250 \times 4 mm; Macherey-Nagel Ltd., Nemecko).

Výsledky a diskusia

Degradácia tokoferolov počas vyprážania je spojená s radikálovým mechanizmom oxidácie MK. Tokoferoly sa zapájajú do týchto reakcií ako antioxidanty. Najmä počas opakovaného vyprážania a povrchovo vedeného vyprážania, keď sú potraviny a vyprážané tuky alebo oleje vystavené vysokým teplotám a prístupu kyslíku, môže dôjsť k výrazným stratám tokoferolov (Réblová *et al.*, 2009). To vedie k zníženému príjmu tokoferolov v rámci konzumácie fritovaných pokrmov, ktoré sú často označované ako dobrý zdroj vitamínu E (tokoferolov) (Fišnar *et al.*, 2014). Podobne ako v publikáciách Kalogeropoulos *et al.*, 2007 a Fišnar *et al.*, 2014, sme zistili, že strata tokoferolov je úmerná dĺžke vyprážania a veľmi úzko súvisí s nenasýtenosťou oleja a obsahom hydroperoxidov v oleji. Preto dochádzalo rýchlejšie k degradácii α -tokoferolu v slnečnicovom oleji v porovnaní s repkovým olejom (obr. 1).



Obrázok 1 Porovnanie vplyvu mikrovlnného ohrevu a vyprážania na degradáciu α -T v slnečnicovom a repkovom oleji

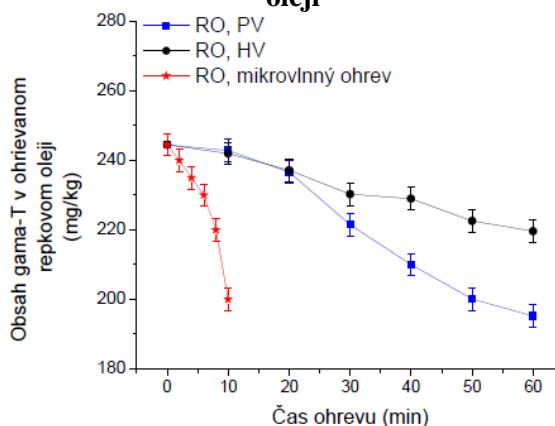


RO- repkový olej; SO- slnečnicový olej; HV- hlboko vedené vyprážanie; PV- povrchovo vedené vyprážanie

Množstvo oleja malo zásadný vplyv na degradáciu α -tokoferolu v SO a RO. V modelovom experimente (bez prídavku potravinu) sa za podmienok povrchovo vedeného vyprážania degradovalo v SO až 73,4 % α -T, zatiaľ čo v RO za tých istých podmienok iba 40,5 % α -T. V prípade hlboko vedeného vyprážania boli straty tokoferolov menšie. V slnečnicovom oleji bola strata α -T 38,9 % a v RO len 18,9 %. V repkovom oleji sme sledovali okrem degradácie α -T aj degradáciu γ -tokoferolu (obr. 2). γ -Tokoferol najvýraznejšie degradoval v podmienkach povrchového vyprážania. Po 50 minútach povrchového vyprážania RO sa degradovalo 12 % γ -T, pričom degradácia α -T v RO bola v tomto čase 40,5 %.

Po 10 minútach mikrovlnného ohrevu slnečnicového oleja sa degradovalo približne 70 % α -tokoferolu a pri ohreve repkového oleja okolo 64 % α -tokoferolu (obr. 1). Výraznú degradáciu tokoferolov vplyvom mikrovlnného žiarenia potvrdil aj Abbas *et al.* (2016), ktorý stanovil 20 %-ný úbytok tokoferolov už po 2 minútach mikrovlnného ohrevu rastlinných olejov a po 10 minútach detegovali takmer úplné vyčerpanie tokoferolov. Tieto výsledky tiež potvrdili Malheiro *et al.*, (2009). Počas mikrovlnného ohrevu repkového oleja sme pozorovali aj degradáciu γ -tokoferolu. Po 10 minútach ohrevu sa obsah znížil o 18 % (obr. 2).

Obrázok 2 Vplyv mikrovlnného ohrevu a vyprážania na degradáciu γ -tokoferolu v repkovom oleji



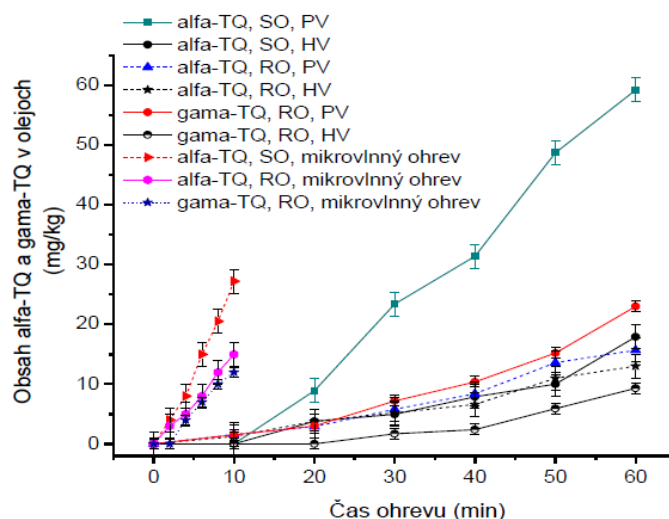
RO- repkový olej; HV- hlboko vedené vyprážanie; PV povrchovo vedené vyprážanie

Z uvedeného vyplýva, že α -T sa degradoval v RO rýchlejšie (obr. 1) ako γ -T (obr. 2). Pomerne vysoký obsah γ -T v RO výrazne prispieval k celkovej stabilite repkového oleja používaného v experimente. Z experimentov tiež vyplýva, že γ -tokoferol je stabilnejším tokoferolom ako α -tokoferol. Pravdepodobne to súvisí s rýchlosťou zhasávania singletového kyslíka, pričom najúčinnější je α -tokoferol potom β -tokoferol, γ -tokoferol a δ -tokoferol (Velišek, 2002).

Degradácia tokoferolov počas vyprážania úzko súvisí so vznikom ich oxidačných produktov, tokoferyl chinónov. Najviac rástol obsah α -TQ v slnečnicovom oleji, ktorý bol ohrievaný za podmienok povrchového vyprážania s prídavkom zemiakových hranolčekov, kedy sme už po prvých 50 minútach pozorovali vznik až 100,9 mg/kg α -TQ (obr. 3). Podobné hodnoty sú prezentované aj v práci Rennick *et al.* (2006), kde ohrievali 200 g slnečnicového oleja v 500 ml skúmavkách pri teplote 180 °C a tiež v práci Murkovič *et al.* (1997), ktorý dosiahol rovnaké hodnoty pri ohreve 50 g klíčkového oleja, pri teplote 180 °C v tme. Výsledky experimentu tiež dokazujú, že vznik α -TQ je do veľkej miery ovplyvnený nenasýtenosťou oleja. Čím olej obsahuje viac kyseliny linolovej, tým rýchlejšie vzniká koncový oxidačný produkt tokoferolu, α -TQ. V repkovom oleji, ktorý obsahuje najmä kyselinu olejovú, sme pozorovali vznik 15,7 mg/kg α -TQ pri podmienkach povrchového vyprážania (obr. 3). Za podmienok hlboko vedeného vyprážania vzniklo v repkovom oleji 13,0 mg/kg α -TQ. Naše pilotné experimenty s mikrovlnným ohrevom dokazujú, že tokoferyl chinóny vznikajú aj vplyvom mikrovlnného ohreву rastlinných olejov (obr. 3).

Zistili sme, že pri ohreve SO vzniká po 10 minútach 27,71 mg/kg α -TQ, zatiaľ čo v repkovom oleji vzniká 25 mg/kg α -TQ a 12,06 mg/kg γ -TQ (obr. 3). Takéto vysoké hodnoty obsahu tokoferyl chinónov sa dosahujú až po 30 – 40 minútach ohreву olejov za podmienok vyprážania. V rámci veľmi krátkej doby vzniká veľké množstvo tokoferyl chinónov, avšak najpoužívanejšia dĺžka doby ohreву jedla v mikrovlnnej peci je v priemere do 2 – 3 minút. V rámci tohto časového intervalu vzniká približne 2 – 4 mg/kg α - a žiaden γ -TQ, pričom s narastajúcim časom sa tento obsah rapídne zvyšuje, v prípade cytotoxického γ -TQ až na hodnoty 11,06 mg/kg.

Obrázok 3 Vplyv mikrovlnného ohreву a vyprážania na vznik tokoferyl chinónov



PV-povrchovo vedené vyprážanie; HV- hlboko vedené vyprážanie

Záver

V práci sme zistili, že oxidované formy tokoferolu, tokoferyl chinóny, vznikajú počas vyprážania a taktiež už počas 3 minútového ohreву oleja v mikrovlnnej peci. Ich vznik je



ovplyvnený zložením oleja, množstvom použitého oleja na vyprážanie (podmienky hlboko vedeného vyprážania a povrchového vyprážania) a v neposlednom rade jeho oxidačnou degradáciou vyplývajúcou z oxidácie mastných kyselín, vznikom konjugovaných diénov a polymérov TAG, ktorých obsah sa zvyšoval s dobou použitia oleja. Väčšie množstvo α -TQ vznikalo v slnečnicovom oleji v porovnaní s repkovým olejom, čo je do značnej miery ovplyvnené vyšším obsahom nenasýtených mastných kyselín v slnečnicovom oleji. Tokoferyl chinóny vznikali 10 krát rýchlejšie počas 10 minútového mikrovlnného ohrevu olejov v porovnaní s procesom vyprážania. Bolo to spôsobené lokálnym prehriatím miesta, kde došlo k adsorpcii mikrovlnného žiarenia, výsledkom čoho bol rýchly priebeh termických reakcií vplyvajúcich na degradáciu tokoferolov a následný vznik tokoferyl chinónov.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmlúv č. APVV-16-0088 „Komplexné využitie rastlinnej biomasy v biopotravínach s pridanou hodnotou“ a APVV-17-0212 „Bioaktívne látky rakytníka rešetliakového a ich uplatnenie vo funkčných potravinách“. Práca bola tiež podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe zmluvy Vega 1/0012/19 „Štúdium získavania zdraviu prospešných látok z rastlinnej biomasy a ich implementácia do potravín“.

Literatúra

1. Abbas Ali, M., Hadi Bin Mesran, M., Abd Latip, R., Hidayu Othman, N., Nik Mahmood, N. A. (2016). Effect of microwave heating with different exposure times on the degradation of corn oil. *International Food Research Journal*, 23(2).
2. Cornwell, D. G., Kim, S., Mazzer, P. A., Jones, K. H., Hatcher, P. G. (2003). Electrophile tocopheryl quinones in apoptosis and mutagenesis: thermochemolysis of thiol adducts with proteins and in cells. *Lipids*, 38(9), 973-979.
3. Fišnar, J., Doležal, M., Réblová, Z. (2014). Tocopherol losses during pan-frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(12), 1694-1700.
4. Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Mylona, A., Ioannou, M. S., Andrikopoulos, N. K. (2007). Recovery and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 100(2), 509-517.
5. Liebler, D. C., Baker, P. F., Kaysen, K. L. (1990). Oxidation of vitamin E: Evidence for competing autoxidation and peroxy radical trapping reactions of the tocopheroxyl radical. *Journal of the American Chemical Society*, 112(19), 6995-7000.
6. Malheiro, R., Oliveira, I., Vilas-Boas, M., Falcão, S., Bento, A., Pereira, J. A. (2009). Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 92-97.
7. Murkovic, M., Wiltschko, D., Pfannhauser, W. (1997). Formation of α -Tocopherolquinone and α -Tocopherolquinone epoxides in plant oil. *Lipid/Fett*, 99(5), 165-169.
8. Réblová, Z., Tichovská, D., Doležal, M. (2009). Heating of plant oils—fatty acid reactions versus tocopherols degradation. *Czech Journal of Food Sciences (Special Issue)*, 27, S185-S187.
9. Rennick, K. A., Warner, K. (2006). Effect of elevated temperature on development of tocopherolquinones in oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(6), 2188-2192.
10. Rossi, M., Alamprese, C., Ratti, S. (2007). Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 102(3), 812-817.
11. Schmidt, Š. Antioxidanty a oxidačné zmeny tukov v potravinách. 1. vydanie ed. STU, Bratislava. pp. 220. ISBN 978-80-227-3491-2.
12. Velíšek J. (ed.): *Chemie potravin*, díl 1, kap. 3, s. 100-103. OSSIS, Tábor 1999.
13. Verleyen, T., Verhe, R., Huyghebaert, A., Dewettinck, K., De Greyt, W. (2001). Identification of α -tocopherol oxidation products in triolein at elevated temperatures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(3), 1508-1511.
14. Yang, S. G., Wang, W. Y., Ling, T. J., Feng, Y., Du, X. T., Zhang, X., Liu, R. T. (2010). Alpha-tocopherol quinone inhibits beta-amyloid aggregation and cytotoxicity, disaggregates preformed fibrils and decreases the production of reactive oxygen species, NO and inflammatory cytokines. *Neurochemistry international*, 57(8), 914-922.

Kontaktná adresa: doc. Ing. František Kreps, PhD., Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: frantisek.kreps@stuba.sk



Rakytník rešetliakový ako zdroj antioxidantne aktívnych látok Sea buckthorn as a source of antioxidant active substances

Zuzana Krepsová, František Kreps, Lívia Janotková, Mariana Potočnáková,
Svetlana Schubertová

Abstract : Sea buckthorn biomass extracts, using solvents of different polarity (96 % ethanol, 70 % ethanol/water (v/v), $\geq 99,9$ % methanol, $\geq 99,9$ % acetone, 50 % acetone/water (v/v)), were prepared and evaluated for their free-radical scavenging capacity, their antioxidant activity (AA), total phenolics and total flavonoids contents. All of the examined sea buckthorn biomass extracts showed antioxidant activity. The ethanol (70 % ethanol/water (v/v)) extracts consistently exhibited the highest antioxidant activity based on the tests performed.

Keywords: sea buckthorn juice, DPPH test

Úvod

Rakytníková šťava je bohatým zdrojom fenolických látok, vitamínu C, tokoferolov a karotenoidov, vďaka ktorým má významnú antioxidantnú aktivitu (Gao, 2000; Rop, 2014; Sharma, 2008; Sytařová, 2020; Ursache, 2018). Je potvrdené, že konzumácia antioxidantov potláča oxidačný stres prebiehajúci v ľudskom organizme, čím znižuje riziko vzniku kardiovaskulárnych ochorení, diabetes mellitus 2. typu, Alzheimerovej choroby, či iných chorôb súvisiacich so starnutím a oxidačným stresom (Bredy, 2014). Prijem antioxidantov pôsobí proti rozvoju rizikových faktorov, akými sú napríklad zvýšený index telesnej hmotnosti, zvýšený krvný tlak, zvýšená hladina celkového cholesterolu v krvi, LDL-cholesterolu, glukózy a zápalových markerov (Koyama, 2009; Mlakar et al., 2015). Tieto účinky boli spojené najmä s fenolmi a flavonoidmi rakytníkovej šťavy a to konkrétne s izorhamnetínom, kvercetínom a rutínom (Bao, 2006; Geetha, 2009). Koncentrácia fenolických zlúčenín v bobuľovinách je ovplyvnená mnohými faktormi, vrátane podmienok prostredia, genetických vlastností rastlinného materiálu, stupňa zrelosti, miesta pestovania, spracovania a skladovania lesných plodov (Vollmannová *et al.* 2009; Pertuzatti *et al.*, 2014).

Vzhľadom na významné antioxidantné vlastnosti bobuľovín, medzi ktoré zaraďujeme aj rakytník rešetliakový, je nanajvýš aktuálne zamerať pozornosť na získavanie takýchto biologicky aktívnych látok a ich aplikáciu do potravín. Jednou z možností získavania antioxidantov z rastlinného materiálu je ich extrakcia rozpúšťadlami. Najčastejšie sa na extrakciu antioxidantov (antokyaníny, flavonoidy, fenoly, karotenoidy) z drobného bobuľového ovocia používajú organické rozpúšťadlá ako napríklad etanol, metanol, acetón, etylacetát a ich zmesi s vodou (Vollmannová *et al.*, 2009; Dimitrijevi *et al.*, 2014; Pertuzatti *et al.*, 2014).

Materiál a metódy

Na stanovenie antioxidantného potenciálu extraktov získaných z rakytníkovej dužiny sme použili plody rakytníka rešetliakového z PD Tvrdošovce (Tvrdošovské zlato) zozbierané v septembri v roku 2018.

Príprava extraktov z plodov rakytníka rešetliakového: Bobule rakytníka rešetliakového boli rozmliaždené v keramickom mažiari tak, aby nedošlo k poškodeniu semien. Semená boli následne vyseparované z dužiny pomocou pinzety. Vzorka dužiny rakytníka rešetliakového bola pred extrakciou sušená pomocou laboratórnej sušiarne Binder FD115 pri teplote 40 °C počas 12 hodín, v tme a s nútenou cirkuláciou vzduchu tak, aby získaná dužina nemala vlhkosť vyššiu ako 2,00 %. Na prípravu extraktov sme presne 5,0 g vysušenej dužiny zmiešali so 75 ml



rozpúšťadla (96 % etanol, 70 % etanol/voda (v/v), $\geq 99,9$ % metanol, $\geq 99,9$ % acetón, 50 % acetón/voda (v/v)). Príslušné zmesi sa nechali 1 hodinu pretrepávať na laboratórnej trepačke pri teplote 20 °C, pričom erlenmayerové banky použité na extrakciu boli zabalené v hliníkovej fólii, čím sa zabezpečila tma. Po extrakcii sa extrakty filtrovali a scentrifugovali. Následne, po šetrnom oddelení jednotlivých supernatantov, sa z daných extraktov oddestilovalo extrakčné činidlo pomocou rotačnej vákuovej odparky (Heidolph Hei-VAP Precision). Skoncentrované extrakty boli uchovávané pod inertnou atmosférou dusíka v mrazničke pri -20 °C.

Stanovenie antioxidantnej aktivity testom DPPH: Radikál-zhášajúca aktivita extraktov šťavy rakytníka rešetliakového bola meraná spektrofotometricky pomocou mikroplatničkového readera (Epoch2, Biotech, Slovensko) modifikovanou metódou podľa Tobolková *et al.*, (2014). Táto radikál-zhášajúca aktivita bola vyhodnocovaná podľa Polovka *et al* (2010) ako hodnota TEAC, teda ako antioxidantná kapacita ekvivalentná troloxu:

$$\text{TEAC}_{(\text{DPPH}\bullet)} = \frac{(C_{t(\text{DPPH}\bullet)} - C_{0(\text{DPPH}\bullet)})}{V_{vz}} * \nu * z$$

kde:

- TEAC je antioxidantná kapacita ekvivalentná troloxu [mmol.kg⁻¹],
- $C_{0(\text{DPPH}\bullet)}$ je počiatočná koncentrácia/absorbancia roztoku •DPPH,
- $C_{t(\text{DPPH}\bullet)}$ je koncentrácia/absorbancia roztoku •DPPH po prídavku príslušnej meranej antioxidantne aktívnej vzorky v čase t ,
- $V_{(\text{DPPH}\bullet)}$ je objem roztoku •DPPH pridaného do systému,
- V_{vz} je objem potenciálne antioxidantnej vzorky pridanej do systému,
- ν je stechiometrický koeficient reakcie DPPH s Troloxom, ktorý v oboch prípadoch nadobúda hodnotu $\nu=1/2$,
- z je faktor zriedenia.

Percento inhibície radikálu •DPPH: Percento inhibície radikálu •DPPH bolo vypočítané podľa nasledujúcej rovnice:

$$\% \text{ Inhibície}_{\text{DPPH}\bullet} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} * 100 \%$$

Kde A_0 je hodnota absorbancie roztoku radikálu •DPPH bez prídavku antioxidantu a A_t je hodnota absorbancie roztoku radikálu DPPH v čase t v prítomnosti antioxidantu.

Stanovenie celkového obsahu polyfenolov: Celkový obsah polyfenolov (TPC) bol stanovený metódou podľa Singletona a Rossiho (1965) s modifikáciou podľa Burčová *et al.* (2019) s využitím Folin-Ciocalteuovho činidla. Absorbancia sa merala pri vlnovej dĺžke 415 nm pomocou mikroplatničkového readera (Epoch2, Biotech, Slovensko). Výsledky boli vyjadrené v miligramoch ekvivalentu kyseliny gallovej na gram suchej vzorky.

Stanovenie celkového obsahu flavonoidov: Celkový obsah flavonoidov (TFC) bol stanovený metódou podľa Kalita *et al.* (2013) modifikovanou podľa Horacek *et al.* (2019), pričom táto kolorimetrická metóda využíva na stanovenie celkových flavonoidov chlorid hlinitý. Absorbancia sa merala pri vlnovej dĺžke 415 nm pomocou mikroplatničkového readera (Epoch 2, Biotech, Slovensko). Výsledky boli vyjadrené v miligramoch ekvivalentu katechínu na gram suchej vzorky.



Výsledky a diskusia

Celkový obsah polyfenolov (TPC) a celková antioxidačná aktivita poskytujú komplexné informácie o predpokladaných antioxidačných vlastnostiach potravinových matric, čím umožňujú zhodnotiť ich potenciálne zdravotné prínosy. Tak ako popisujú iné vedecké štúdie (Vollmannová et al., 2009; Mlakar et al., 2015), aj náš experiment preukázal, že antioxidačná aktivita pozitívne koreluje s obsahom celkových polyfenolov. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov vzoriek extraktov biomasy rakytníka rešetliakového (tab. 1) klesajú od najvyššej hodnoty GAE v nasledujúcom poradí: EtOH 70 % > Acetón 50 % > MeOH 100 % > Acetón 100 % > EtOH 96 %. Z daných údajov je možné pozorovať výrazné rozdiely v obsahu polyfenolov vo vzorkách získaných rozdielnymi extrakčnými činidlami. Najvyššie hodnoty TPC na úrovni 28,97 mg GAE/g d.w. boli namerané vo vzorkách extraktov šťavy rakytníka získaných extrakciou etanolom (70 % etanol/voda (v/v)), pričom hodnota TPC tohto extraktu prevyšovala druhý v poradí extrakt, získaný extrakciou acetónom (50 % acetón/voda (v/v)), až o vyše 11 %. Práca tiež potvrdila, že celkový obsah polyfenolov je priamo ovplyvnený extrakčným rozpúšťadlom a síce, že závisí od polarita a rozpustnosti daných látok v príslušnom rozpúšťadle. Výsledky tak naznačujú, že polarita etanolu (70% etanol/voda (v/v)) bola najviac selektívna na extrakciu polyfenolov, spomedzi použitých extrakčných činidiel, čo potvrdzujú aj iné štúdie (Burčová et al., 2019; Spigno et al., 2007; Jayaprakasha et al., 2001).

Tab. 1 Obsah celkových polyfenolov (TPC) a flavonoidov (TFC) v extraktoch biomasy rakytníka rešetliakového

Rozpúšťadlo/ extrakt	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg CE/g)
EtOH 70 %	28,97 ± 1,57	4,13 ± 0,11
EtOH 96 %	18,90 ± 0,35	2,48 ± 0,06
Acetón 100 %	22,07 ± 1,91	2,92 ± 0,05
Acetón 50 %	25,65 ± 0,30	2,33 ± 0,12
MeOH 100 %	23,32 ± 0,31	2,79 ± 0,04

EtOH- etanol; MeOH- metanol; GAE-ekvivalent kyseliny galovej; CE- ekvivalent katechínu.

Hodnoty celkového obsahu flavonoidov (tab. 1) klesajú od najvyššej hodnoty v nasledujúcom poradí: EtOH 70 % > Acetón 100 % > MeOH 100 % > EtOH 96 % > Acetón 50 % > EtOH 70 %. Z výsledkov merania vyplýva, že najvyššiu hodnotu celkových flavonoidov mal etanolový (70 % etanol/voda (v/v)) extrakt (EtOH 70 %), a to na úrovni 4,13 mg CE/g d.w., čo je takmer o 30 % viac ako mal druhý v poradí najlepší extrakt (Acetón 100 %).

Z výsledkov vyplýva, že etanol (70 % etanol/voda (v/v)) bol najlepším extrakčným rozpúšťadlom pre celkové polyfenoly aj flavonoidy.

Podobný trend výsledkov sme pozorovali aj pri stanovení antioxidačnej aktivity a percentuálnom poklese koncentrácie radikálu. Ako je z Tab. 2 zrejme, väčšina extraktov mala schopnosť terminovať radikál •DPPH v rozmedzí 47,4 – 76,2 %, pričom najnižšia hodnota bola zistená pre acetónový extrakt (100 % acetón/voda (v/v)). Pre objektívne porovnanie antioxidačnej aktivity príslušných extraktov sme výsledky merania prepočítali na hodnoty TEAC, ktoré zohľadňujú vplyv rozdielného riedenia vzoriek. Najvyššie hodnoty AA (antioxidačnej aktivity) boli namerané pre extrakty získané extrakciou etanolom (70 % etanol/voda (v/v)). Z výsledkov vyplýva, že hodnoty antioxidačnej aktivity sú závislé od použitého extrakčného činidla. Etanol v zmesi s vodou v pomere 70:30 sa ukázal ako najlepšie extrakčné rozpúšťadlo pre extrakciu antioxidačne aktívnych látok, o čom svedčia výsledky v obsahu fenolov, flavonoidov a celkovej antioxidačnej aktivity vyjadrenej ako trolox ekvivalent.



Tab. 2 Antioxidačná aktivita extraktov biomasy rakytníka rešetliakového stanovená pomocou radikálu •DPPH a percento ich inhibície radikálu •DPPH

Rozpúšťadlo/ extrakt	% DPPH	TEAC _{•DPPH} (mmol.kg ⁻¹)
RSE EtOH 70 %	54,2 ± 1,4	92,1 ± 1,1
RSE EtOH 96 %	73,7 ± 1,7	87,1 ± 1,0
RSE Acetón 100 %	47,4 ± 1,0	38,7 ± 0,8
RSE Acetón 50 %	68,1 ± 1,3	53,3 ± 2,2
RSE MeOH 100 %	76,2 ± 0,9	57,9 ± 1,6

TEAC-antioxidačná aktivita ekvivalentná troloxu; EtOH- etanol; MeOH- metanol; % DPPH- percentuálny pokles koncentrácie radikálu

Experimentálne merania tejto práce jasne poukázali na značný antioxidačný potenciál biomasy rakytníka rešetliakového. Ukázalo sa, že zvolenie vhodného extrakčného činidla má preukázateľný vplyv na TEAC hodnoty antioxidačnej aktivity. Zároveň, šetrné spôsoby spracovania biomasy a jej vhodné zakonzentrovanie, dokáže hodnotu AA rádovo zvýšiť. Z pohľadu využitia takýchto extraktov v potravinách by to znamenalo, že na výrobu potravín s pridanou hodnotou, v podobe antioxidačnej sily rakytníka, by bolo potrebné použiť len malé množstvá etanolicých extraktov, za súčasného zachovania vysokej antioxidačnej aktivity. Navyše, pridávaním malých, no zároveň antioxidačne vysokých prídavkov, by sa obmedzila aj výrazná chuť rakytníka, ktorá nemusí byť z pohľadu zákazníka vždy prijateľná.

Etanolicke extrakty obsahujú rôzne triedy fenolických látok. Tieto triedy fenolov majú pravdepodobne rozličné antioxidačné sily, no zároveň, môže dochádzať k ich vzájomnému synergizmu alebo k synergizmu s ostatnými zložkami, ktoré sú prítomné v extraktoch, čo môže prispieť k celkovej antioxidačnej aktivite. Avšak, antioxidačná aktivita extraktov nemôže byť predikovaná len na základe obsahu celkových polyfenolov, pretože dôležitú úlohu v ich antioxidačnej aktivite hrá aj ich molekulárna štruktúra, počet OH skupín a podobne (Re et al., 1999).

Záver

Experimentálne výsledky práce skúmajúcej antioxidačnú aktivitu biomasy rakytníka rešetliakového potvrdzujú, že všetky extrakty biomasy rakytníka rešetliakového preukázali, viac či menej, významné schopnosti zachytávať radikály •DPPH. Percento inhibície radikálu •DPPH sa pohybovalo v rozmedzí 47,4 – 76,2 %, pričom najnižšia hodnota bola zistená pre acetónový extrakt (100 % acetón/voda (v/v)). Výsledky stanovenia antioxidačnej aktivity sme kvôli zohľadneniu vplyvu rozdielneho riedenia vzoriek, kvantifikovali ako antioxidačnú aktivitu ekvivalentnú Troloxu (TEAC). Najvyššiu antioxidačnú aktivitu na základe všetkých uskutočnených testov, konzistentne vykazovali etanolové extrakty (70 % etanol/voda (v/v)) a to až na úrovni 110 mmol.kg⁻¹ ekvivalentnou troloxu. Výsledky stanovenia celkového počtu polyfenolov (TPC) a flavonoidov (TFC) ukázali, že najviac selektívnym rozpúšťadlom na extrakciu polyfenolov aj flavonoidov, spomedzi všetkých použitých extrakčných činidiel, bol taktiež roztok etanolu (70% etanol/voda (v/v)). Na základe hodnôt týchto hodnôt sa teda potvrdilo, že množstvo vyextrahovaných polyfenolov a flavonoidov je priamo ovplyvnené polaritou a rozpustnosťou extrakčného činidla.

PodĎakovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmlúv č. APVV-16-0088 „Komplexné využitie rastlinnej biomasy v biopotravinách s pridanou hodnotou” a APVV-17-0212 „Bioaktívne látky rakytníka rešetliakového a ich uplatnenie vo funkčných potravinách”. Práca bola tiež podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe zmluvy Vega 1/0012/19 „Štúdium získavania zdraviu prospešných látok z rastlinnej biomasy a ich implementácia do potravín”.



Literatúra

1. Bao, M., Lou, Y. (2006). Flavonoids from seabuckthorn protect endothelial cells (EA. hy926) from oxidized low-density lipoprotein induced injuries via regulation of LOX-1 and eNOS expression. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 48(1), 834-841.
2. Bredy, V. R. (2014). Aging: Oxidative Stress and Dietary Antioxidant.
3. Burčová, Z., Kreps, F., Schmidt, S., Strzincova, P., Jablonsky, M., Kyselka, J., Surina, I. (2019). Antioxidant Activity and the Tocopherol and Phenol Contents of Grape Residues. *BioResources*, 14(2), 4146-4156.
4. Dimitrijevi, D. S., Kostid, D. A., Stojanovi, G. S. (2014). Phenolic composition, antioxidant activity, mineral content and antimicrob-ial activity of fresh fruit extracts of *Morus alba* L. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(1), 22-30.
5. Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L., Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1485-1490.
6. Geetha, S., Ram, M. S., Sharma, S. K., Ilavazhagan, G., Banerjee, P. K., Sawhney, R. C. (2009). Cytoprotective and antioxidant activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) flavones against tert-butyl hydroperoxide-induced cytotoxicity in lymphocytes. *Journal of medicinal food*, 12(1), 151-158.
7. Horacek, M., Kolar, K., Hola, M., Tobolkova, B., Vaculovic, T., Philipp, C., Belajova, E. (2019). Investigation of geographic origin of wine from border regions: Potential limitations and possibilities of different analytical methods and combinations of methods to identify the correct side of the border. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 12, p. 02032). EDP Sciences.
8. Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290.
9. Kalita, P., Tapan, B. K., Pal, T. K., Kalita, R. (2013). Estimation of total flavonoids content (TFC) and anti oxidant activities of methanolic whole plant extract of *Biophytum sensitivum* Linn. *Journal of Drug delivery and Therapeutics*, 3(4), 33-37.
10. Koyama, T., Taka, A., Togashi, H. (2009). Effects of a herbal medicine, *Hippophae rhamnoides*, on cardiovascular functions and coronary microvessels in the spontaneously hypertensive stroke-prone rat. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 41(1), 17-26.
11. Mlakar, P., Salobir, B., Čobo, N., Strašek, J., Prezelj, M., Debevc, A., Šabovič, M. (2015). The effect of cardioprotective diet rich with natural antioxidants on chronic inflammation and oxidized LDL during cardiac rehabilitation in patients after acute myocardial infarction. *IJC Heart Vasculature*, 7, 40-48.
12. Pertuzatti, P. B., Barcia, M. T., Rodrigues, D., da Cruz, P. N., Hermosín-Gutiérrez, I., Smith, R., Godoy, H. T. (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food Chemistry*, 164, 81-88.
13. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
14. Rop, O., Ercişli, S., Mlcek, J., Jurikova, T., Hoza, I. (2014). Antioxidant and radical scavenging activities in fruits of 6 sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38(2), 224-232.
15. Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., Sinha, A. K. (2008). Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(2), 374-379.
16. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
17. Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering*, 81(1), 200-208.
18. Sytařová, I., Orsavová, J., Snopek, L., Mlček, J., Byczyński, Ł., Mišurcová, L. (2020). Impact of phenolic compounds and vitamins C and E on antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries and leaves of diverse ripening times. *Food chemistry*, 310, 125784.
19. Tobolková, B., Polovka, M., Belajová, E., Koreňovská, M., Suhaj, M. (2014). Possibilities of organic and conventional wines differentiation on the basis of multivariate analysis of their characteristics (EPR, UV-Vis, HPLC and AAS study). *European Food Research and Technology*, 239(3), 441-451.
20. Ursache, F. M., Andronoiu, D. G., Ghinea, I. O., Barbu, V., Ioniță, E., Cotârleț, M., Stănciuc, N. (2018). Valorizations of carotenoids from sea buckthorn extract by microencapsulation and formulation of value-added food products. *Journal of Food Engineering*, 219, 16-24.



21. Vollmannová, A., Tomas, J., Urminska, D., Polakova, Z., Melichacova, S., Krizova, L. (2009). Content of bioactive components in chosen cultivars of cranberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.). *Czech. J. Food Sci*, 27, 248-251.

Kontaktná adresa: Ing. Zuzana Krepsová, PhD., Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: zuzana.krepsova@stuba.sk



FERMENTOVANÉ POHÁNKOVÉ VÝROBKY VHODNÉ PRE ĽUDÍ S LAKTÓZOVOU INTOLERANCIOU I CELIAKIOU – ZASTÚPENIE BIOAKTÍVNYCH ZLOŽIEK A ANTIOXIDAČNÉ ÚČINKY

FERMENTED BUCKWHEAT PRODUCTS SUITABLE FOR PEOPLE WITH LACTOSE INTOLERANCE AND CELIAC DISEASE – BIOACTIVE COMPOUNDS CONTENT AND ANTIOXIDANT EFFECT

Anna Mikulajová, Zuzana Matejčková, Silvia Mošovská, Eva Hybenová

Abstract: This work is focused on fermentation of water- and lactose free milk- based buckwheat product, its conditions and influence on bioactive compounds - phenolic compounds, as well as their associated antioxidant activity - by DPPH and FRAP tests. Total phenolic compounds content was increased about 5,9-67,4% during fermentation. Fermentation improved the antiradical activity (12,3-46,1%) and reducing power (7,7-17,9%) of the products. The nutritional value of cereal product may be improvement by fermentation.

Keywords: fermentation, phenolics, antioxidant activity, buckwheat, lactose free milk

Úvod

Fermentácia je komplexný systém pozostávajúci z mnohých čiastočných procesov, ktoré na seba rôzne nadväzujú a vzájomné sa ovplyvňujú. Dochádza k degradácii, štrukturálnym zmenám prítomných zložiek a tiež syntéze nových zlúčenín. Zmeny ovplyvňujú vlastnosti výsledného produktu, napr. biologickú aktivitu, stráviteľnosť a samozrejme senzorické ukazovatele. V procese fermentácie cereálií a pseudocereálií sa dosahuje pH optimálne pre enzymatickú degradáciu prítomnej kyseliny fytovej, následkom čoho dôjde k uvoľneniu viazaných kationov kovov (železa, zinku, vápnika, horčíka). Pozitívne je tak ovplyvnený príjem v potrave a využiteľnosť týchto dôležitých minerálnych látok v ľudskom organizme (Kohajdová a Karovičová, 2007; Coda *et al.*, 2014). Mení sa tiež kvantitatívne a kvalitatívne zloženie fenolových zlúčenín, pričom mechanizmy vedúce k zmenám môžu byť rôzne (Đordevic *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014; Ripari *et al.*, 2019). Cieľom našej práce bolo hodnotenie vplyvu fermentačného procesu vo vzorkách pohánkových kaší z hľadiska zmien obsahu fenolových zlúčenín a antioxidačnej aktivity.

Materiál a metódy

Pripravené a hodnotené boli pohánkové kaše na báze vody, resp. bezlaktózového mlieka. Fermentačný proces bol vedený 2 spôsobmi:

- samostatná fermentácia zmesnou kultúrou Fresco DVS 1010 (*Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*) pri $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 8 hodín a následne izolátom *Lactobacillus plantarum* pri $6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 21 dní
- spoločná fermentácia zmesnou kultúrou Fresco DVS 1010 a *Lactobacillus plantarum* pri $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 8 hodín a následné skladovanie pri $6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 21 dní

Zloženie pohánkových kaší:

- pohánková vodná kaša: 9 % múky, 2 % sacharózy, 89 % destilovanej vody
- kaša s bezlaktózovým mliekom: 10 % múky, 90 % bezlaktózového mlieka



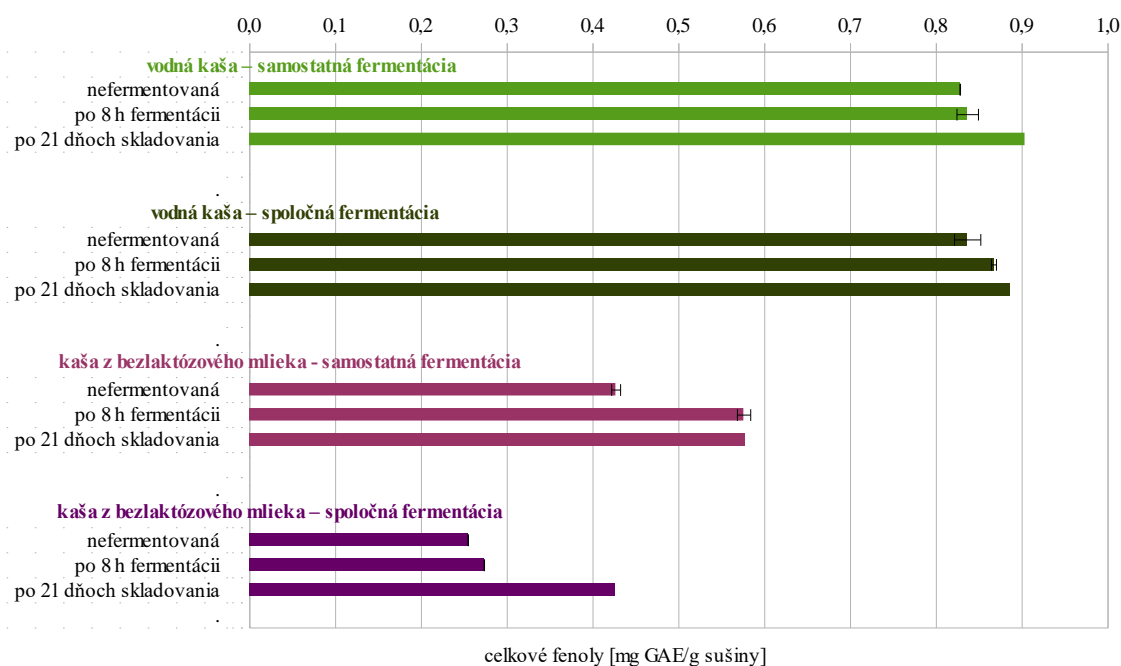
Sledované parametre:

- celkové množstvo fenolových zlúčenín reakciou s Folin-Ciocalteu činidlom (Yu, *et al.*, 2004). Výsledok je vyjadrený v mg kyseliny galovej (GAE)/g suchej vzorky.
- antiradikálová aktivita *in vitro* metódou s DPPH radikálom (Yen & Chen, 1995). Výsledok je vyjadrený ako množstvo vychyteného DPPH radikálu 1 g vzorky (mg DPPH/g suchej vzorky).
- redukčná sila využitím metódy FRAP (Niemeyer & Metzler, 2003). Výsledok je vyjadrený v mg Trolox ekvivalentu (TE)/g suchej vzorky.

Výsledky a diskusia

Obsah fenolových zlúčenín v priebehu fermentácie a skladovania rástol. Po 8 hodinách fermentácie neboli zmeny fenolov, s výnimkou kaše z bezlaktózového mlieka použitím samostatnej fermentácie, významné ($P > 0,05$), avšak počas následného skladovania vzrástlo množstvo fenolov o 9,2 resp. 5,9 % vo vodných kašiach a o 35,1, resp. 67,4 % v kašiach z bezlaktózového mlieka (samostatná, resp. spoločná fermentácia) v porovnaní s počiatočným množstvom fenolov v nefermentovanej vzorke (Obr.1).

Obrázok 1 Hodnoty celkového obsahu fenolových zlúčenín [mg GAE/g suchej vzorky] vo fermentovaných pohánkových kašiach na báze vody a bezlaktózového mlieka



Priebeh zmien antiradikálovej aktivity kaší koreloval so zmenami obsahu fenolov (korelačné koeficienty r 0,896-0,999). Výraznejšie zmeny antiradikálovej aktivity nastali až v priebehu skladovania, hodnoty vzrástli v porovnaní s počiatočnou hodnotou o 12,3 až 46,1 % (Tab. 1).

Prídavok mikrobiálnych kultúr významne ovplyvňoval redukčnú silu kaší. Hodnoty redukčnej sily vzrástli ($P < 0,05$) už počas 8 hodinovej fermentácie (o 4,6 – 21,5 %) a rástli aj počas 21 dňového skladovania. Výnimku tvorila vodná kaša so spoločnou fermentáciou, v ktorej po počiatočnom náraste (z 1,207 na 1,466 mg TE/g suchej vzorky) hodnota redukčnej sily na konci skladovania poklesla, avšak stále bola o 7,7 % vyššia ako počiatočná hodnota (Tab. 1).



Vo vodných kašiach boli stanovené vyššie množstvá fenolových zlúčenín a mali lepšie antioxidačné vlastnosti ako kaše z bezlaktózového mlieka. Toto zistenie možno vysvetliť viazaním fenolových zlúčenín zložkami mlieka, najmä bielkovín a peptidov, do komplexov (Muniandy *et al.*, 2016), pričom vzniknuté komplexy neposkytujú reakciu s Folin-Ciocalteu činidlom.

Tab. 1 Hodnoty antioxidačnej aktivity stanovenej FRAP testom [mg TE/g suchej vzorky] a DPPH testom (mg DPPH/g suchej vzorky) vo fermentovaných pohánkových kašiach na báze vody a bezlaktózového mlieka

vzorka	DPPH test [mg DPPH/g suchej vzorky]	FRAP test [mg TE/g suchej vzorky]
vodná kaša – samostatná fermentácia		
nefermentovaná	3,779 ± 0,005 ^a	1,326 ± 0,011 ^a
po 8 h fermentácii	3,895 ± 0,124 ^a	1,387 ± 0,001 ^b
po 21 dňoch skladovania	5,519 ± 0,057 ^b	1,489 ± 0,021 ^c
vodná kaša – spoločná fermentácia		
nefermentovaná	4,466 ± 0,100 ^a	1,207 ± 0,009 ^a
po 8 h fermentácii	4,583 ± 0,033 ^a	1,466 ± 0,002 ^b
po 21 dňoch skladovania	5,016 ± 0,078 ^b	1,300 ± 0,007 ^c
kaša z bezlaktózového mlieka - samostatná fermentácia		
nefermentovaná	2,796 ± 0,004 ^a	0,762 ± 0,009 ^a
po 8 h fermentácii	3,306 ± 0,020 ^b	0,825 ± 0,010 ^b
po 21 dňoch skladovania	3,174 ± 0,034 ^b	0,851 ± 0,008 ^b
kaša z bezlaktózového mlieka – spoločná fermentácia		
nefermentovaná	1,352 ± 0,027 ^a	0,568 ± 0,009 ^a
po 8 h fermentácii	1,425 ± 0,004 ^a	0,640 ± 0,003 ^b
po 21 dňoch skladovania	1,586 ± 0,012 ^b	0,670 ± 0,004 ^c

^{a-c} rozdiely medzi hodnotami v stĺpcoch s rovnakým indexom nie sú štatisticky významné (P > 0,05)

Z hľadiska vedenia fermentačného procesu nie je možné jednoznačne vyhodnotiť jeden zo spôsobov ako všeobecne vhodnejší. Dosažené výsledky boli v závislosti od substrátu rozdielne. Pre vodné kaše sa ako vhodnejšia javí samostatná fermentácia kultúrou *Fresco* a až následne kultúrou *Lactobacillus plantarum*. Pre kaše z bezlaktózového mlieka sa naopak ukázala účinnejšia spoločná fermentácia kultúrou *Fresco* a *Lactobacillus plantarum*.

Záver

Fermentáciou pohánkových vodných kaší a kaší z bezlaktózového mlieka zmesnou kultúrou *Fresco* tvorenou rodmi *Lactococcus* a *Streptococcus* a potenciálne probiotického izolátu *Lactobacillus plantarum* sa dosiahlo obohatenie kaší o fenolové zlúčeniny a zlepšili sa ich antiradikálové a redukčné schopnosti. Pričom výsledné antioxidačné vlastnosti a zastúpenie fenolov v kašiach boli ovplyvnené použitým mikroorganizmom, resp. podmienkami fermentácie, dĺžkou fermentácie a druhom substrátu.

Pod'akovanie: Táto práca bola realizovaná vďaka podpore projektu „Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood“ (ITMS kód projektu: 313011V336) a projektu VEGA 1/0363/19 „Fermentované cereálne a pseudocereálne výrobky pre nutrične hendikepované skupiny konzumentov: optimalizácia podmienok fermentácie a zloženia kyslíkových a doplnkových kultúr s probiotickým potenciálom vo fermentovaných matriciach“.



Literatúra

1. Coda, R. *et al.* (2014). Sourdough lactic acid bacteria: Exploration of non-wheat cereal-based fermentation. *Food Microbiology*, 37, 51-58.
2. Đorđević, T.M. *et al.* (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, 119, 957-963.
3. Ripari, V. *et al.* (2019). Metabolism of phenolic acids in whole wheat and rye malt sourdoughs. *Food Microbiology*, 77, 43-51.
4. Wang, N. *et al.* (2014). Antioxidant activity of peanut flour fermented with lactic acid bacteria. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 1514-1521.
5. Kohajdová, Z. & Karovičová, J. (2007). Fermentation of cereals for specific purpose. *Journal of Food and Nutrition Research*. 46, 51-57.
6. Yu, L. *et al.* (2004). Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 86, 11-16.
7. Yen, G.C. & Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their mutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27-32.
8. Niemeyer, H.B. & Metzler, M. (2003). Differences in the antioxidant activity of plant and mammalian lignans. *Journal of Food Engineering*, 56, 255-256.
9. Muniandy, P. *et al.* (2016). Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 1-8.

Kontaktná adresa: Ing. Anna Mikulajová, PhD., Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: anna.mikulajova@stuba.sk



DUÁLNA KVALITA POTRAVÍN DUAL FOOD QUALITY

Miriama Mokošáková, Ladislav Staruch

Abstract: This thesis investigates the dual food quality phenomenon. In response to public comparison of groceries made for Slovak and Austrian Market, the main aim is to contrast the food quality of these two and analyze the differences or the conformity of groceries made for aforementioned markets. Firstly, the theoretical part highlights and defines the main concepts and theories including the food quality, food safety, food adulteration and current dual food quality issues. Furthermore, the research is divided into two separate parts. In the first part, the findings about the market were gathered through public questionnaire, that aimed to identify and evaluate customer behavior towards dual food quality. The second part of the research evaluates four different food samples, that are made under the same brand for Slovak and Austrian market.

Keywords: food quality, food safety, food adulteration, dual food quality, sensory analysis

Úvod

Potraviny sú neodlučiteľnou súčasťou nášho každodenného života. Ich nutričnými hodnotami poskytujú pre človeka energiu, dôležité látky pre rast a fungovanie organizmu. Veľký výber a odlišnosť potravín, ktoré ponúkajú obchodné reťazce, je dôvodom nárastu rozmanitosti chuťových preferencií u spotrebiteľov. Slovenskí spotrebiteľia kladú dôraz predovšetkým na kvalitu a bezpečnosť potravín a čoraz viac nakupujú potraviny bez ohľadu na ich cenu a stále viac si uvedomujú dôležitosť kvality a bezpečnosti potravín pre ľudský organizmus. Cieľom Európskej únie je produkovať a dodávať pre spotrebiteľov kvalitné a bezpečné potraviny. V súčasnej dobe nie len na Slovensku, ale rovnako aj v celej Európskej únii je nielen v médiách veľmi diskutovaná téma duálna kvalita potravín, kde výrobcovia potravín na základe preferencií spotrebiteľov a ich nárokom, ale aj odlišným chutiam spotrebiteľov a iné ponúkajú a predávajú spotrebiteľom potraviny pod rovnakým názvom a obalom, ale s odlišnými fyzikálno-chemickými a organoleptickými vlastnosťami a zložením. Táto téma väčšinou poukazuje na to, že spotrebiteľia sú v obchodných reťazcoch klamaní.

Materiál a metódy

Praktická časť práce zahŕňa prieskum trhu vo forme dotazníka, ktorého úlohou bolo zhodnotiť a zistiť spotrebiteľské postavenie a správanie Slovákov na obchodnom trhu. A taktiež poukázať na správanie spotrebiteľov v podmienkach duálnej kvality potravín, ktorá sa čoraz viac vyskytuje na európskom trhu. Súčasťou praktickej časti je aj porovnanie vybraných produktov zakúpených ako na Slovensku tak aj v Rakúsku. Porovnanie rovnakých potravinových produktov rovnakej značky prebieha pomocou senzorickeho testu, ako aj podľa samotného zloženia a ceny produktu.

Na základe verejne dostupných informácií panuje v spoločnosti presvedčenie o tom, že na niektoré trhy sú dodávané potraviny v nižšej kvalite ako na iné trhy. To znamená, že výrobca uvedie na trh výrobok v jednotnom trhu v inom zložení, ako ho uvádza na iný trh, ale pritom sa jedná o výrobok, ktorý je na obidva trhy dodávaný pod rovnakou značkou, v rovnakom obale a je rovnako propagovaný. Aby bolo možné overiť či výrobcovia skutočne využívajú túto obchodnú praktiku, došlo v rámci práce k prieskumu trhu formou dotazníka. Po vyhodnotení dotazníka, kde respondenti určili, že „duálna kvalita potravín“ sa nachádza najmä v mäsových výrobkoch, mliečnych výrobkoch, sladených nápojoch a čokoláde, som sa zakúpili tieto



výrobky od tej istej spoločnosti s rovnakým názvom a zložením, v rovnakom obchodnom reťazci aj v Rakúsku aj na Slovensku a tieto výrobky podrobili senzoričkému hodnoteniu v senzoričkom laboratóriu školenými hodnotiteľmi s cieľom zistiť, či je pravda to, že výrobky predávané pod tou istou značkou, v rovnakom alebo mierne odlišnom obale sa naozaj odlišujú v dvoch členských štátoch.

Výsledky a diskusia

Úlohou tohto senzoričkého testu bolo samotné porovnanie kvality potravín predávaných na slovenskom a rakúskom trhu. V rámci toho prebiehal zber dát vybraných potravín a to ich zloženie a cena. Zber dát sa konal v období 15.4.2019 – 16.4.2019 v dvoch supermarketoch, jeden umiestnený v SR a druhý v Rakúsku. Pre rakúsky trh bol vybraný obchodný reťazec LIDL v meste Hainburg a pre slovenský trh bol taktiež vybraný obchodný reťazec LIDL v meste Bratislava. Údaje o zložení daného výrobku boli získané priamo z jeho etikety a údaje o cene z príslušnej cenovky, kde bola použitá základná cena bez vplyvu zliav. Dáta boli zbierané za pomoci mobilného telefónu s fotoaparátom, konkrétne boli vyfotené všetky etikety vybraných výrobkov a zapísané údaje o cenách, aby mohli byť následne vyhodnotené.

Dotazník bol vytvorený na www.surveymonkey.com a obsahoval celkom 17 otázok s cieľom zistiť záujem, alebo naopak nezáujem spotrebiteľov o kvalitu potravín. Zamerali sme sa na to, čo pre spotrebiteľov znamená kvalitná potravina, čo uprednostňujú pri nákupe potravín, duálnosť potravín a porovnanie kvality potravín nakupovaných na Slovensku s potravinami v Rakúsku.

Po vyhodnotení dotazníka kde respondenti určili, že najviac „rozdielnej kvality“ potravín je v mäsových výrobkoch, mliečnych výrobkoch, sladených nápojov a čokoláde sme vybrali testované výrobky z každej kategórie jeden rovnaký druh s tou istou značkou, s tým istým zložením aj na Slovensku aj v Rakúsku. Z mäsových výrobkoch sa jednalo o Dusenú šunku značky Dulano, z mliečnych výrobkov sa jednalo o syr Ementál značky Milbona, čokoláda bola vybraná mliečna čokoláda Milka a zo sladených nápojov Coca Cola.

Senzoričké hodnotenie sa vykonávalo v akreditovanom laboratóriu FCHPT. Senzoričkého testu sa zúčastnilo celkovo 20 respondentov, z toho 14 žien a 6 mužov, 16 respondentov boli vo veku od 19 do 25 rokov a 4 vo veku od 25 do 45 rokov. Každý respondent bol v hodnotiacom boxe so vzorkami sám, aby nebol ovplyvňovaný ďalšími osobami. Príprava vzoriek bola uskutočnená v oddelenej miestnosti, pri ich skladovaní boli dodržiavané príslušné hygienické pravidla, podávané boli v dostatočnom množstve .t.j. aspoň 20g alebo 100ml. Šunka a syr vzorky boli podávané v kombinácii s bielym pečivom. Dodržaná bola vhodná teplota pre konzumáciu. Nádoby, v ktorých sa podávali vzorky boli senzoričky neutrálne, konkrétne sa jednalo o číre nebrúsené sklo a bielu keramiku, všetko bez podtlače. Pôvod vzoriek bol pred hodnotením anonymný, respondent nevedel, z ktorého trhu výrobok pochádza.

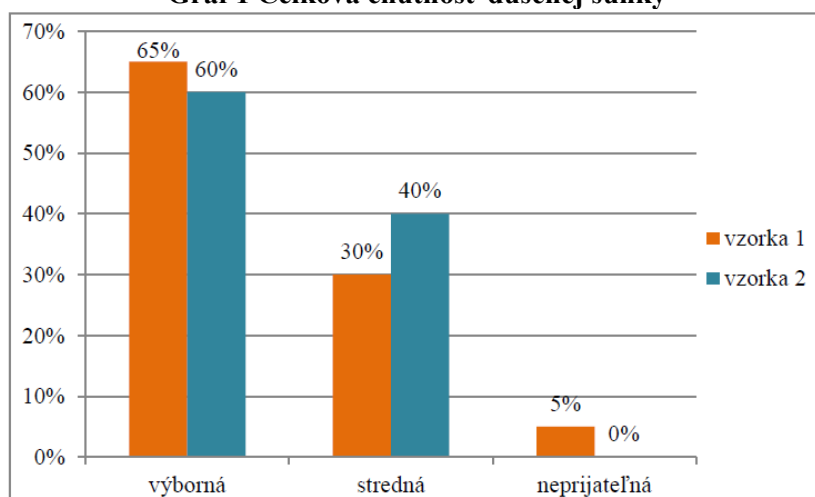
Hodnotenie výrobkov v rámci tohto senzoričkého testu bolo rozdelené v takomto poradí, kde sa hodnotilo ako prvé šunka, následne syr, Coca Cola a na záver čokoláda. Vzorky sa podávali súčasne naraz aj zo slovenského aj rakúskeho trhu, s tým že respondenti nepoznali pôvod. Pri jednotlivých vzorkách sa hodnotilo predovšetkým farba, konzistencia, vôňa, chuť a celková chutnosť. Na záver mali vyznačiť či spozorovali rozdiel medzi vzorkami a ak áno tak v čom. Pri hodnotení farby sa bralo do úvahy či je farba typická pre daný výrobok alebo výrazne odlišná a taktiež porovnanie dvoch vzoriek medzi sebou. Pri testovaní konzistencie sa určovalo či je konzistencia charakteristická pre daný výrobok alebo odlišná. Pri testovaní vône respondenti hodnotili čuchové vnemy výrobku, ktoré sa uplatňujú pri pričuchnutí, prípadne pri jeho konzumácii. Testovanie chuti bolo hodnotené pri samotnej degustácii daných vzoriek. Každý respondent mal k dispozícii pohár vody a pred každou vzorkou si zneutralizoval predošlú chuť.



Ako metóda hodnotenia bola použitá párová porovnávacia skúška. (STN 6658 ISO) Respondent dostal z každého výrobku dve vzorky, vzorka číslo jedna a vzorka číslo dva s neznámym pôvodom. Jeden bol nakúpený na slovenskom trhu a druhý v rakúskom trhu. Úlohou respondenta bolo určiť farbu, konzistenciu, vôňu, chuť a celkovú chutnosť pre obidve vzorky, s tým že nevedeli pôvod vzoriek. Taktiež úlohou bolo zistiť či sa medzi vzorkami nachádzajú rozdiely a ak áno určiť v čom. Všetky odpovede boli zaznamenané v dotazníkoch a následne spracované.

Mäsový výrobok- šunka: Z mäsových výrobkov bola vybraná „Dusená šunka“ značky „Dulano“ zakúpená v obchodnom reťazci Lidl rovnako aj na Slovensku aj v Rakúsku.

Graf 1 Celková chutnosť dusenej šunky



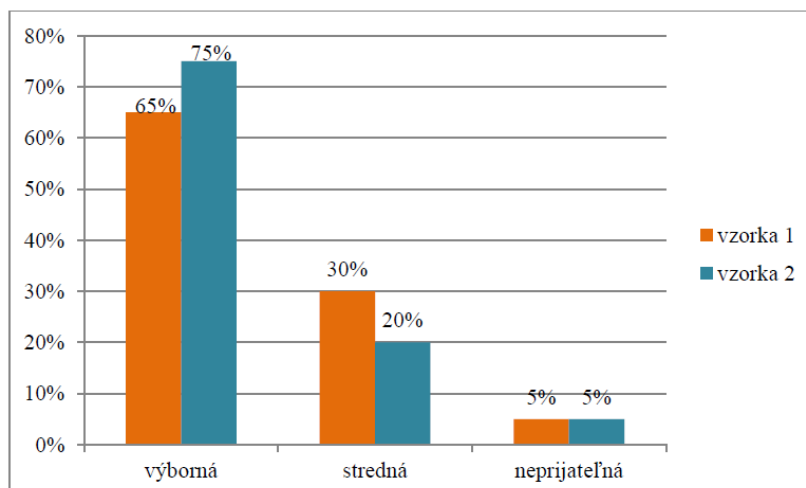
Pri senzoričkom hodnotení dusenej šunky značky Dulano, 20 opýtaných respondentov z toho 6 mužov a 14 žien, hodnotilo pri párovom teste vzorky 1 a vzorky 2 značné rozdiely. Vzorka 1 je dusená šunka zo slovenského obchodného reťazca a vzorka 2 je šunka z rakúskeho obchodného reťazca. Pri poslednej otázke, či respondenti zistili rozdiely vo vzorkách odpovedalo kladne 20 respondentov, čo znamená že existuje rozdiel medzi predloženými vzorkami. Dominantné rozdiely prevládali predovšetkým v konzistencii, vôni a chuti. Po celkovom posúdení výsledkov konštatujeme, že vzorka č.1 (SK) mala tuhšiu konzistenciu, naopak vzorka č. 2 (AT) bola „vláčnejšia, šťavnatejšia a menej súdržná“. Avšak podľa celkovej chutnosti prevládala pre 13 respondentov vzorka č. 1 pochádzajúca zo slovenského trhu nakoľko mala výraznejšiu mäsovú vôňu aj chuť.

Mliečny výrobok – syr : Z mliečnych výrobkov bol vybraný „syr Emmental“ značky „Milbona“ zakúpený v obchodnom reťazci Lidl rovnako aj na Slovensku aj v Rakúsku.

Pri hodnotení syra Ementál z rakúskeho a slovenského obchodného reťazca Lidl, hodnotitelia spozorovali rozdiely. Vzorka č.1 bol syr Ementál zakúpený na Slovensku a vzorka č.2 v Rakúsku. Pri porovnávaní 20 hodnotiteľov z 20tich našli v syroch rovnakej značky s rovnakým zložením a obalom, rozdiely najmä vo farbe a chuti. Vzorka č.2 bola v porovnaní so vzorkou č.1 žltšej farby. Taktiež vzorka č.2 bola v porovnaní so vzorkou 1 oveľa sladšia. V konzistencii sa vzorky podstatne nelíšili. V celkovej chutnosti pre 75% respondentov bola vzorka č.2 výborná a vzorka č.1 pre 65% respondentov. Zo senzoričného hľadiska môžeme povedať, že rozdiely v kvalite dvoch totožných syroch s rozdielnym pôvodom naozaj existujú.



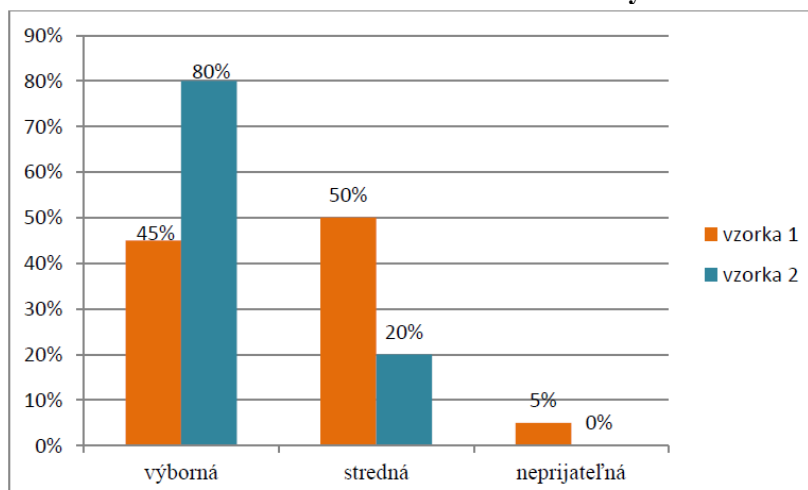
Graf 2 Celková chuťnosť Ementálu



Sladený nápoj – Coca Cola: Zo sladených nápojov bol vybraný nápoj „Coca Cola“ zakúpený v obchodnom reťazci Lidl rovnako aj na Slovensku aj v Rakúsku.

Pri hodnotení Coca Coly respondenti spozorovali rozdiely predovšetkým v chuti. Už z etikety teda zloženia vieme, že vzorka č.1 t.j. Coca Cola zo slovenského trhu je sladená fruktózo - glukózovým sirupom zatiaľ čo vzorka č.2 nakúpená v rakúskom trhu je sladená cukrom. V dôsledku iného sladidla vidíme rozdiel aj v energetickej hodnote, síce energetická hodnota slovenskej Coca coly je len o 1% vyššia ako rakúskej, ale pri dlhodobom konzumovaní takýchto sladených nápojov je lepšie konzumovať „klasický“ cukor ako fruktózo- glukózový cukor. Pri hodnotení vône a farby neboli zistené žiadne rozdiely. Naopak 16 respondentov z 20-tich si všimlo, že vzorka č.2 t.j. rakúska Coca Cola je viac sýtená, obsahuje viac bubliniek, dokonca bolo spomenuté, že až príliš sýtená, kde naopak vzorka č.1 pôsobila ako „odstáta“ Coca Cola bez bubliniek a málo sýtená. Môžem potvrdiť že obidve vzorky boli otvárané za rovnakým podmienok a v rovnakom čase.

Graf 3 Celková chuťnosť Coca Coly



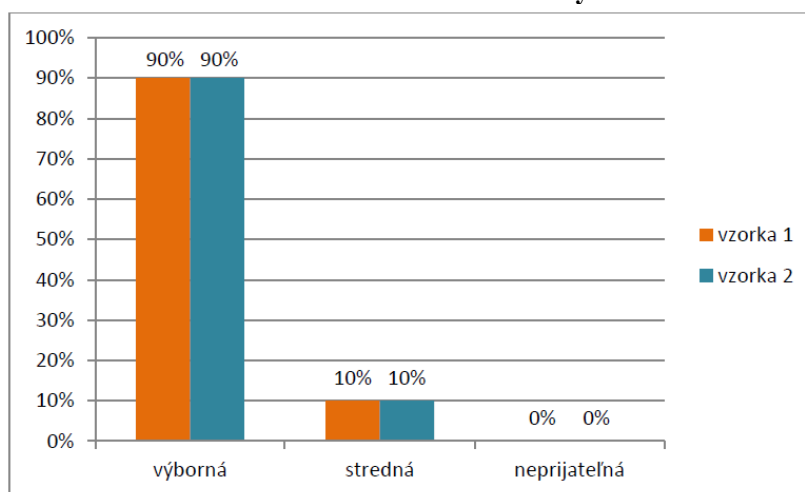
Čokoládový výrobok – čokoláda Milka: Z čokoládových výrobkov bola vybraná mliečna čokoláda „Milka“ zakúpená v obchodnom reťazci Lidl na Slovensku aj v Rakúsku.

Pri senzorickej hodnotení mliečnej čokolády značky Milka, 20 hodnotiacich respondentov z toho 6 mužov a 14 žien, hodnotilo pri párovom teste vzorky 1 a vzorky 2



pomerne malé rozdiely. Pod vzorkou 1 môžeme chápať mliečnu čokoládu zo slovenského obchodného reťazca a vzorka 2 je mliečna čokoláda z rakúskeho obchodného reťazca. Pri poslednej otázke, či respondenti zistili rozdiely vo vzorkách odpovedali kladne 4 respondenti z 20 t.j. 20% respondentov v daných vzorkách vnímali dvojakú kvalitu. Po bližšom preskúmaní práve 2 hodnotitelia zo štyroch označilo za lepšiu čokoládu práve vzorku č.1 a to z dôvodu menej sladkej chuti ako vo vzorke 2, pretože tá podľa nich „mala až príliš sladkú dokonca až nepríjemne sladkú chuť“. Naopak pre ďalších 2 zo štyroch hodnotiteľov bola výrazne lepšia vzorka č.2, pretože podľa nich práve v nej cítili oveľa viac kakaového masla, „mala príjemnejšiu kakaovú chuť a nebola príliš presladená“. Podľa zloženia uvedeného na etiketách čokolády sú identické, jediný rozdiel bol v cene.

Graf 4 Celková chuťnosť čokolády Milka



Záver

Cieľom predkladanej práce bolo porovnať kvalitu potravinárskych výrobkov, ktoré sú dodávané na slovenský a rakúsky trh. Už v minulosti bola táto téma veľmi často diskutovaná a hneď niekoľko nezávislých testov potvrdilo túto nekalú obchodnú praktiku, kde výrobca dodáva výrobok na rôzne trhy v odlišnom zložení. Aj napriek tomu sa výrobca často obhajuje, že odlišné zloženie výrobkov má za následok odlišné chuťové preferencie spotrebiteľov v odlišných krajinách. Avšak spoločnosť to skôr chápe ako reálny podvod a snaha výrobcu ušetriť na výrobných nákladoch a ponúkať výrobky druhej kvality. Z dosiahnutých výsledkov, ako z prieskumu trhu tak aj senzorickej analýzy vybraných vzoriek možno konštatovať určité rozdiely medzi vzorkami nakúpenými v slovenských obchodných reťazcoch a rakúskych. Školení senzoricí hodnotitelia pri odbornom posudzovaní v duálnom teste zistili, respektíve posúdili predkladanú kvalitu. Čo sa týka mäsových výrobkov nie vždy môžeme povedať, že vyššia kvalita pochádza práve z obchodnej siete zakúpenej v Rakúsku. Hodnotitelia naopak vyššie ohodnotili kvalitu šunky vo vybraných znkoch pochádzajúcej zo Slovenska, je otázne či je to spôsobené návykovými senzoricými vnemami (každodennou konzumáciou), čo znamená vyšší obsah soli, mäsa, tuku, intenzívnejšia farba a vôňa, tuhšia konzistencia alebo šunka ktorá ma znížený obsah soli, dusitanov atď. Z tohto testu vyšla lepšie hodnotená šunka predávaná na Slovensku. Čo sa týka samotného hodnotenia syra Ementál značky Milbona víťazne vyšla vzorka zakúpená v rakúskej obchodnej sieti. Hodnotitelia ocenili výraznejšiu charakteristickejšiu žltšiu farbu Ementálu a taktiež plnšiu chuť vo vzorke zakúpenej v rakúskej obchodnej sieti. Najväčší rozdiel bol zaznamenaný v sladenom nápoji „Coca Cola“. Zatiaľ čo v predchádzajúcich vzorkách, diferencie v cenách neboli výrazne a ani v zložení, u Coca Coly predstavovali až skoro 50% rozdiel v cene. Coca Cola z rakúskeho trhu je drahšia ako Coca



Cola na slovenskom trhu. Ďalší výrazný rozdiel bol v zložení, v slovenskej Coca Cole sa jednalo o fruktózo - glukózový sirup a v rakúskej Coca Cole sa jednalo o repný cukor. Veľmi diskutovaná je komodita čokolád. V našom teste boli analyzované Milka čokolády zakúpené aj na Slovensku aj v Rakúsku. Z obalu je možné vidieť že sa jedná o identické zloženie a o identické označenie. Po senzorickej analýze predkladaných vzoriek hodnotitelia konštatovali minimálne rozdiely, až 80% hodnotiteľov ich označila za identické. Toto zistenie bolo pre nás prekvapujúce a z toho dôvodu sme túto eventualitu konzultovali z technologmi vo firme Mondelez Bratislava na základe EAN kódov a príslušnými pracovníkmi z Mondelez bolo zistené, že obidve vzorky boli vyrobené v Nemecku v Mníchove pre jednotný Európsky trh na základe jednotnej receptúry. Môžeme konštatovať že vybraní hodnotitelia, ktorým boli predkladané jednotlivé vzorky hodnotili objektívne. Z prieskumu trhu formou dotazníka vyplynulo, že Slováci sa cítia ako spotrebiteľia potravín druhej kategórie teda horšej kvality ako potraviny v západnej Európe. Túto problematiku považujú za nekalú obchodnú prax, zavádzanie, klamanie, falšovanie, podvod, diskrimináciu a hlavne rozdelenie Európskeho trhu na dve odlišné kategórie. Aj na základe týchto výsledkov v 50% sledovaných vzoriek je tomu tak, pretože samotné testovanie nie len nami , ale aj iných akreditovaných inštitúcií a nie len na Slovensku ale aj v Česku, Poľsku, Rumunsku potvrdilo dvojakú kvalitu potravín.

Literatúra

1. BÍREŠ, J. 2014. Potravinové škandály a podvody v potravinovom reťazci v krajinách Európskej únie. In *Bezpečnosť a kontrola potravín: zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 9-12. ISBN 978-80-552-1162-6.
2. DOBEŠOVÁ, J. – ZIMA, D., 2018. Fenomén dvojí kvality potravín z pohľadu mze, In XLVIII. Symposium o nových smerech výroby a hodnocení potravín, Praha, 2018, 6-10 s., ISBN 978-80-7592-029-4.
3. FAŠIANGOVÁ, K. – GOLIAN, J., 2019. V téme dvojaká kvalita je kľúčový zdroj suroviny a interpretácia výsledku, In *Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*, Piešťany, 2019, 32 – 36s., ISBN 978-80-552-1978-3.
4. HORVÁTH, M. 2017. Falšovanie potravín. In *Bezpečnosť a kontrola potravín*, Nitra, 2017, 42–46 s., ISBN 978-80-552-1649-2.
5. KOLLÁR, V. 2015. Bezpečnosť a kvalita potravín. In *Zborník z XV. medzinárodnej vedeckej konferencie*, Bratislava, 2015. 136 s., ISBN 978-80-89753-02-4.
6. KOŠŮTOVÁ, T. 2014. Balíček kvality na podporu regionálnej politiky a rozvoja vidieka, In *Vedecké state obchodnej fakulty 2014*, Bratislava, 2014, 257 s., ISBN 978-80-225-3931-9.
7. LUKÁŠKOVÁ, E. - BILÍKOVÁ, J. et al. 2014. Potravinová (ne)bezpečnosť. 1. vyd. Praha: Academia, 2014, 10 s., ISBN 978-80-7454-463-7.
8. MALOBICKÁ, E. – ČERVEŇOVÁ, T., 2015. *Bezpečnosť potravín*, 1 vyd. Martin, 2015, 69 – 72s., ISBN 978-80-803-431-5.
9. VALENTA, O. – HLADÍK, P. 2011 *Budoucnosť kvality a bezpečnosti potravín v Česku*. Vyd. 1. Praha: Sociologické nakladatelství, 2011. 13-14 s., ISBN 978-80-86794-38-9.

Kontaktné adresy: Bc. Miriama Mokošáková; Ing. Ladislav Staruch, PhD., Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Food Science and Nutrition, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia. E-mail: xmokosakovam@stuba.sk, ladislav.staruch@stuba.sk



VPLYV BIOLOGICKY AKTÍVNYCH LÁTOK V KÔRE SMREKA OBYČAJNÉHO (*PICEA ABIES*) NA BUNKOVÉ LÍNIE B16 A L1210

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE BARK OF NORWAY SPRUCE (*PICEA ABIES*) ON CELL LINES B16 AND L1210

Marianna Potočnáková, Livia Janotková, Svetlana Schubertová, František Kreps, Zuzana Krepsová, Aleš Ház, Katarína Utekalová, Soňa Jantová

Abstract: The presented publication aims to evaluate the antiproliferative activity of hexane pre-extract, pure substances and their mixtures derived from the Norway spruce bark. Several studies have detailed significant biological activity of abietic acid, dehydroabietic acid methyl ester and β -sitosterol. For these substances, we investigated the antiproliferative activity and synergistic effect of β -sitosterol with dehydroabietic acid methyl ester mixture in a ratio of 1 : 1. The antiproliferative activity of these substances, as well as antiproliferative activity of the pre-extract, were confirmed due to the cytotoxic action on the tumour cell lines and B16 and L1210. The non-tumour fibroblast line NIH-3T3 served as a comparative sample. The biological activity of the test substances was determined utilizing the MTT test at the concentrations used at 0.1; 1; 10 and 100 μ M (20 μ M for β -sitosterol). No similar publication, describing the antiproliferative activity of substances obtained from spruce bark, has been published yet.

Keywords: Biologically active substances, Antiproliferative activity, Spruce barks, Phytosterols, Abietic acid

Úvod

Smrek obyčajný tvorí takmer jednu štvrtinu z celkového zalesnenia na území Slovenskej republiky. Kôra smreka obyčajného je súčasťou odpadovej biomasy vznikajúcej pri spracovaní dreva a ďalej sa najčastejšie využíva pri spaľovaní (Strižincová et al., 2019, Bukhanko et al., 2020).

Sledovanie biologickej aktivity látok extrahovaných z kôry a ďalších častí stromov sa v posledných rokoch stalo objektom záujmu viacerých vedcov po celom svete. Saidi et al. sledoval cytotoxickú aktivitu extraktov a fytochemikálií z *Citharexylum spinosum* (Saidi et al., 2020). Oyeleke et al. skúmal protizápalové vlastnosti etanolového extraktu z kôry *Theobroma cacao* (Oyeleke et al., 2018). Wang et al. pozoroval antioxidačnú a antiproliferačnú aktivitu extraktov z *Moringa oleifera* (Wang et al., 2020).

Vo všeobecnosti delíme extrakty na lipofilné a hydrofilné. Vo vode nerozpustné extrakty zo smreka obyčajného nazývame živice. Zložené sú predovšetkým z mastných kyselín a alkoholov, voskov, sterolov, glyceridov, ketónov (Hillis, 1971, Levitin and Canada, 1970). Kôra a živice sú bohatým zdrojom organických kyselín (abietovej, dehydroabietovej, neoabietovej, pimarovej, isopimarovej, levopimarovej, sandrakopimarovej a palustrovej) a lignánov (pinorezinol, laricirezinol, matairezinol, *p*-hydroxyškoricová kyselina), ktoré majú podstatné antimikrobiálne účinky a vlastnosti, ktoré výrazné zlepšujú hojenie rán a regeneráciu kože (Hammerbacher et al., 2013).



Hou et al. uvádza, že kyseliny abietová, dehydroabietová a ich deriváty vykazujú široké spektrum účinnosti, vrátane protizápalovej, antivirotickej, antimikrobiálnej a najmä protinádovej aktivity (Hou et al., 2017).

Je mimoriadne dôležité vyhľadávať nové zdroje látok s protirakovinovým účinkom a to najmä z dôvodu narastajúceho počtu úmrtí onkologických pacientov. Od roku 1990 došlo k nárastu úmrtí spôsobených rakovinou o 22 % (Conforti et al., 2008).

Publikácia sa zameriava na antriproliferačnú aktivitu pre-extraktu, v ňom vyskytujúcich sa látok a jednej synteticky upravenej látky, voči dvom nádorovým bunkovým líniam a jednej nenádorovej bunkovej línii pochádzajúcich z myši. U skúmaných látok bola potvrdená antiproliferačná aktivita a zároveň bola zaznamenaná vznikajúca rezistencia na tieto látky u nenádorovej línii NIH-3T3.

Materiály a metódy

Kôra zo smreka obyčajného, ako odpadový produkt vznikajúci pri priemyselnom odkôrňovaní bola získaná od Bioenergo Inc. (Ružomberok, Slovakia).

Chemikálie: Rozpúšťadlá použité na extrakciu a chemikálie použité na syntézu metylesteru dehydroabietovej kyseliny boli v analytickej čistote 90 – 99 % (Sigma Aldrich, Calbiochem, VWR, Centralchem, Mikrochem, Lachema).

Pre sledovanie biologickej aktivity bunkových línii boli použité antibiotiká-penicilín G a streptomycín, Dulbeccoovo modifikované Eaglovo médium (DMEM), Roswell Park Memorial Institute médium (RPMI), fosfátom pufrovaný soľný roztok (PBS), fetálne inaktivované bovínne sérum (FBS), Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT), kyselina abietová, *cis*-platina (*cis*-diamín dichlorid platina) od Sigma Aldrich (Nemecko), β -sitosterol od Fluka (Francúzsko), 0,25 % trypsín bez Mg^{2+} a Ca^{2+} od Biochrom (Bratislava).

Pre sledovanie biologickej aktivity bol ďalej použitý *n*-hexánový pre-extrakt, kyselina abietová (KA) a syntetizovaný metylester dehydroabietovej kyseliny (MeKDHA), β -sitosterol, ktoré boli rozpustené v dimetylsulfoxide (DMSO).

Bunkové línie: Pre sledovanie antiproliferačnej aktivity boli vybrané bunkové línie pochádzajúce z myši, porovnané s nenádorovou bunkovou líniiou.

Bunková línia B16 je získané z tkaniva melanómu. Bunky sú adherentné, doba zdvojenia predstavuje približne 24 hodín. Kultivované v DMEM, inokulum 4×10^4 buniek.ml⁻¹ kultivačného média. Bunkovú líniu nám poskytla firma Hameln rds a.s v Modre.

Bunkovú líniu L1210 predstavujú leukemické, lymfocytické bunky, rastúce suspenzne. Doba zdvojenia je 14 až 18 hodín. Kultivované v RPMI 1640, inokulum 7×10^4 buniek.ml⁻¹ kultivačného média. Bunkovú líniu poskytol Ústavu experimentálnej onkológie SAV v Bratislave.

Nenádorová bunková línia NIH-3T3 pochádza z adherentných fibroblastových buniek. Pri kultivácii bunky rastú v jednej vrstve na povrchu kultivačného média. Doba zdvojenia predstavuje 20 až 30 hodín. Kultivované v DMEM médiu, inokulum 6×10^5 buniek.ml⁻¹ kultivačného média. Táto bunková línia bola získaná z Centrálnej tkanivovej banky, Fakultnej nemocnice s poliklinikou v Bratislave.

Všetky média boli obohatené o penicilín G (100 μ g.ml⁻¹), streptomycín (100 μ g.ml⁻¹) a fetálne bovinné sérum (10%). Kultivácia prebiehala pri 37 °C v atmosfére zvlhčenej s obsahom 5 % CO₂. Pasážovanie prebiehalo 2 krát do týždňa.

Príprava vzorky: Kôra smreka obyčajného bola dezintegrovaná pomocou kladivového mlyna na požadovanú veľkosť častíc (1 – 1,5 mm). 50 g dezintegrovannej kôry bolo použitých na Soxhletovu extrakciu etanolom, ktorá prebiehala 8 hodín. Po skončení extrakcie bolo 5 g reziduálnych látok pre-extrahovaných v zmesi etanolu a *n*-hexánu (1 : 5). Následne boli oba extrakty podrobené GC/MS analýze.



*Kvalitatívna analýza pre-extraktov GC/MS:GC/MS chromatografia (MS 5975C, Agilent) bola použitá na detekciu zloženia etanolového a *n*-hexánového pre-extraktu. Pre stanovenie bola použitá vzorka s koncentráciou 7 mg.ml⁻¹ v *n*-hexáne. Látky boli separované na kolóne HP-5MS (30 m × 250 m⁶ × 0,25 m⁶). Ako nosný plyn bolo použité hélium, (31,6 cm³.min⁻¹), tlak zodpovedal hodnote 72,8 kPa, teplota nástreku bola 250 °C, split pomer 25 : 1, nástrek bol 1 µl, teplota kolóny bola nastavená na 80 °C s výdržou 2 min, následne bola kolóna zahrievaná rýchlosťou 15 °C za minútu na teplotu 320 °C s výdržou 52 min, teplota na výstupe z pece bola 300 °C, zdroj MS detektora mal teplotu 250 °C, teplota MS kvadrupolu bola 150 °C, elektrónová energia 70 eV a pomer m/z v rozsahu 30 – 780.*

Príprava metylesteru kyseliny dehydroabietovej: Metylester kyseliny dehydroabietovej bol zhotovený podľa metodiky prípravy metylesterov mastných kyselín, podľa Christophersona (Christopherson and Glass, 1969). Následne bola kvalitatívnou analýzou pomocou GC/MS overená správnosť syntézy pripraveného metylesteru.

MTT test: Čisté látky – kyselina abietová (KA), β-sitosterol, metylester kyseliny dehydroabietovej (MeKDHA), zmes metylesteru kyseliny dehydroabietovej + β-sitosterolu (MeKDHA + β-sitosterol) a hexánový pre-extrakt boli použité pre sledovanie biologickej aktivity v štyroch rôznych koncentráciách: 0,1; 1; 10; 100 µM, (20 µM pre β-sitosterol). Vzorky boli rozpustené v DMSO do výslednej koncentrácie max. 0,1%.

Postup pri analýze a príprave adherentnej (B16) a nenádorovej (NIH-3T3) vzorky bol dodržaný podľa (Gautam, 2018), s výnimkou použitého objemu DMSO, ktorý sme použili 100 µl, absorbancia bola meraná pri vlnovej dĺžke 540 nm. V prípade suspenznej vzorky (L1210) musia byť vzorky zafarbené trypanovou modrou (500 µl trypanovej modrej + 500 µl bunkovej suspenzie). Z roztoku bola pripravená suspenzia buniek s koncentráciou 1x10⁴ buniek.ml⁻¹, z ktorej bolo odpipetovaných 200 µl do jamiek na platničke. Platničky boli kultivované v termostate s prísunom CO₂, pri teplote 37 °C, po dobu 24 hodín, kedy dochádzalo k prichytávaniu buniek na povrch suspenzie. Po 24-hodinách bolo k suspenzii pridaných 20 µl testovanej látky.

Výsledky a diskusia

Kvalitatívne zloženie pre-extraktov: Z GC/MS analýzy sme zistili, že etanolový a hexánový pre-extrakt sa líšia najmä v zastúpení biologicky aktívnych látok, na základe čoho bol hexánový pre-extrakt zvolený ako vhodnejší pre sledovanie antiproliferačnej aktivity. V pre-extrakte boli detegované nasledujúce látky v poradí s klesajúcou koncentráciou: β-sitosterol, thunbergol, kaurén, γ-sitosterol, MeKDHA, kampsterol.

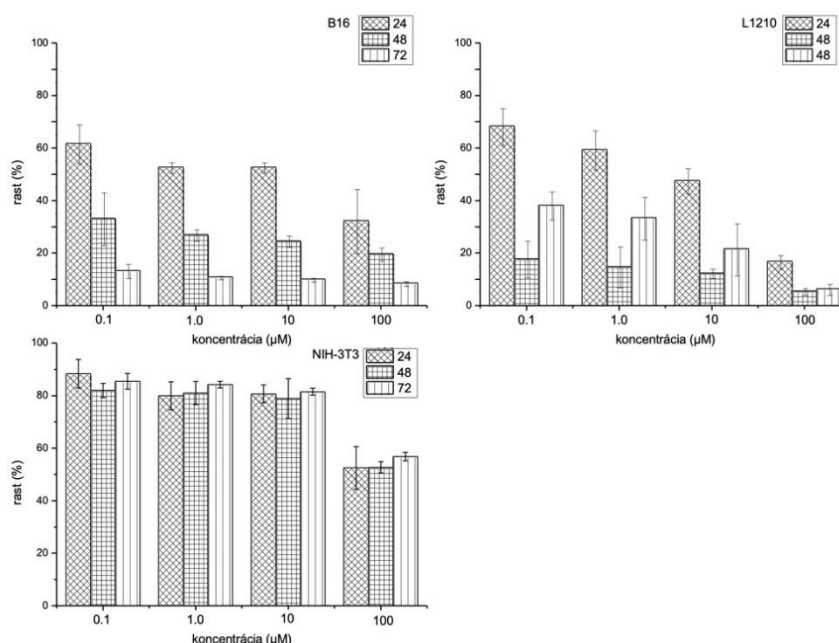
Podľa Awad et al. patrí β-sitosterol spolu s kampsterolom a sigmsterolom medzi najčastejšie sa vyskytujúce fytoosteroly vo výžive. Denný príjem rastlinných sterolov vo výžive sa pohybuje v intervale 167 – 437 mg za deň, v závislosti na rozdielnom zložení populácie. Pozitívny účinok rastlinných sterolov na ľudské zdravie je známy (Awad and Fink, 2000). Podľa Awad et al. sa rastlinné steroly ukázali ako efektívna prevencia voči hyperproliferačii buniek hladkého svalstva, ktoré zohrávajú dôležitú rolu pri rozvoji aterosklerózy (Awad et al., 2001).

Kreps et al. potvrdil antioxidačnú aktivitu biologicky aktívnych látok smreka obyčajného prítomných v extraktoch a ich frakciách (Kreps et al., 2017). Zo stanovenia antioxidačnej kapacity podľa Burčová et al. je zrejmé, že extrakt zo smreka obyčajného získaný pomocou Soxhletovej extrakcie s hodnotou 15 mmol troloxu.mg⁻¹ vykazuje vyššiu antioxidačnú aktivitu v porovnaní s ďalšími antioxidantami: kyselina sipanová a kávová, α-tokoferol, β-karotén, butylhydroxyanizol (BHA) a butylhydroxytoluén (BHT) (Burčová et al., 2018).



Vyhodnotenie biologickej aktivity hexánového pre-extraktu: Pri pôsobení hexánového pre-extraktu na bunkovú líniu L1210 po dobu 24 hodín sa ako najefektívnejšie prejavilo použitie koncentrácie 100 μM , ktoré spôsobilo inhibíciu rastu 83 % buniek (Obr.1). Po dlhšie trvajúcim pôsobení (48 – 72 hodín) bola pozorovaná celková degradácia bunkovej kultúry. V prípade pôsobenia na kultúry z línie B16 účinnosť narastala so vzrastajúcou koncentráciou a časom. Pri 48-hodinovom pôsobení, pri žiadnej z použitých koncentrácií nebol zaznamenaný rast viac ako 33,3 % buniek a pri 72-hodinovom pôsobení to nebolo viac ako 13,4 %. Priaznivý výsledok bol pozorovaný pri pôsobení na nenádorovú líniu NIH-3T3, kde pri použití koncentrácií od 0,1 do 10 μM , po dobu 24 – 72 hodín proliferovalo 78,9 až 88,4 %. K výraznejšiemu poklesu rastu buniek došlo pri použití koncentrácie 100 μM , kedy bola zaznamenaná inhibícia rastu u 43 až 47 % buniek.

Obrázok 1 Vplyv hexánového pre-extraktu na bunkové línie B16, L1210, NIH-3T3



Vyhodnotenie biologickej aktivity čistých látok a zmesi: Podobne ako v prípade pre-extraktu, vplyv prídavku čistých látok (KA, β -sitosterol, MeKDHA) a zmesi (MeKDHA + β -sitosterolu) bol sledovaný v štyroch koncentráciách po dobu 24, 48 a 72 hodín. Aktivita kyselina abietovej v prípade pôsobenia na bunky z línie L1210 (Obr.2) narastala s použitou koncentráciou v čase. U bunkovej línie B16 (Obr. 3) došlo k významnej antiproliferačnej aktivite až po pôsobení trvajúcim minimálne 48 hodín. Po 24-hodinách proliferovalo relatívne vysoké percento buniek (70 %), po 48-hodinovom pôsobení došlo k zníženiu približne o 50 % (proliferovalo menej ako 20 %). Z obr. 4 je zrejmé, že vplyv KA na nenádorovú líniu NIH-3T3 nespôbil také výrazné zmeny ako u predošlých línií, počas celej doby pôsobenia proliferovalo viac ako 67 % buniek. Z výsledkov možno usúdiť, že cytotoxický účinok na nenádorové bunky rástol s použitou zvyšujúcou sa koncentráciou, naopak s narastajúcim časom klesal. Môžeme tiež usúdiť, že s narastajúcim časom došlo v prípade línie NIH-3T3 k budovaniu rezistencie voči KA.

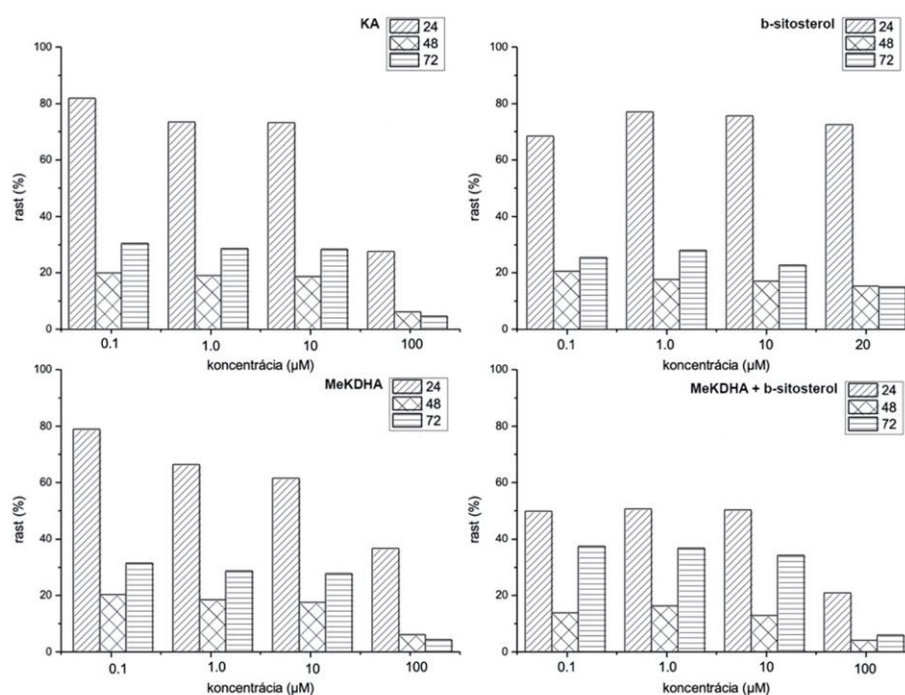
Účinok β -sitosterolu a MeKDHA na líniu L1210 je porovnateľný a najvyšší rozdiel bol zaznamenaný až po 72-hodinovom pôsobení MeKDHA s využitím najvyššej koncentrácie, kedy proliferovalo len 6,26 – 4,44 % buniek. Významný účinok bol pozorovaný pri použití zmesi MeKDHA + β -sitosterolu, kedy pri použití ktorejkoľvek z koncentrácií a času nerástlo

viac ako 50,7 % buniek. Pri najvyššej použitej koncentrácii po dobu 48 – 72 hodín proliferovalo menej ako 6 % buniek. V prípade línie L1210 je možné konštatovať, že ako najúčinnšie činidlo sa prejavila zmes MeKDHA + β -sitosterolu.

Z obr. 3 je zrejmé že pri 24-hodinovom pôsobení na líniu B16 boli dosiahnuté najlepšie výsledky s použitím zmesi MeKDHA + β -sitosterolu. Pri dlhšom pôsobení (48 – 72 hodín) boli pozorované uspokojivejšie výsledky pri použití samotného β -sitosterolu, kedy po 48-hodinovom pôsobení proliferovalo menej ako 16 % buniek a po 72-hodinovom dokonca menej ako 10 % buniek.

Poslednou skúmanou líniou bola nenádorová fibroblastová línia NIH-3T3, u ktorej bol pozorovaný vznik rezistencie na pôsobiacu látku MeKDHA a zmesi MeKDHA + β -sitosterolu. Pri samotnom β -sitosterole sa predpokladá vznik rezistencie až po 72-hodinovom pôsobení.

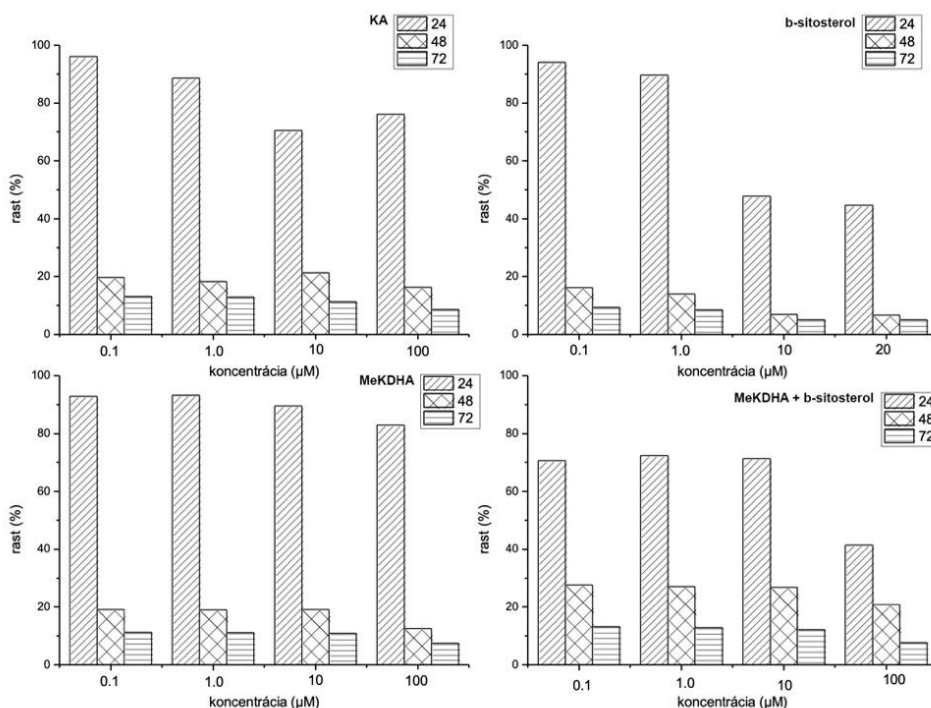
Obrázok 2 Vplyv čistých látok a zmesi na bunkovú líniu L1210



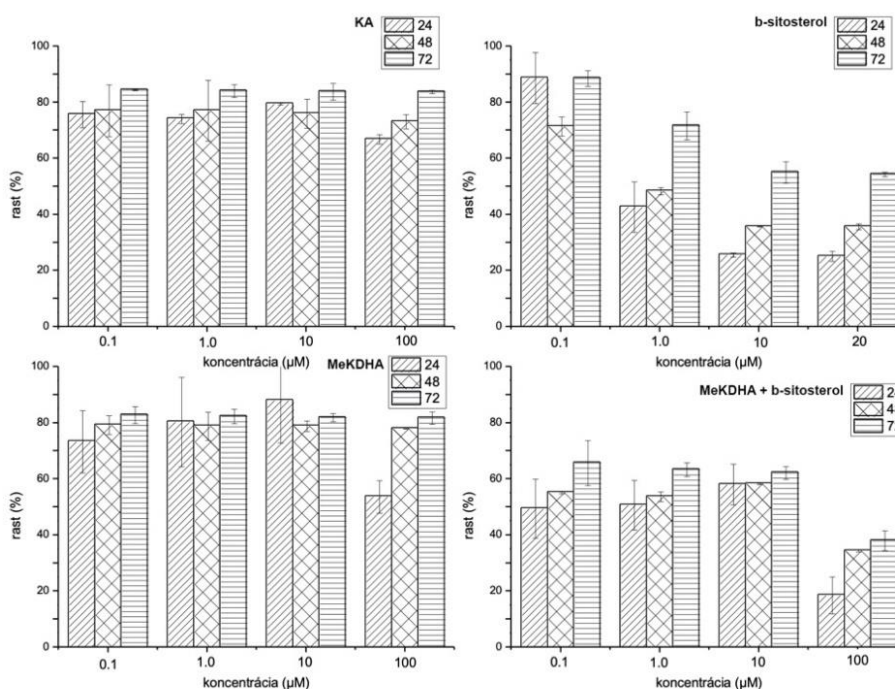
Uvedené výsledky korelujú s viacerými doposiaľ uverejnenými publikáciami: Sepúlveda *et al.* sledoval gastroprotektívnu aktivitu diterpénov dehydroabietovej kyseliny v žalúdočných léziách myší, v ľudských pľúcnych fibroblastoch (MRC-5) a ľudských epitelových žalúdočných bunkách (AGS). Najvyšší gastroprotektívny účinok pri perorálnej dávke $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ prejavil aldehyd-dehydroabietan, kyselina dehydroabietová a jej metylester (Sepúlveda *et al.*, 2005). Maiyo *et al.* zase zistil významnú cytotoxickú aktivitu β -sitosterolu na nádorových bunkách hrubého čreva Caco-2, kde indukoval apoptózu (Maiyo *et al.*, 2016). S nenádorovými fibroblastovými líniami pracoval aj Malek *et al.*, ktorý porovnával účinok troch fytosterolov. Zistil, že v porovnaní s nádorovými bunkovými líniami, bola nenádorová fibroblastová línia MRC-5 najmenej citlivá (Malek *et al.*, 2009).



Obrázok 3 Vplyv čistých látok a zmesi na bunkovú líniu B16



Obrázok 4 Vplyv čistých látok a zmesi na bunkovú líniu NIH-3T3



Záver

Z publikovaných výsledkov vyplýva, že použitý hexánový pre-extrakt, ako aj čisté látky, vyskytujúce sa v extraktoch kôry zo smreka obyčajného sú schopné spomaliť rast nádorových buniek a zároveň nepôsobia cytotoxicky na zdravé, nenádorové bunky. Z výsledkov je tiež zrejmé, že metyláciou kyseliny abietovej na metylester kyseliny dehydroabietovej nedochádza k výraznej zmene aktivity pôvodnej kyseliny. Taktiež bol potvrdený synergický účinok



β -sitosterolu v použití s metylesterom dehydroabietovej kyseliny, kedy zmes v pomere 1 : 1 vykazovala vyššiu antiproliferačnú aktivitu ako čisté látky, ktorá viedla k výraznej inhibícii rastu buniek. Z výsledkov je taktiež zrejmé, že schopnosť inhibovať rast nádorových buniek bola tým vyššia, čím vyššia bola použitá koncentrácia a čas. Látky s potvrdeným antiproliferačným účinkom môžu nájsť svoje uplatnenie pri fortifikácii potravín, alebo ako prídavok do kozmetiky.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmlúv č. APVV-16-0088 „Komplexné využitie rastlinnej biomasy v biopotravínach s pridanou hodnotou“ a APVV-17-0212 „Bioaktívne látky rakytníka rešetliakového a ich uplatnenie vo funkčných potravinách“. Práca bola tiež podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe zmluvy Vega 1/0012/19 „Štúdium získavania zdraviu prospešných látok z rastlinnej biomasy a ich implementácia do potravín“.

Literatúra

1. AWAD, A. B. & FINK, C. S. 2000. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr*, 130, 2127-30.
2. AWAD, A. B., SMITH, A. J. & FINK, C. S. 2001. Plant sterols regulate rat vascular smooth muscle cell growth and prostacyclin release in culture. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 64, 323-30.
3. BUKHANKO, N., ATTARD, T., ARSHADI, M., ERIKSSON, D., BUDARIN, V., HUNT, A. J., GELADI, P., BERGSTEN, U. & CLARK, J. 2020. Extraction of cones, branches, needles and bark from Norway spruce (*Picea abies*) by supercritical carbon dioxide and soxhlet extractions techniques. *Industrial Crops and Products*, 145, 112096.
4. BURČOVÁ, Z., KREPS, F., GREIFOVÁ, M., JABLONSKÝ, M., HÁZ, A., SCHMIDT, Š. & ŠURINA, I. 2018. Antibacterial and antifungal activity of phytosterols and methyl dehydroabietate of Norway spruce bark extracts. *Journal of Biotechnology*, 282, 18-24.
5. CONFORTI, F., IOELE, G., STATTI, G., MARRELLI, M., RAGNO, G. & MENICHINI, F. 2008. Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants. *Food and chemical toxicology*, 46, 3325-3332.
6. GAUTAM, G. 2018. *General principles of MTT assay method*.
7. HAMMERBACHER, A., SCHMIDT, A., WADKE, N., WRIGHT, L. P., SCHNEIDER, B., BOHLMANN, J., BRAND, W. A., FENNING, T. M., GERSHENZON, J. & PAETZ, C. 2013. A common fungal associate of the spruce bark beetle metabolizes the stilbene defenses of Norway spruce. *Plant Physiol*, 162, 1324-36.
8. HILLIS, W. E. 1971. Distribution, properties and formation of some wood extractives. *Wood Science and Technology*, 5, 272-289.
9. HOU, W., LUO, Z., ZHANG, G., CAO, D., LI, D., RUAN, H., RUAN, B. H., SU, L. & XU, H. 2017. Click chemistry-based synthesis and anticancer activity evaluation of novel C-14 1,2,3-triazole dehydroabietic acid hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, 1042-1052.
10. CHRISTOPHERSON, S. W. & GLASS, R. J. J. O. D. S. 1969. Preparation of milk fat methyl esters by alcoholysis in an essentially nonalcoholic solution. 52, 1289-1290.
11. KREPS, F., BURČOVÁ, Z., JABLONSKÝ, M., HÁZ, A., FREČER, V., KYSELKA, J., SCHMIDT, Š., ŠURINA, I. & FILIP, V. 2017. Bioresource of Antioxidant and Potential Medicinal Compounds from Waste Biomass of Spruce. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5, 8161-8170.
12. LEVITIN, N. J. P. & CANADA, P. I. 1970. The extractives of Birch, Aspen, Elm and Maple: review and discussion. 71, 81-4.
13. MAIYO, F., MOODLEY, R. & SINGH, M. 2016. PHYTOCHEMISTRY, CYTOTOXICITY AND APOPTOSIS STUDIES OF B-SITOSTEROL-3-O-GLUCOSIDE AND B -AMYRIN FROM PRUNUS AFRICANA. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 13, 105-112.
14. MALEK, S. N. A., SHIN, S. K., WAHAB, N. A. & YAACOB, H. 2009. Cytotoxic components of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) leaves. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14, 1713-1724.
15. OYELEKE, S. A., AJAYI, A. M., UMUKORO, S., ADERIBIGBE, A. O. & ADEMOWO, O. G. 2018. Anti-inflammatory activity of *Theobroma cacao* L. stem bark ethanol extract and its fractions in experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 222, 239-248.
16. SAIDI, I., NIMBARTE, V. D., SCHWALBE, H., WAFFO-TÉGUO, P., HARRATH, A. H., MANSOUR, L., ALWASEL, S. & BEN JANNET, H. 2020. Anti-tyrosinase, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of extracts and phytochemicals from the Tunisian *Citharexylum spinosum* L.: Molecular docking and SAR analysis. *Bioorganic Chemistry*, 102, 104093.



17. SEPÚLVEDA, B., ASTUDILLO, L., RODRÍGUEZ, J. A., YÁÑEZ, T., THEODULOZ, C. & SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. 2005. Gastroprotective and cytotoxic effect of dehydroabietic acid derivatives. *Pharmacol Res*, 52, 429-37.
18. STRIŽINCOVÁ, P., HÁZ, A., BURČOVÁ, Z., FERANC, J., KREPS, F., ŠURINA, I. & JABLONSKÝ, M. 2019. Spruce Bark-A Source of Polyphenolic Compounds: Optimizing the Operating Conditions of Supercritical Carbon Dioxide Extraction. *Molecules*, 24.
19. WANG, F., LONG, S., ZHANG, J., YU, J., XIONG, Y., ZHOU, W., QIU, J. & JIANG, H. 2020. Antioxidant activities and anti-proliferative effects of *Moringa oleifera* L. extracts with head and neck cancer. *Food Bioscience*, 37, 100691.

Kontaktná adresa: Ing. Marianna Potočnáková, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská Republika. E-mail: marianna.potocnakova@stuba.sk



VPLYV PRÍDAVKU RAKYTNÍKOVEJ ŠŤAVY NA RAST POTRAVINÁRSKY VÝZNAMNÝCH MIKROBIÁLNYCH KULTÚR

INFLUENCE OF SEA BUCKTHORN JUICE ADDITION ON THE GROWTH OF MICROBIAL FOOD CULTURES

Svetlana Schubertová, Zuzana Krepsová, Lívia Janotková, Marianna Potočňáková, František Kreps

Abstract: The aim of the article was to investigate the effect of sea buckthorn juice on the growth of microbial cultures in growth medium and juice mixtures. *Lactobacillus plantarum* CCM 7039, *Lactobacillus plantarum* K816, *Lactobacillus brevis* CCM 1815 and, to a lesser extent, the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG grew in growth medium containing 25 % addition of sea buckthorn juice. Moreover, we focused on finding the ratio of sea buckthorn and apple juice that would be suitable for the course of malolactic fermentation using *Lactobacillus plantarum* CCM 7039. The best results are offered using 40 % sea buckthorn juice. The practical application of the results leads to the development of new sea buckthorn juice processing methods.

Keywords: bacteria growth, malolactic fermentation, sea buckthorn juice

Úvod

Šťava rakytníka rešetliakového je zdrojom kyseliny askorbovej, fenolov, karotenoidov, tokoferolov, látok patriacich do skupiny vitamínov B a minerálov (Eccleston et al. 2002; Gutzeit et al., 2008; Hussain et al., 2014; Stobdan et al., 2010; Sytařová et al., 2020; Teleszko et al., 2015). Napriek nutričným benefitom, ktoré poskytuje, zostáva rakytníková šťava málo vyhľadávaným nápojom. Dôvodom je jej kyslosť a adstringencia (Ma et al., 2017; Tiitinen et al., 2005; Laaksonen et al., 2016), ktoré sú spôsobené hodnotou pH v rozmedzí 2.57–3.20, obsahom organických kyselín v množstve 18–54 mg/g, z čoho kyselina jablčná tvorí 8–40 mg/g a pomerom obsahu cukrov a kyselín, ktorý je pre väčšinu odrôd rakytníka menší než 1 (Ma et al., 2017; Markkinen et al., 2019; Zheng et al., 2012; Tkacz et al., 2020). Zvýšenie záujmu spotrebiteľov o rakytníkovú šťavu je možné podnietiť zlepšením jej organoleptických vlastností. Tento cieľ možno dosiahnuť prípravou fermentovaných výrobkov.

Rovnaké chemické parametre, ktoré spôsobujú menej atraktívny chuťovo-vonný profil rakytníkovvej šťavy, z nej zároveň robia prostredie vhodné pre priebeh jablčno-mliečnej fermentácie. Aplikácia jablčno-mliečnej fermentácie pri spracovaní ovocných štiav vedie k vylepšeniu sensorických vlastností (Chen et al., 2019; Di Cagno et al., 2011; Filannino et al., 2013; Hashemi et al., 2017; Muhialdin et al., 2020; Ricci et al., 2018; Wu et al., 2020), ale aj k zvýšeniu antioxidantnej aktivity (Di Cagno et al., 2011; Espirito-Santo et al., 2015; Filannino et al., 2013; Hashemi et al., 2017; Kwaw et al., 2018; Li et al., 2019; Mousavi et al., 2013; Wu et al., 2020; Tkacz et al., 2020), antibakteriálneho účinku (Filannino et al., 2013; Hashemi et al., 2017; Muhialdin et al., 2020), stálosti vitamínu C (Di Cagno et al., 2011; Hashemi et al., 2017) a predĺženej trvanlivosti (Muhialdin et al., 2020). Priebeh jablčno-mliečnej fermentácie bol zaznamenaný použitím *Lactobacillus plantarum* alebo *Oenococcus oeni* v čistej rakytníkovvej šťave, v zmesi rakytníkovvej šťavy a jablčnej šťavy a v zmesi rakytníkovvej šťavy a vody (Markkinen et al., 2019; Tiitinen et al., 2006; Tkacz et al., 2020).

Ďalším spôsobom utlmenia výraznej chuti rakytníkovvej šťavy je jej zakomponovanie do mliečnych výrobkov. Štúdií zameraných na viabilitu mliekarenských kultúr v prostredí rakytníkovvej šťavy bolo vykonaných len málo. Bol sledovaný pozitívny vplyv prídavku



rakytinových bobúľ na viabilitu *Lactobacillus casei* pri výrobe syra (Terpou et al., 2017) a mrazeného jogurtu (Terpou et al., 2019).

Ak chceme navrhnúť nové produkty, ktoré kombinujú nutričné vlastnosti rakytinovej šťavy a chuť fermentovaných produktov, je žiadúce otestovať vplyv rakytinovej šťavy na viabilitu mikroorganizmov, ktoré sa využívajú v procese ich výroby.

Materiál a metódy

Materiál: Použitá rakytinová a jablčná šťava boli zakúpené od spoločnosti Tvrdošovské zlato (Tvrdošovce, Slovenská republika). Rakytinová šťava bola pripravená z rakytinových bobúľ lisovaním, bez odcentrifugovania lipidického podielu. Šťavy boli v procese výroby pasterizované pri teplote 82 °C v prietokovom ohrievači po dobu 2–3 sekundy a následne plnené do plastového obalu za horúca (hot fill). Rakytinová šťava mala pH 2,8 a jablčná šťava mala pH 3,4.

Mikrobiálne kultúry: Sledovali sme rast 11 mikrobiálnych kultúr: *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 (CCM- česká kolekcia mikroorganizmov), *Lactobacillus plantarum* K816, *Lactobacillus acidophilus* LA, *Lactobacillus brevis* CCM 1815, *Lactobacillus reuteri* BioGaia, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Streptococcus thermophilus* TH3, jogurtová kultúra (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*), probiotická kultúra (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*), smotanová kultúra (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*) a kefirová kultúra (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus delbrueckii*, *Lactobacillus kefir*, kvasinky *Candida kefir* a *Kluyveromyces marxianus*). Sušené čisté mikrobiálne kultúry boli zakúpené od spoločnosti Christian Hansen (Dánsko) a sušené zmesné mikrobiálne kultúry od spoločnosti Milcom a.s. (Česká republika). Suspenzie mikroorganizmov využité pri experimente sme získali z nočných kultúr, ktoré boli po raste v MRS (MRS- De Man, Rogosa a Sharpe) bujónne odcentrifugované a dvakrát premyté fyziologickým roztokom.

Stanovenie rastu mikrobiálnych kultúr: Rast mikrobiálnych kultúr sme sledovali spektrofotometricky v roztokoch MRS bujónu (Merck, Nemecko) a rakytinovej šťavy o koncentrácii šťavy 0, 25, 50 a 100 %. Z dôvodu nepriehľadnosti rakytinovej šťavy sme ju pred prídavkom do MRS bujónu 10 minút centrifugovali a po oddelení fáz sme odobrali strednú, najčiršiu fázu. Naočkované roztoky boli inkubované v mikroplatničkovom readeri Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek (Slovenská republika) 24 hodín pri teplote 37 °C za aeróbnych podmienok. Meranie absorbancie v troch paralelkách prebehlo každú hodinu pri vlnovej dĺžke 600 nm po krátkom premiešaní platničky.

Rast *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 v zmesiach rakytinovej a jablčnej šťavy sme stanovili kultivačnou metódou. Zmesi šťav o koncentrácii rakytinovej šťavy 10 %, 20 %, 30 % a 40 % boli po inokulácii na MRS agar (Biolife Italiana, Taliansko) umiestnené do termostatu s teplotou 37 °C a aeróbnymi podmienkami. V 0., 10., 24., 48. a 72. hodine sme odobrali vzorky a očkovali ich na MRS agar. Po 48 hodinovej kultivácii v termostate sme vykonali rátanie kolóniu tvoriacich jednotiek.

Výsledky a diskusia

Stanovenie rastu v MRS bujónne s prídavkom rakytinovej šťavy: Sledovali sme rast 11 mikrobiálnych kultúr. Žiadna z nich nerástla v živnom médiu s obsahom rakytinovej šťavy o koncentrácii 50 a 100 %.

Lactobacillus plantarum CCM 7039 (Obr. 1. A), *Lactobacillus plantarum* K816 a *Lactobacillus brevis* CCM 1815 rástli v 25 % prídavku rakytinovej šťavy. *Lactobacillus*



plantarum K816 a *Lactobacillus brevis* CCM 1815 rástli dokonca lepšie v 25 % prídavku rakytníkovej šťavy ako v čistom MRS bujóne. Markkinen et al. (2019) a Tkacz et al. (2020) poukázali na rast *Lactobacillus plantarum* v 100 % rakytníkovej šťave, zatiaľ čo naše výsledky nepoukazujú na možnosť rastu *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 a *Lactobacillus plantarum* K816 v rakytníkovej šťave s koncentráciou 50 a 100 %. Dôvodom môže byť použitie šťavy získanej z bobúľ inej odrody rakytníka, použitie iného bakteriálneho kmeňa alebo rozdielny východiskový počet viabilných buniek mikroorganizmov.

Lactobacillus rhamnosus GG (Obr. 1. B) rástol v 25 % rakytníkovej šťave len slabo. Sheehan et al. (2007) označili vo svojej štúdii zameranej na možnosť prípravy probiotických ovocných nápojov *Lactobacillus rhamnosus* GG za dostatočne acidotolerantný na udržanie viability v šťave z pomaranča (hodnota pH 3,65) alebo ananásu (hodnota pH 3,40). Naše výsledky nepoukázali na rast *Lactobacillus rhamnosus* GG v 50 % a 100 % rakytníkovej šťave, ktorá je rovnako ako vyššie uvedené substráty charakteristická nízkym pH. Napriek slabému rastu *Lactobacillus rhamnosus* GG v prostredí s obsahom rakytníkovej šťavy je toto zistenie zaujímavé z dôvodu probiotického charakteru tohto bakteriálneho kmeňa (EFSA Panel on Dietetic Products and Journal, 2011). Kombinácia probiotika s výživnou rakytníkovou šťavou, ktorej zložky vykazujú prebiotické pôsobenie (Attri et al., 2018) a inhibujú rast patogénnych baktérií (Puupponen-Pimiä et al., 2005), by mohla umožniť prípravu nového produktu podporujúceho zdravie črevného traktu.

Iné než tieto štyri bakteriálne kultúry nevykázali rast v živnom médiu s prídavkom rakytníkovej šťavy. Bolo by prospešné nájsť podmienky, ktoré umožnia kombináciu rakytníkovej šťavy a jogurtovej kultúry, ktorá je rozšírenou mliekarenskou kultúrou a ktorej konzumácia napomáha tráveniu laktózy (EFSA Panel on Dietetic Products and Journal, 2010).

Mousavi et al. (2013) zaznamenali pri 72-hodinovom sledovaní fermentácie šťavy z granátovníka (pH 3,09) udržanie viability baktérie *Lactobacillus acidophilus*. Naše výsledky nepoukazujú na rast *Lactobacillus acidophilus* LA v živnom médiu s prídavkom rakytníkovej šťavy, ktorá je obdobne kyslá. Dôvodom však môže byť pomerne dlhá lag fáza *Lactobacillus acidophilus* sledovaná v spomínanej publikácii, ktorá v našom 24-hodinovom experimente nemusela dobehnúť do konca. *Lactobacillus acidophilus* by tak potenciálne po predĺžení času fermentácie mohol byť ďalšou probiotickou baktériou vhodnou pre kombináciu s rakytníkovou šťavou.

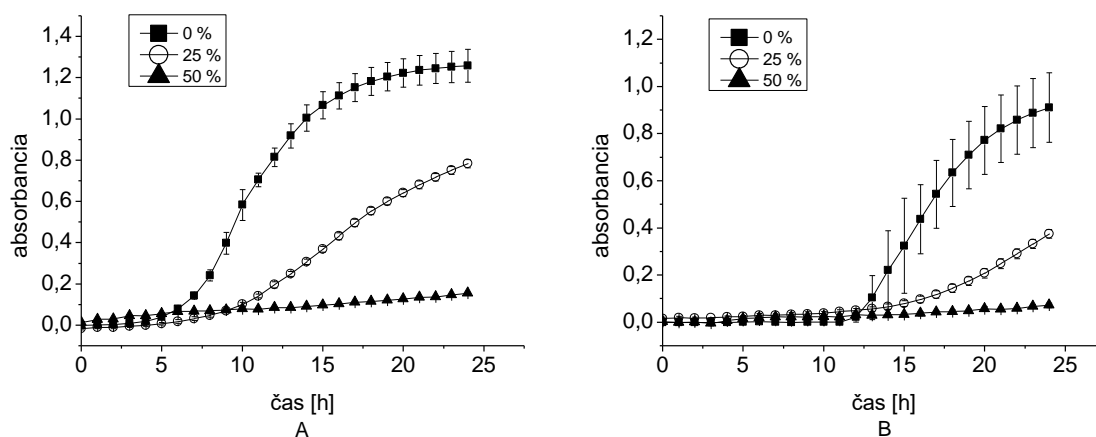
V štúdii zameranej na vývoj potravinovej matrice obohatenej probiotikami bola viabilita probiotických kmeňov *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus acidophilus* v rakytníkovej šťave zabezpečená úpravou pH šťavy na hodnotu 4,5 a prídavkom sladu. Použitie rakytníkovej šťavy viedlo k posilneniu antipatogénneho účinku baktérií, najmä v prípade *Lactobacillus rhamnosus* GG (Sireswar et al., 2017b). Druhou možnosťou tvorby probiotického nápoja obsahujúceho *Lactobacillus rhamnosus* GG je suplementácia rakytníkovej šťavy srvátkovým proteínom, citrátom trisodným a dextrózou (Sireswar et al., 2017a).

Stanovenie rastu v zmesiach rakytníkovej a jablčnej šťavy: Výskumy zamerané na fermentáciu ovocných štiav poukazujú na mnohé výhody takto spracovaných produktov. V prezentovanej práci sme stanovovali, v akom pomere je najvhodnejšie miešať rakytníkovú a jablčnú šťavu, ak chceme zabezpečiť priebeh jablčno-mliečnej fermentácie využitím kultúry *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 (Obr. 2.). Tento mikrobiálny kmeň sme zvolili z dôvodu jeho najlepšieho rastu v živnom médiu s prídavkom rakytníkovej šťavy. Kvôli slabému rastu *Lactobacillus plantarum* v MRS bujóne s 50 % prídavkom rakytníkovej šťavy (Obr. 1. A) sme zvolili nižšie koncentrácie šťavy. Po 72 hodinách kultivácie došlo v každej zo štyroch zmesí k poklesu počtu kolóniu tvoriacich jednotiek o 4,6 až 5,4 logaritmickeho poriadku. Tkacz et al. (2020) počas sledovania rastu *Lactobacillus plantarum* v zmesi rakytníkovej a jablčnej šťavy



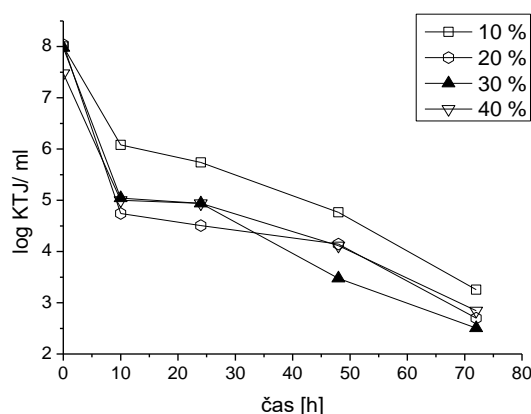
v pomere 1:1 zaznamenali priebeh jablčno-mliečnej fermentácie po dobu 72 hodín. Naše výsledky ukázali, že počet kolónií tvoriacich jednotiek v jednotlivých časoch nebol výrazne závislý od koncentrácie rakytníkovej šťavy. Znamená to, že použitie čo najvyššej koncentrácie rakytníkovej šťavy zo sledovaných (40 %) nepredstavuje z pohľadu fermentácie problém. Viaceré štúdie poukazujú na to, že jablčno-mliečna fermentácia prebieha o to lepšie, o čo kyslejší je substrát (Cirlini et al., 2020, Filannino et al., 2014, Miller et al., 2011). Zvolenie 40 % rakytníkovej šťavy by teda mohlo priniesť intenzívnejšiu zmenu senzorických charakteristík, či iných funkčných vlastností, než zvolenie menej kyslej zmesi s menšou koncentráciou rakytníkovej šťavy.

Obrázok 1 Rast A) *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 a B) *Lactobacillus rhamnosus* GG v MRS bujóne s 0 %, 25 % a 50 % prídavkom rakytníkovej šťavy.



Poznámka: Rast baktérií v 100 % rakytníkovej šťave nie je zobrazený z dôvodu jeho úplnej inhibície.

Obrázok 2 Rast *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 v zmesiach rakytníkovej a jablčnej šťavy s 10 %, 20 %, 30 % a 40 % prídavkom rakytníkovej šťavy.



Poznámka: KTJ- kolónií tvoriaca jednotka

Záver

Sledovali sme rast 11 mikrobiálnych kultúr v živnom médiu obsahujúcom prídavok rakytníkovej šťavy. Za mikroorganizmy spôsobilé na kombináciu s rakytníkovou šťavou o koncentrácií 25 % sme označili baktérie *Lactobacillus plantarum* CCM 7039, *Lactobacillus plantarum* K816 a *Lactobacillus brevis* CCM 1815. *Lactobacillus rhamnosus* GG rástol v tomto prostredí len slabo, avšak uvedený výsledok poukazuje na možnosť vytvorenia probiotického výrobku s obsahom rakytníkovej šťavy. Žiadna zo sledovaných mikrobiálnych



kultúr nerástla v rakytníkovej šťave o koncentrácií 50 % a 100 %.

Ďalej sme skúmali možnosť priebehu jablčno-mliečnej fermentácie v zmesi rakytníkovej a jablčnej šťavy s využitím baktérie *Lactobacillus plantarum* CCM 7039. Nezaznamenali sme signifikantne rozdielnu viabilitu *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 v zmesiach s prídavkom rakytníkovej šťavy od 10 % do 40 %. Došli sme k záveru, že spomedzi skúmaných zmesí je vhodné zvoliť pre fermentáciu zmes s najvyšším obsahom rakytníkovej šťavy.

Výskum spracovania rakytníkovej šťavy s využitím mikroorganizmov poukazuje na možnosti prípravy nových výrobkov s vylepšenými senzorickými vlastnosťami a pozitívnym vplyvom na ľudské zdravie.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmlúv č. APVV-16-0088 „Komplexné využitie rastlinnej biomasy v biopotravínach s pridanou hodnotou“ a APVV-17-0212 „Bioaktívne látky rakytníka rešetliakového a ich uplatnenie vo funkčných potravinách“. Práca bola tiež podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe zmluvy Vega 1/0012/19 „Štúdium získavania zdraviu prospešných látok z rastlinnej biomasy a ich implementácia do potravín“.

Literatúra

1. ATTRI, S., SHARMA, K., RAIGOND, P. & GOEL, G. 2018. Colonic fermentation of polyphenolics from Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries: Assessment of effects on microbial diversity by Principal Component Analysis. *Food Research International*, 105, 324-332.
2. CIRLINI, M., RICCI, A., GALAVERNA, G. & LAZZI, C. 2020. Application of lactic acid fermentation to elderberry juice: Changes in acidic and glucidic fractions. *LWT*, 118, 108779.
3. DI CAGNO, R., MINERVINI, G., RIZZELLO, C. G., DE ANGELIS, M. & GOBBETTI, M. 2011. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food microbiology*, 28, 1062-1071.
4. ECCLESTON, C., BAORU, Y., TAHVONEN, R., KALLIO, H., RIMBACH, G. H. & MINIHANE, A. M. 2002. Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 346-354.
5. EFSA PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, N. & JOURNAL, A. J. E. 2010. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion (ID 1143, 2976) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. 8, 1763.
6. EFSA PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, N. & JOURNAL, A. J. E. 2011. Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to *Lactobacillus rhamnosus* GG and maintenance of defence against pathogenic gastrointestinal microorganisms pursuant to Article 13 (5) of Regulation (EC) No 1924/2006. 9, 2167.
7. ESPIRITO-SANTO, A. P., CARLIN, F. & RENARD, C. M. 2015. Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth?—A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics. *Food Research International*, 78, 352-360.
8. FILANNINO, P., AZZI, L., CAVOSKI, I., VINCENTINI, O., RIZZELLO, C. G., GOBBETTI, M. & DI CAGNO, R. 2013. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *International journal of food microbiology*, 163, 184-192.
9. FILANNINO, P., CARDINALI, G., RIZZELLO, C. G., BUCHIN, S., DE ANGELIS, M., GOBBETTI, M. & DI CAGNO, R. 2014. Metabolic responses of *Lactobacillus plantarum* strains during fermentation and storage of vegetable and fruit juices. *Applied and environmental microbiology*, 80, 2206-2215.
10. GUTZEIT, D., WINTERHALTER, P. & JERZ, G. 2008. Nutritional assessment of processing effects on major and trace element content in sea buckthorn juice (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*). *Journal of food science*, 73, H97-H102.
11. HASHEMI, S. M. B., KHANEGHAH, A. M., BARBA, F. J., NEMATI, Z., SHOKOFTI, S. S. & ALIZADEH, F. 2017. Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods*, 38, 409-414.
12. HUSSAIN, M., ALI, S., AWAN, S., HUSSAIN, M. & HUSSAIN, I. 2014. Analysis of minerals and vitamins in sea buckthorn (*hippophae rhamnoids*) pulp collected from ghizer and skardu districts of gilgit-baltistan. *Int. J. Biosci*, 4, 144-152.
13. CHEN, C., LU, Y., YU, H., CHEN, Z. & TIAN, H. 2019. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. *Food Bioscience*, 27, 30-36.



14. KAWA, E., MA, Y., TCHABO, W., APALIYA, M. T., WU, M., SACKEY, A. S., XIAO, L. & TAHIR, H. E. 2018. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food chemistry*, 250, 148-154.
15. LAAKSONEN, O., KNAAPILA, A., NIVA, T., DEEGAN, K. C. & SANDELL, M. 2016. Sensory properties and consumer characteristics contributing to liking of berries. *Food quality and preference*, 53, 117-126.
16. LI, Z., TENG, J., LYU, Y., HU, X., ZHAO, Y. & WANG, M. 2019. Enhanced antioxidant activity for apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Molecules*, 24, 51.
17. MA, X., YANG, W., LAAKSONEN, O., NYLANDER, M., KALLIO, H. & YANG, B. 2017. Role of flavonols and proanthocyanidins in the sensory quality of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65, 9871-9879.
18. MARKKINEN, N., LAAKSONEN, O., NAHKU, R., KULDJÄRV, R. & YANG, B. 2019. Impact of lactic acid fermentation on acids, sugars, and phenolic compounds in black chokeberry and sea buckthorn juices. *Food chemistry*, 286, 204-215.
19. MILLER, B. J., FRANZ, C. M., CHO, G.-S. & DU TOIT, M. 2011. Expression of the malolactic enzyme gene (mle) from *Lactobacillus plantarum* under winemaking conditions. *Current microbiology*, 62, 1682.
20. MOUSAVI, Z. E., MOUSAVI, S. M., RAZAVI, S. H., HADINEJAD, M., EMAM-DJOMEH, Z. & MIRZAPOUR, M. 2013. Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. *Food Biotechnology*, 27, 1-13.
21. MUHIALDIN, B. J., KADUM, H., ZAREI, M. & HUSSIN, A. S. M. 2020. Effects of metabolite changes during lacto-fermentation on the biological activity and consumer acceptability for dragon fruit juice. *LWT*, 121, 108992.
22. PUUPPONEN-PIMIÄ, R., NOHYNEK, L., HARTMANN-SCHMIDLIN, S., KÄHKÖNEN, M., HEINONEN, M., MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K. & OKSMAN-CALDENTEY, K. M. J. J. O. A. M. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. 98, 991-1000.
23. RICCI, A., CIRLINI, M., LEVANTE, A., DALL'ASTA, C., GALAVERNA, G. & LAZZI, C. 2018. Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International*, 105, 412-422.
24. SHEEHAN, V. M., ROSS, P., FITZGERALD, G. F. J. I. F. S. & TECHNOLOGIES, E. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. 8, 279-284.
25. SIRESWAR, S., DEY, G., DEY, K. & KUNDU, A. J. B. 2017a. Evaluation of probiotic *L. rhamnosus* GG as a protective culture in sea buckthorn-based beverage. 3, 48.
26. SIRESWAR, S., DEY, G., SREESOUNDARYA, T. & SARKAR, D. J. F. B. 2017b. Design of probiotic-fortified food matrices influence their antipathogenic potential. 20, 28-35.
27. STOB DAN, T., CHAURASIA, O. P., KOREKAR, G., YADAV, A. & SINGH, S. B. 2010. Attributes of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) to Meet Nutritional Requirements in High Altitude. *Defence Science Journal*, 60, 226.
28. SYTAŘOVÁ, I., ORSAVOVÁ, J., SNOPEK, L., MLČEK, J., BYCZYŃSKI, Ł. & MIŠURCOVÁ, L. 2020. Impact of phenolic compounds and vitamins C and E on antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries and leaves of diverse ripening times. *Food chemistry*, 310, 125784.
29. TELESZKO, M., WOJDYŁO, A., RUDZIŃSKA, M., OSZMIANŃSKI, J. & GOLIS, T. 2015. Analysis of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds content in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 4120-4129.
30. TERPOU, A., GIALLELI, A.-I., BOSNEA, L., KANELLAKI, M., KOUTINAS, A. A. & CASTRO, G. R. 2017. Novel cheese production by incorporation of sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L.) supported probiotic cells. *LWT-Food science and Technology*, 79, 616-624.
31. TERPOU, A., PAPADAKI, A., BOSNEA, L., KANELLAKI, M. & KOPSAHELIS, N. 2019. Novel frozen yogurt production fortified with sea buckthorn berries and probiotics. *LWT*, 105, 242-249.
32. TIITINEN, K., VAHVASELKÄ, M., HAKALA, M., LAAKSO, S. & KALLIO, H. 2006. Malolactic fermentation in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) juice processing. *European Food Research and Technology*, 222, 686-691.
33. TIITINEN, K. M., HAKALA, M. A. & KALLIO, H. P. 2005. Quality components of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1692-1699.
34. TKACZ, K., CHMIELEWSKA, J., TURKIEWICZ, I. P., NOWICKA, P. & WOJDYŁO, A. 2020. Dynamics of changes in organic acids, sugars and phenolic compounds and antioxidant activity of sea buckthorn and sea buckthorn-apple juices during malolactic fermentation. *Food Chemistry*, 332, 127382.



35. WU, C., LI, T., QI, J., JIANG, T., XU, H. & LEI, H. 2020. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice. *LWT*, 122, 109064.
36. ZHENG, J., YANG, B., TRÉPANIÉ, M. & KALLIO, H. 2012. Effects of genotype, latitude, and weather conditions on the composition of sugars, sugar alcohols, fruit acids, and ascorbic acid in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* ssp. *mongolica*) berry juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 3180-3189.

Kontaktné adresy: Ing. Svetlana Schubertová, Ing. Zuzana Krepsová, PhD., Ing. Lívia Janotková, Ing. Marianna Potočnáková, doc. Ing. František Kreps, PhD., Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Slovensko. E-mail: svetlana.schubertova@stuba.sk, zuzana.krepsova@stuba.sk, livia.janotkova@stuba.sk, marianna.potocnakova@stuba.sk, frantisek.kreps@stuba.sk



DUSITANY V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH A ICH ÚČINKY NITRITES IN MEAT PRODUCTS AND THEIR EFFECTS

Ladislav Staruch, Paula Šoucová

Abstract: The use of nitrites in meat products has a long tradition. The main reasons for their use are safety and colour of the products. In the past they have been attributed to negative effects on human health, such as association with colon cancer. However they are considered safe to use in limited concentrations. Methemoglobinemia is a condition closely related to nitrites that induce it. However, nowadays the opinion on nitrites are changing mainly because of the positive effects related to NO. In a way, this is related to the discovery of NO signaling properties, discovered by scientists Robert F. Furchgott, Louis N. Igarra and Ferida Murada who won the 1998 nobel prize for this discovery. Several studies today link the positive effects of nitrites to lowering the risk of stroke, hypercholesterolemia, chronic tissue ischemia and cerebral vasospasm.

Keywords: nitrites, NO, *Clostridium*, botulinumtoxin, myoglobin, methemoglobinemia, stroke, hypercholesterolaemia

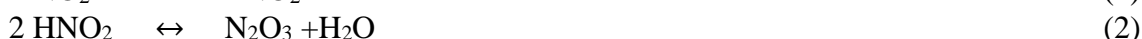
Úvod

Dusičnany a dusitany sa zvyčajne pridávajú do mäsových výrobkov aby poskytovali ochranu voči mikroorganizmom ako *Clostridium botulinum*, ktoré spôsobujú ich toxicitu (Siu, 1998). Použitie dusitanov a dusičnanov vo výrobe mäsových výrobkov sa vo všeobecnosti označuje ako konzervovanie (curing). Dusitan a dusičnan sú prirodzene sa vyskytujúcimi látky v zelenine a tiež sa pridávajú k ošetrovaným a spracovaným mäsom, aby sa oneskoril rast nežiaducich a patogénnych baktérií. Výskum za posledných 15 rokov viedol k zmene paradigmy v našich predstavách o zdravotných účinkoch dusitanov aj dusičnanov. V minulosti sa im pripisovali negatívne vlastnosti, uvádzali sa ako potenciálne ľudské karcinogény. Ich škodlivé účinky sa spájali s rakovinou hrubého čreva a konečníka (Gómez, 2019). Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) odporučila hornú hranicu dennej koncentrácie dusičnanov a dusitanov na 3,7 mg/kg telesnej hmotnosti, respektíve 0,06 – 0,07 mg/kg telesnej hmotnosti (Ma, 2018). Dusitany sú toxickejšie pre človeka ako dusičnany, udáva sa, že 10x viac toxickejšie. Smrtiaca orálne podaná dávka bola u ľudí stanovená na 80-800 mg dusičnanu na kilogram telesnej hmotnosti a 33 – 250 mg dusitanu na kilogram telesnej hmotnosti (Honikel, 2018). V súčasnej dobe sa medzi ich priaznivé vlastnosti zaradil ich terapeutický potenciál pri prevencii cerebrovaskulárnych príhod, infarktu myokardu, hypertenzie alebo žalúdočných vredov. Výskumy poukazujú na to, že dusičnany a dusitany v strave majú pozitívne zdravotné atribúty spojené s metabolizmom oxidu dusnatého, ktorý nie je doposiaľ úplne objasnený (Gómez, 2019). Chemické procesy dusitanov v konzervovanom mäse sú mimoriadne zložitým dejom interaktívnych chemických reakcií zahŕňajúcich niekoľko rôznych reaktantov. Dusitan je vysoko reaktívna zlúčenina, ktorá môže fungovať ako oxidačné, redukčné alebo nitrozylačné činidlo a v mäse sa môže premeniť na množstvo príbuzných zlúčenín vrátane kyseliny dusitej, oxidu dusnatého a dusičnanov. Je zrejmé, že tvorba oxidu dusnatého (NO) z dusitanov je nevyhnutným predpokladom pre väčšinu reakcií na ošetrovanie mäsa. Našťastie sa základný výskum oxidu dusnatého stal jednou z najaktívnejších výskumných oblastí v biológii, pretože sa zistilo, že oxid dusnatý zohráva v živých organizmoch rozhodujúcu úlohu pri niekoľkých fyziologických funkciách. Základný výskum oxidu dusnatého v biologických systémoch od začiatku 90. rokov umožnil lepšie pochopenie dusitanov a oxidu dusnatého v konzervovanom mäse. Dusitan nepôsobí priamo ako nitrozylačné činidlo (prenos oxidu dusnatého) v mäse, ale



najprv vytvára medziprodukty, ako je N_2O_3 , v mierne kyslých podmienkach typických pre postmortálny sval, a NOCl v prítomnosti soli (Sebranek, 2007).

História: Konzervovanie začalo už v staroveku za účelom ochrany rýb a mäsa pred pokazením. Ako konzervant sa používala predovšetkým soľ, ktorá znižovala aktivitu vody a tým inhibovala rast mikroorganizmov. V dávnych dobách sa soľ získavala z kryštalických ložísk ťažbou priamo zo zeme alebo odparovaním morskej vody. V dôsledku toho často obsahovala prírodné kontaminanty, ako je dusičnan sodný alebo draselný, ktoré priamo prispievali ku konzervácii. Solenie ako prostriedok na konzervovanie mäsa sa prvýkrát praktizovalo v púšťach Ázie. Soľné soli z tejto oblasti obsahovali nečistoty, ako sú dusičnany, ktoré prispeli k charakteristickej červenej farbe konzervovaného mäsa. V historických záznamoch sa uvádza, že už okolo roku 1600 p.n.l. bola používaná soľ z oblasti mŕtveho mora ako konzervačná látka. Okolo roku 1200 p.n.l. Feničania obchodovali so solenými rybami v regióne východného Stredomoria. Následne v roku 900 p.n.l. v Grécku vznikli soľné „záhrady“ kde sa zaviedlo solenie, sušenie, a údenie mäsa. Rimania v roku 200 p.n.l. vylepšili techniky Grékov a začali „marinovať“ mäso soľankou. V tomto období bol zaznamenaný efekt sčervenania spôsobený soliacou zmesou. Soliaca zmes bola spomínaná v Číne a Indii ešte pred Kristom ako prípravok na konzervovanie mäsa (Keeton, 2011). Už v 14. storočí sa zaviedlo nakladanie mäsa so soľného láku s prídavkom dusičnanu (Online zdroj 1). O soliacej zmesi (KNO_3) sa zistilo, že má konzervačný účinok a dokonca poskytuje červenú farbu výrobku. Dusitaný boli v konzervačnej zmesi prvýkrát objavené v roku 1891, vedcom menom Polenske. Dospel k záveru, že dusitan je výsledkom bakteriálnej redukcie dusičnanu pridaného do konzervačného „nálevu - láku“. V roku 1899 Lehman a Kisskalt preukázali, že vývoj farby v konzervovanom mäse bol v skutočnosti spôsobený prítomnosťou dusitanov a nie dusičnanov (Pierson, 1983). Od roku 1930 sa začali dusitaný používať do mäsových výrobkov aj na našom území. Dusitanová soliaca zmes je od toho času predávaná pod obchodným názvom Pragma (Online zdroj 1). Pochopenie úplného procesu farbenia nastalo až v 20. storočí. Prebiehajú v ňom nasledovné reakcie (Honikel, 2008):



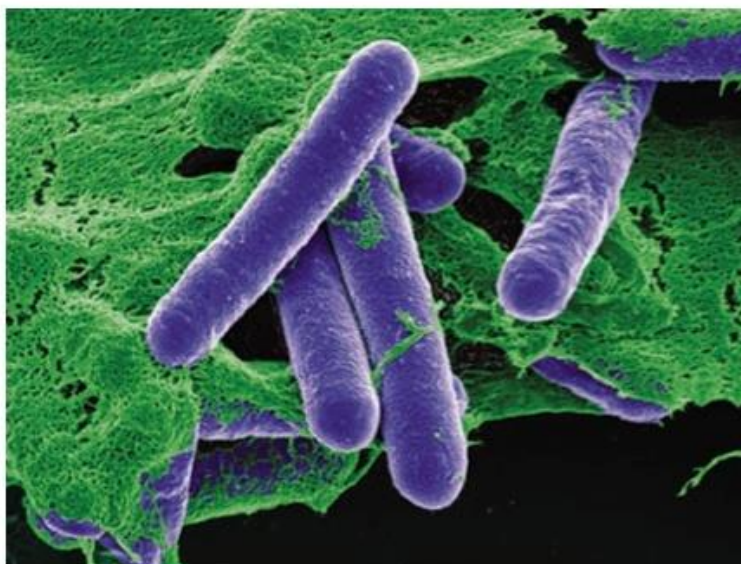
Konzervovaním mäsa sa dnes rozumie pridanie soli, dusitanu a príležitostne dusičnanu do mäsových výrobkov. Ďalšie prísady konzervačnej zmesi sú voda, chlorid draselný, askorbát sodný (alebo jeho izomér erytorbát), sladidlá (sacharóza, glukóza, med), alkalické fosfáty, kyselina mliečna, kyselina citrónová, atď. Niektoré z týchto zložiek sa historicky používali na dodávanie arómy, funkčných vlastností a texturálnych charakteristík konzervovaným mäsám (Keeton, 2011).

Mikrobiologické hľadisko: Klostrídie sú spórotvorné gram pozitívne, katalázo negatívne, mezofilné paličky. Baktérie z rodu *Clostridium* produkujú toxíny, ktoré sú pre človeka patogénne. Jedná sa hlavne o rody: *Clostridium tetani* (tetanus), *Clostridium welchii* (gangréna), *Clostridium perfringens* (intoxikácie potravinami) a *C. botulinum* (botulizmus). Najnebezpečnejšie je *C. botulinum*, ktoré produkuje botulotoxín. Pôsobí tak, že inhibuje uvoľňovanie acetylcholínu na myoneurálnych spojoch a mení aktivitu svalových vlákien. 18 až 30 hodín po požití vytvoreného toxínu v nesprávne konzervovaných potravinách spôsobí u ľudí postupnú paralýzu až smrť v dôsledku respiračného poškodenia (Benedict, 1980). Prvé príznaky sa môžu objaviť už do 5 hodín po požití kontaminovanej potraviny. Medzi úvodné príznaky patrí malátnosť, zvracanie, bolesti brucha, závrat a neskôr sa objavia príznaky



nervového pôvodu ako dvojité videnie, rozšírenie zrenice oka, suchosť v ústach, chrapľavý hlas, ťažkosti pri prehltaní, poruchy dýchania, zastavenie črevnej peristaltiky (Online zdroj 2). Za určitých podmienok *Clostridium botulinum* tvorí spóry, ktoré sú odolnejšie voči teplu, a germicídnejmu žiareniu v porovnaní s vegetatívnymi bunkami. Vegetatívne bunky sa ničia zahriatím na 60 °C s výdržou niekoľko sekúnd, zatiaľ čo vyššia teplota (80 °C) a dlhší čas (60 minút) často zvyšujú klíčivosť spór (Benedict, 1980).

Obrázok 1 *Clostridium botulinum*



Zdroj: (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:SEM_Clostridium_Botulinum.png)

Botulotoxín je najsilnejším toxínom na svete. Letálna dávka je menej ako 1 µg. Presnejšie sa uvádza, že 30 ng/kg je toxická dávka. Takže na zabitie celej ľudskej populácie by nám stačilo 400 g toxínu. Botulotoxín môže byť produkovaný aj inými rodmi ako *C. botulinum*, presnejšie ide o rody *C. butyricum* a *C. baratii* (Online zdroj 3).

Eliminácia výskytu klostridií: Metabolizmus a rast mikroorganizmov v každom prostredí závisí od 3 skupín faktorov:

- endogénnych
- exogénnych (teplota, relatívna vlhkosť vzduchu)
- implicitných (mikrobiálne interakcie).

Výber rôznych prísad, aditív, technologických variantov týkajúcich sa výberu suroviny, obalových materiálov, veľkosti častíc taktiež exogénne faktory, medzi ktoré patrí kontrola klimatických podmienok prispievajú k tomu aby sa získali bezpečné mäsové výrobky (Hammes, 2012).

Medzi základné aditíva mäsových výrobkov patrí NaCl, dusitaný a dusičnaný. NaCl reaguje s dusitanmi a vzniká NOCl a je tým urýchlená tvorba nitrozomyoglobínu. Dusičnaný používané pri výrobe mäsových výrobkov sú: dusičnan draselný (E 251), dusičnan sodný (E 252) (Hammes, 2012).

Ďalšími dôležitými faktormi sú ale aj koncentrácia solí, inkubačná teplota, tepelné ošetrenie, atmosféra a pH (Benedict, 1980).



Použitie dusičnanov/dusitanov je stále predmetom diskusie, pretože priaznivé účinky sú v protiklade so zdravotnými rizikami. Používanie týchto činidiel v EÚ upravuje: Smernica 2006/52/ES a reguluje používanie dusičnanov a dusitanov za týchto podmienok:

Dusičnan (E 251 dusičnan draselný; E 252 dusičnan sodný) je povolený:

- na ošetrovanie tepelne neopracovaných mäsových výrobkov (zvyčajne povolený pri koncentrácii 150 mg/kg a pre určité špecifikované tradičné výrobky pri 300 mg/kg, pre niektoré iné pri 250 mg/kg).

E 249, dusitan draselný je vo všeobecnosti povolený v mäsových výrobkoch o koncentrácii 150 mg/kg. E 250, dusitan sodný, v dávke 100 mg/kg je povolený v sterilizovaných mäsových výrobkoch ($F_0 > 3,00$, čo zodpovedá zahrievaniu počas 3 minút pri teplote 121 °C), ako aj v určených tradičných mäsových výrobkoch. V prípade ďalších špecifikovaných tradičných mäsových výrobkov je povolená koncentrácia 180 mg/kg.

Podľa nariadenia (ES) č. 780/2006 sa používanie dusičnanov/dusitanov v mäsových výrobkoch povoľuje za týchto podmienok:

- NaNO_2 sa môže aplikovať pri vstupnej koncentrácii 80 mg/kg a koncentrácia sa musí znížiť na 50 mg/kg.
- Použitie KNO_3 je povolený v rovnakých koncentráciách, ktoré musia byť vyjadrené ako NaNO_3 .

Pre porovnanie podľa MZd SR č. 247/2017 Z. z limitná koncentrácia dusičnanov v pitnej vode je 50 mg/l a pre dusitany 0,5 mg/l.

Letálna dávka podaná orálne pre človeka je v prípade dusičnanu 80 – 800 mg/kg telesnej hmotnosti a pre dusitan 33 – 250 mg/kg telesnej hmotnosti (Honikel, 2008).

Fixácia farby: Fixácia pigmentu zahŕňa metabolický artefakt dusičnanu, dusitanu a oxidu dusitého reagujúci s myoglobínom, sarkoplazmatickým hemovým proteínom. Aj keď sa hemoglobín tiež podieľa na tvorbe pigmentu, väčšina sa po vykrvovaní odstráni. Aby sa vytvoril požadovaný pigment (pigmenty) bežne spojený s tepelne upravenými mäsovými výrobkami, dusitan reaguje s myoglobínom za vzniku červeného nitrozylmyoglobínu. Akonáhle je do systému zavedené dostatočné teplo, proteínová globínová časť myoglobínu je denaturovaná a stráca svoju natívnu konformáciu, zatiaľ čo červený kruhový systém oxidu dusnatého, porfyrín pretrváva. Výsledkom tohto denaturačného procesu je charakteristická ružová farba, nitrozylhemochróm, ktorý je citlivý na svetlo aj na kyslík (Rivera, 2019). V súčasnosti sa začínajú používať na farbenie mäsových produktov farbivá rastlinného pôvodu. Mäso ošetrované alternatívnym spôsobom často obsahuje menšie množstvo dusičnanov, dusitanov, čo môže viesť k zníženej farebnej stálosti a zníženej trvanlivosti. Mäso ošetrované alternatívnym spôsobom sa spolieha na prírodné zdroje dusičnanov a dusitanov, ktoré pochádzajú predovšetkým z rastlinných zdrojov. Tieto prírodné zdroje môžu mať za následok rastlinné príchute; preto spracovatelia často znižujú relatívnu vstupnú hladinu dusitanov. Toto zníženie môže potenciálne viesť k zníženej farebnej stálosti a negatívne ovplyvniť trvanlivosť produktu (Cropp, 2018).

Myoglobín, nitrozylmyoglobín: Dusitany sú kľúčovou zložkou pri ošetrovaní mäsových produktov. Poskytujú žiadanú ružovú farbu, inhibujú nežiadúce baktérie, spomaľujú oxidáciu lipidov a taktiež podporujú vznik požadovanej chuti (Li, 2016). Červená farba konzervovaných mäsových výrobkov je jedným z dôležitých účinkov dusitanov v mäsových výrobkoch. Červená farba sa vyvíja v mnohých komplikovaných reakčných krokoch, kým sa nevytvorí NO-myoglobín (Fe^{2+}). Myoglobín existuje vo svaloch v troch stavoch, v ktorých kofaktorový hem, porfyrínový kruh s iónom železa vo svojom strede viaže rôzne ligandy alebo v ktorom železo existuje v stave Fe^{2+} alebo Fe^{3+} . V natívnom myoglobíne je porfyrínová skupina podporovaná vo väzbe ligandu aminokyselinami proteínu v susedstve. V „pôvodnom“ stave myoglobín s Fe^{2+} v porfyrínovom kofaktore neviaže žiaden ligand, iba molekulu vody. V prítomnosti kyslíka

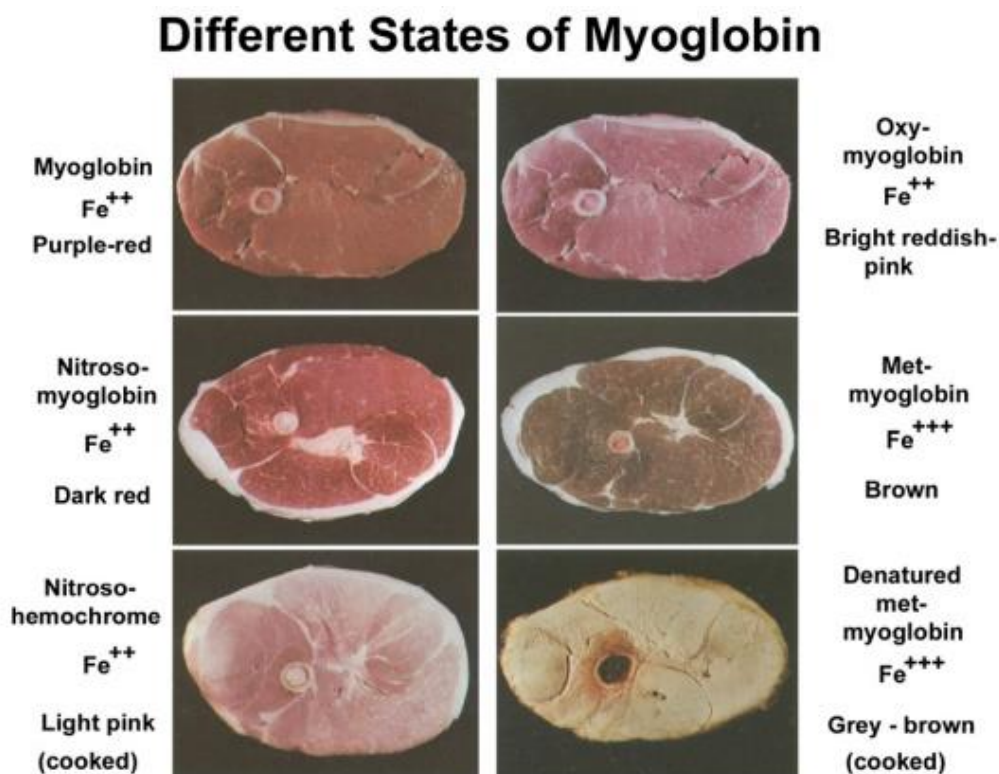


môže myoglobín viazať molekulu O_2 a stáva sa jasne červenou. Železný ión je v stave Fe^{2+} . Ale kyslík a iné oxidujúce činidlá ako dusitan môžu oxidovať Fe^{2+} na Fe^{3+} . Vytvorený metmyoglobín (MetMb) je hnedý. „Originálny“ myoglobín (Mb), oximyoglobín (MbO_2) a metmyoglobín sa vyskytujú spoločne v mäse. Tieto tri stavy myoglobínu majú tri charakteristiky absorbančného spektra medzi 400 a 700 nm. Nitrozomyoglobín má spektrum, ktoré má podobnú maximálnu vlnovú dĺžku ako oximyoglobín (Honikel, 2008).

Tvorba NO z medziproduktov je uľahčená redukčnými činidlami, ako je napríklad askorbát, a NO bude reagovať so železom myoglobínu (Fe^{2+}) a metmyoglobínu (Fe^{3+}) za vzniku konzervovaných mäsových pigmentov a typickej farby (Sebranek, 2007).

Prirodzene sa vyskytujúci myoglobín reaguje so zlúčeninami odvodenými od dusitanov alebo dusičnanov a vytvára nitrozymyoglobín, ktorý je jasne červenej farby, a na centrálné hemové železo sa koordinuje axiálny ligand NO. NO pochádzajúci z kyseliny dusitej sa môže viazať na myoglobín (Fe^{2+}), čím sa vytvára NO-Mb, ktorý po zahriatí poskytne ružový nitrozohemochróm, pričom NO-porfyrínový kruh je neporušený, ale za tepla sa denaturuje časť globínového proteínu v molekule. V neprítomnosti askorbátu sa dusitanový ión môže viazať na myoglobín za vzniku hnedého NO-MetMb. Za anaeróbnych podmienok sa NOMetMb môže pomaly redukovať na červený NO-Mb a potom počas varenia premeniť na ružový NO-hemochróm. Ak je ošetrované mäso vystavené svetlu a kyslíku, tepelne stabilná ružová farba sa v dôsledku oxidácie zmení na hnedú (zobrazené na obrázku 2). Ph surového mäsa je 5,4 – 6,3 a v tomto rozmedzí pH sú dusitan a dusičnan vo vodných roztokoch vysoko rozpustné. V prítomnosti kyslíka sa NO oxiduje späť na dusitan (NO_2^-) alebo dusičnan (NO_3^-) (Parthasarathy, 2012).

Obrázok 2 Rôzne štádia myoglobínu



Zdroj: Parthasarathy (2012)

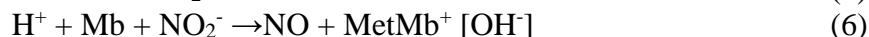
Ako vzniká NO: Tvorba oxidu dusnatého v mäse: Zrenie mäsa je najlepšie badateľné podľa zmien farby, pretože čerstvé červené mäso na začiatku zhnedne a následne opäť červenie po



pridaní dusitanov a solí, prípadne tiež spolu s ďalšími prísadami na zrenie, ako je napríklad askorbát. Zlepšená oxidačná stabilita konzervovaného mäsa sa týka transformácie mäsových pigmentov, čoho dôkazom sú zmeny farby (Skibsted, 2011).

Reakciou dusitanov s hémovými farbivami dôjde k zabráneniu oxidácie atómu železa v heme. Ide o veľký komplex reakcií, ktorý vedie k vytvoreniu stabilnej červenoružovej, alebo ružovej farby mäsového výrobku. Zjednodušene sa dá zapísať nasledovne:

Redukcia dusitanu v kyslom prostredí – pomocou redukčného činidla, ktorým je myoglobín



Vzniknutý oxid dusnatý reaguje s ďalšou molekulou myoglobínu za vzniku nitroxymyoglobínu

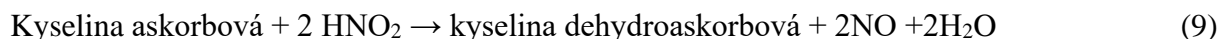


Pri tepelnom opracovaní, alebo okyslením dochádza k odtrhnutiu globínu od nitroxyhému, pričom sa na uvoľnené 5. koordinačné miesto hému viaže ďalšia molekula NO, čím sa vytvára nitroxyhemochróm (Pipek, 1994).

Dusitan pridaný do mäsa sa primárne správa ako oxidant: obzvlášť pri nízkom pH



Endogénne redukčné činidlá, ako je NADH alebo pridaný askorbát alebo erytorbát, sa oxidujú za vzniku NO so stechiometriou 1: 2:



Kinetické aspekty sú dôležité pre tvorbu NO a zatiaľ čo reaktivita kyseliny dusitej/dusitanu sa zvyšuje so znižujúcim sa pH, reaktivita kyseliny askorbovej/askorbátu sa zvyšuje so zvyšujúcim sa pH. Pri zvýšení koncentrácie soli sa kyselina dusitá môže zmeniť na nitrozychlorid:



Reakcia medzi N_2O_3 a askorbátom najviac prispieva k tvorbe NO v mäse, po čom nasleduje reakcia medzi N_2O_3 a kyselinou askorbovou (Skibsted, 2011).

Methemoglobinémia: Methemoglobinémia je vážny, potenciálne smrteľný zdravotný stav charakterizovaný prerušenou väzbou kyslíka na hemoglobín a následným zhoršeným dodávaním kyslíka do tkaniva, čím sa vytvára funkčná anémia (Khanal, 2018). Najdôležitejším toxickým účinkom dusitanov je indukcia methemoglobinémie, oxidáciou hemoglobínu zo železnatej formy na železitú (Theobald, 2016).

Dusičnany sa v ľudskom organizme redukujú na dusitany už pri ich príjme, a to priamo v ústnej dutine špecifickými enzýmami na povrchu jazyka i v gastrointestinálnom trakte (približne 5 % dusičnanov je takto redukovaných na dusitany). Bežný denný príjem dusitanov, alebo dusičnanov je iba približne 50 mg denne, pričom z mäsových výrobkov môže pochádzať 10 – 20 mg. Denný príjem dusitanov je teda na úrovni približne 0,3 – 2 % z letálnej dávky, ak berieme do úvahy človeka s hmotnosťou 70 kg. Iné štúdie uvádzajú priemerný denný príjem dusičnanov v EÚ na 155 mg na osobu (Santamaria, 2006). Methemoglobinémia môže byť tiež dedičná. Zdedené nedostatky niektorých enzýmov podieľajúcich sa na metabolizme methemoglobínu, ako je nikotínamid adenín dinukleotid (NADH) methemoglobínreduktáza alebo mutácie v géne globínu vedúce k prevahe hemoglobínu M, môžu viesť k methemoglobinémii. Získaná methemoglobinémia sa pozoruje oveľa častejšie ako dedičná (Theobald, 2016). Normálne je u väčšiny cicavcov hladina methemoglobínu v krvi udržiavaná na nízkej hladine (1 – 2 % celkového hemoglobínu) hlavne prostredníctvom enzýmu NADH: methemoglobínreduktáza (diaforáza) prítomného v červených krvinkách. Menší stupeň methemoglobinémie (do 10 %) nevytvára toxické príznaky. Vyššie hladiny methemoglobínu (až do 50 %) po okamžitom podaní dusitanov vyvolávajú toxické symptómy, ale nie zvyčajne



smrť, a ak sa podávanie dusitanov zastaví methemoglobín je redukovaný na úplne aktívny hemoglobín prostredníctvom methemoglobínreduktázy (Swann, 1975).

Methemoglobinémia sa vyskytuje, keď dusitan reaguje s hemoglobínom, čo spôsobuje, neschopnosť hemoglobínu prenášať kyslík. Výsledkom týchto biochemických reakcií je cyanóza. Methemoglobinémia je obzvlášť nebezpečná pre deti do veku 3 mesiacov života, pretože ľudský organizmus nie je schopný do tohto veku produkovať enzýmy umožňujúce obnoviť schopnosť hemoglobínu prenášať kyslík (Bedale, 2016).

Priaznivé účinky NO: Kontinuálna tvorba NO je nevyhnutná pre integritu kardiovaskulárneho systému. Ochrana srdca s pribúdajúcim vekom klesá a pripisuje sa k poklesu NO. Nedostatok produkcie NO môže viesť k hypertenzii, ateroskleróze, ochoreniu periférnych tepien, srdcovému zlyhaniu a trombóze, čo vedie k infarktu a mozgovej príhode. Je pozoruhodné, že všetky tieto stavy boli pozitívne ovplyvnené pridaním dusitanov do potravy (Parthasarathy, 2012).

Mozgová príhoda: Oxid dusnatý (NO) je všadeprítomná molekula s mnohými fyziologickými účinkami ako vazodilatačné, sú taktiež neurotransmitterom, imunomodulátorom a antagonistom krvných doštičiek a leukocytov. NO a jeho vedľajší produkt L-citrulín sa syntetizujú z aminokyseliny L-arginín skupinou enzýmov nazývaných oxid dusnatý syntázy (NOS). NO pochádzajúce z endotelu NOS reguluje vaskulárne funkcie (najmä vazomotorický tonus a aktivitu krvných doštičiek a leukocytov), ktoré produkujú neuronálne NOS, sú neurotransmitterom, zatiaľ čo NO pochádza z indukovateľného NOS moduluje imunitnú funkciu. Úloha NO pri ischemickej cievnej mozgovej príhode je komplexná: NO môže byť buď *neuroprotektívne* alebo *neurotoxické* v závislosti od jeho zdroja, lokálnej koncentrácie a redoxného stavu. Pretože nízka endotelová syntéza NO môže predchádzať mozgovej príhode, exogénne podávanie NO počas akútnej mozgovej príhody by potom mohlo byť prospešné pri zlepšovaní výsledkov (Rashid, 2003).

Hypercholesterolemia: Nedávno bol objavený priaznivý účinok NO voči hypercholesterolemii. Uskutočnili sa pokusy na myšiach, u ktorých bola vyvolaná hypercholesterolemia a následne im bola podávaná voda s prídavkom dusitanom a bez prídavku. Podávanie dusitanov v pitnej vode inhibovalo adhéziu a emigráciu leukocytov a bránilo arterionárnej dysfunkcii. To viedlo k zníženiu cholesterolu. Hlavnou cestou metabolizmu NO je postupná oxidácia na dusitany a dusičnany. NO sa oxiduje takmer úplne na dusitan v plazme, kde zostáva stabilný niekoľko hodín. Naproti tomu NO a dusitan sa v celej krvi rýchlo oxidujú na dusičnany. NO sa môže tiež enzymaticky oxidovať na dusitancerulopazmínom alebo inými proteínmi obsahujúcimi kov (Stokes, 2009).

Chronická ischemia tkanív: Chronická ischemia tkanív spôsobená defektnou vaskulárnou perfúziou je charakteristickým znakom ochorenia periférnych tepien, pre ktoré existujú minimálne terapeutické možnosti. Zistilo sa, že terapia dusitanom sodným má cytoprotektívne účinky proti akútnemu ischemickému poškodeniu srdca aj pečene, čo je v súlade s modelom bioaktívnej tvorby NO z dusitanov počas ischemického stresu. Zaujímavé je, že vysoké dávky dusitanu sodného (3 300 µg/kg) boli menej účinné pri zvyšovaní vaskulárnej hustoty ischemického tkaniva v porovnaní s dusitanom s nízkou dávkou (165 µg/kg) (Kumar, 2008).

Záver

Dusitany a dusičnany sú praktickými skúsenosťami overenými prídavnými látkami, ktoré sa používajú v mäsovom priemysle už desiatky rokov. Dosiaľ sa nepodarilo nájsť adekvátnu náhradu, ktorá by spĺňala požiadavky, ktoré sú na takéto prídavné látky kladené

Diskutované negatívne zdravotné účinky je potrebné vnímať v kontexte s ostatnými zdrojmi týchto látok, ktoré človek konzumuje. Analýzy ukazujú, že obsahovo niekoľkonásobne



vyššie množstvá dusičnanov prijíma človek zo zeleniny, a že bežné množstvá obsiahnuté v mäsových výrobkoch nepredstavujú zdravotné riziko pre človeka (s výnimkou kojencov). Najvyššie množstvá dusičnanov zo zeleniny (viac ako 2 500 mg/kg) obsahuje zeler, hlávkový šalát, reďkovka, špenát, cvikla a ďalšie (Santamaria, 2006).

Literatúra

1. BEDALE W. - SINDELAR J. J. - MILKOWSKI A. L. 2016. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. In *Meat Science*, ISSN 0309-1740, 120, 85–92.
2. BENEDICT, R. C. 1980. Biochemical Basis for Nitrite-Inhibition of Clostridium botulinum in Cured Meat. In *Journal of Food Protection*, ISSN 1944-9097, 43(11), 877–891.
3. BRYAN et al. 2012. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. In *Food and Chemical Toxicology*, ISSN 0278-6915, 50(10), 3646–3665.
4. CROPP, M. S. et al. 2018. The Potential Role of Nitrite-Embedded Film Technology in Extending the Color Stability and Shelf Life of a Cured, Cooked Meat Product. In *Meat and Muscle Biology*, ISSN 2575-985X, 2, 67-67.
5. DE LA POMÉLIE, D. et al. 2018. Oxidation and nitrosation of meat proteins under gastro-intestinal conditions: Consequences in terms of nutritional and health values of meat. In *Food Chemistry*, ISSN 0308-8146, 243, 295–304.
6. DE MEY et al. 2015. Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, ISSN 1549-7852, 57(13), 2909–2923.
7. GÓMEZ, J. et al. 2019. Modeling of sodium nitrite and water transport in pork meat. In *Journal of Food Engineering*, ISSN 0260-8774, 249, 48-54.
8. HAMMES, W. P. 2012. Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods. In *Food Microbiology*, ISSN 0740-0020, 29(2), 151–156.
9. HONIKEL, K. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. In *Meat Science*, ISSN 0309-1740, 78(1-2), 68–76.
10. KEETON, J. T. 2011. History of Nitrite and Nitrate in Food. In *Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease*, 2011, s.69–84, ISBN 978-1-60761-616-0.
11. KHANAL S. et al. 2018. Benzocaine-Associated Methemoglobinemia. In *American Journal of Therapeutics*, 1. ISSN 1536-3686, 25(6), 771-772.
12. KUMAR et al. 2008. Chronic sodium nitrite therapy augments ischemia-induced angiogenesis and arteriogenesis. In *Proceedings of the National Academy of Sciences*, ISSN 1091-6490, 105(21), 7540–7545.
13. LI, P. et al. 2016. Formation of red myoglobin derivatives and inhibition of spoilage bacteria in raw meat batters by lactic acid bacteria and Staphylococcus xylosum. In *LWT - Food Science and Technology*, ISSN 0023-6438, 68, 251–257.
14. MA, L., 2018. Nitrate and Nitrite in Health and Disease. In *Aging and Disease*, ISSN 2152-5250, 9(5), 938.
15. PARTHASARATHY D. K. - BRYAN N. S., 2012. Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency. In *Meat Science*, ISSN 0309-1740, 92(3), 274–279.
16. PIERSON, M. D. - SMOOT, L. A. - Robach, M. C., 1983, Nitrite, nitrite alternatives, and the control of clostridium botulinum in cured meats. In *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, ISSN 1549-7852, 17(2), 141–187.
17. PIPEK, P. 1994, *Technologie masa II*. ČVUT, Praha, 303 s. ISBN 80-7192-283-8.
18. RASHID P. A. et al. 2003. Plasma nitric oxide (nitrate/nitrite) levels in acute stroke and their relationship with severity and outcome. In *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, ISSN 1052-3057, 12(2), 82–87.
19. RIVERA N. - BUNNING M. – MARTIN J., 2019. Uncured-Labeled Meat Products Produced Using Plant-Derived Nitrates and Nitrites: Chemistry, Safety, and Regulatory Considerations. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. ISSN 1520-5118, 67(29), 8074-8084.
20. SANTAMARIA, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 1097-0010, 86, 11, 10 – 17.
21. SEBRANEK, J. G. - BACUS, J. N., 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? In *Meat Science*, ISSN 0309-1740, 77(1), 136–147.
22. SCHUDEBOOM, L. J., 1993. Nitrates and nitrites in foodstuffs. Council of Europe Press, Publishing and Documentation Service, ISBN 92-871-2424-6.
23. SKIBSTED L.H., 2011. Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. In *Nitric Oxide*, ISSN 1089-8603 24(4), 176–183.



24. STOKES et al., STOKES et al., 2009. Dietary nitrite prevents hypercholesterolemic microvascular inflammation and reverses endothelial dysfunction. In *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, ISSN 03636135, 296(5), H1281–H1288.
25. SWANN, P. F., 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and nitroso compounds. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 1097-0010, 26(11), 1761–1770.
26. THEOBALD, J. L. et al. 2016. The Beef Jerky Blues. In *Pediatric Emergency Care*, 1. ISSN 1535-1815, 34(7), 122-123.
27. Online zdroj 1 <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=5&id=1136>
28. Online zdroj 2 https://www.svps.sk/potraviny/info_Clostridium_botulinum.asp
29. Online zdroj 3 http://www.vzbb.sk/sk/aktuality/spravy/2017/clostridium_revue_3_2017.pdf

Kontaktné adresy: Ing. Ladislav Staruch, PhD., Bc. Paula Šoucová, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: ladislav.staruch@stuba.sk, xsoucova@stuba.sk



OLEJE A TUKY V ĽUDSKEJ VÝŽIVE OILS AND FATS IN HUMAN NUTRITION

Ján Šajbidor

Abstract: Lipids are very important part of human nutrition and a major source of energy for metabolism. Depending on the type of fatty acid and its consistency, lipids are divided into oils and fats. Recent discoveries prove the relationship between disorders in lipid metabolism and some diseases (cancer, skin problems, osteoporosis and others). This paper focuses on the quality and safety of lipids, especially in terms of their impact on human health.

Keywords: edible oils, nutrition, health risk

Lipidy sú veľmi dôležitou súčasťou ľudskej výživy a hlavným zdrojom metabolickej energie. V závislosti od typu mastnej kyseliny a jej konzistencie sa lipidy delia na oleje a tuky. Posledné objavy dokazujú vzťah medzi poruchami metabolizmu lipidov a niektorými chorobami (rakovina, kožné problémy, osteoporóza a iné). Tento príspevok sa zameriava na bezpečnosť lipidov, najmä z hľadiska ich vplyvu na ľudské zdravie.

Nasýtené tuky a cholesterol: Nasýtené mastné kyseliny sa nachádzajú najmä v živočíšnych tukoch a výrobkoch z nich. Hlavné zdroje nasýteného tuku v strave sú: tučné mäso, koža z hydiny, mäsové výrobky ako klobásy či fašírky, plnotučné mlieko a plnotučné mliečne výrobky ako syry, smotana, maslo, ďalej kokosový olej a palmový olej, koláče, keksy, zákusky a čokoláda. Nasýtené tuky sú koncentrovanou energetickou konzervou a vytvárajú prostredie ktorým sa do tela dostávajú nepolárne vitamíny A, D, E a K.. Bunky získavajú energiu postupnou oxidáciou reťazca mastných kyselín.

Nasýtené mastné kyseliny ktoré sú súčasťou živočíšnych tukov majú veľký vplyv na hladinu cholesterolu v krvi. Cholesterol je voskovitá látka, ktorá spolu s tukmi a olejmi patrí do skupiny lipidov. Je nevyhnutnou zložkou všetkých buniek nášho tela a má osobitnú úlohu pri tvorbe mozgových buniek a niektorých hormónov. Hoci niektoré potraviny už cholesterol obsahujú, väčšina cholesterolu v organizme sa tvorí v pečeni.

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) odhaduje, že priemerná hodnota celkového cholesterolu u Európanov sa pohybuje od 4,5 mmol/l v Turecku do 6,2 mmol/l v Srbsku a Čiernej Hore, pričom u žien sú priemerné hladiny cholesterolu v rozsahu od 4,6 mmol/l v Turecku do 6,1 mmol/l v Nórsku (WHO database, 2006). Odporúčaná hladina celkového cholesterolu pre väčšinu ľudí je < 5,0 mmol/l, ale ľuďom ktorí trpia chorobami srdca a ciev sa odporúča hladina nižšia ako < 4,5 mmol/l. Odhaduje sa, že zvýšený cholesterol celkovo spôsobí 2,6 milióna úmrtí (4,5 % z celkového počtu). Zvýšený celkový cholesterol je hlavnou príčinou chorobnosti v rozvinutom a rozvojovom svete. Je rizikovým faktorom pre ischemickú chorobu srdca a cievnu mozgovú príhodu. Uvádza sa, že 10 %-tné zníženie sérového cholesterolu u mužov vo veku 40 rokov môže znížiť riziko kardiovaskulárnych ochorení až o 50 %. V Írsku sa 30 % zníženie úmrtnosti na srdcovo cievne ochorenia pripisuje 4,6 percentnému zníženiu obsahu cholesterolu v krvi populácie. Podobne aj vo Fínsku po zmene stravovacích návykov sa znížila úmrtnosť na choroby srdca a ciev až o 50 %.

Poznáme dva typy cholesterolu: LDL cholesterol (lipoproteíny s nízkou hustotou) a HDL cholesterol (lipoproteíny s vysokou hustotou). LDL cholesterol, často označovaný aj ako “zlý” cholesterol, transportuje lipid v krvnom obeh. Adheruje na steny ciev a jeho vysoká hodnota je jednou z príčin upchania ciev s fatálnymi následkami. Hoci sa LDL prirodzene vytvára v organizme, výživou môžeme regulovať jeho množstvo. HDL cholesterol, alebo “dobrý” cholesterol vracia tuk do pečene. Vysoká hladina HDL cholesterolu znamená, že sa



tuk v tepnách ukladá horšie. Konzumácia nasýtených, najmä živočíšnych tukov s nedostatkom telesnej aktivity je v priamej súvislosti s vysokou hladinou cholesterolu. Je zaujímavé, že jednotlivé nasýtené mastné kyseliny neovplyvňujú na zvyšovanie LDL rovnako. Negatívny účinok majú najmä mastné kyseliny s dĺžkou reťazca C12 – C16, ktoré sa nachádzajú prevažne v živočíšnych tukoch. Kyselina steárová (C18) nie je v tomto smere tak riziková, pretože sa v pečeni účinne mení na kyselinu olejovú. Odporúčania dietológov zdôrazňujú, že príjem nasýtených tukov by nemal byť väčší ako 10 % z celkového energetického obsahu potravy. V Európe sa tento limit prekračuje približne o tretinu. Okrem diéty s obmedzením živočíšnych tukov môžeme hladinu cholesterolu znížiť aktívnym pohybom a konzumáciou dostatočného množstva ovocia a zeleniny, potravín obsahujúcich vlákninu (napr. ovsené vločky, šošovica, fazuľa či hrach), orechov (napr. mandle) a sóje.

Trans izoméry mastných kyselín: Nenasýtené mastné kyseliny môžu byť v *cis* alebo *trans* konfigurácii. *Cis* usporiadanie má molekula vtedy, ak sú substituenty na jednej strane roviny preloženej cez násobnú väzbu. V prípade *trans* konfigurácie sú substituenty na opačných častiach roviny.

Nenasýtené tuky sa v potrave nachádzajú prevažne v *cis* forme, malý podiel však majú aj *trans* izoméry. *Trans* izoméry mastných kyselín (TFA) v potravinách pochádzajú z troch hlavných zdrojov (Dhaka et al., 2011). Ich výskyt v potravinách podmieňuje:

- bakteriálna transformácia nenasýtených mastných kyselín v bachore prežúvavcov, napr. kráv a oviec (tieto kyseliny prechádzajú do tuku, mäsa a mlieka),
- priemyselná hydrogenácia alebo stužovanie olejov pri výrobe tukových nátierok a tukov na pečenie),
- zahrievanie a praženie olejov pri vysokých teplotách.

TFA, podobne ako nasýtené mastné kyseliny, zvyšujú hladinu LDL cholesterolu v krvi, pričom ich konzumáciou narastá riziko srdcovo-cievnych ochorení. V protiklade s nasýtenými tukmi však TFA môžu spôsobovať aj pokles HDL a zvyšovať hladinu triacylglycerolov v krvi, čo ich z hľadiska výživy robí nebezpečnejšími než nasýtené tuky. K týmto negatívnym vplyvom môže dôjsť pri dlhodobom príjme *trans*- tukov v množstve 5 – 10 g denne (Hunter, 2006), (Stender et al., 2006). TFA sa nachádzajú v hovädzom, baranom a jahňacom loji v mäse a mlieku týchto zvierat, v niektorých tukových nátierkach a pečive, napr. krekoch, koláčoch, keksoch, a vo vyprášaných potravinách. Príjem TFA je v rámci EU rôzny. Nedávne výživové štúdie však indikujú, že s narastajúcou obľubou nízkotučných mliečnych produktov a zmenou receptúr tukových nátierok sa príjem TFA kontinuálne znižuje. Bez ohľadu na to, či konzumujeme správne tuky, je vhodné znížiť ich celkový príjem tým, že namiesto vyprážania budeme potraviny piecť, grilovať a variť vo vode alebo v pare.

Európska komisia 24. apríla 2019 prijala nariadenie ktorým sa mení príloha III Európskeho parlamentu č. 1925/2006, ktorým sa stanovuje maximálny limit pre *trans* izoméry mastných kyselín v potravinách na 2 gramy na 100 g tuku. Svetová zdravotnícka organizácia WHO vo svojich dokumentoch uvádza, že 58 krajín doteraz prijalo zákony, ktoré do konca roku 2021 ochránia 3,2 miliardy ľudí pred škodlivými účinkami *trans* mastnými kyselinami v potravinách. Viac ako 100 krajín však musí prijať opatrenia na odstránenie týchto škodlivých zložiek z potravín. Odhaduje sa, že spotreba priemyselne vyrábaných tukov obsahujúcich *trans* izoméry mastných kyselín spôsobuje okolo 500 000 úmrtí ročne na kardiovaskulárne ochorenia. „V čase, keď celý svet bojuje proti pandémie COVID-19, musíme vyvinúť všetko úsilie na ochranu zdravia ľudí. To musí zahŕňať prijatie krokov na zabránenie neprenosným chorobám, ktoré môžu zvýšiť citlivosť na koronavírus a spôsobiť predčasnú smrť“, uviedol generálny riaditeľ WHO Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus. „Náš cieľ, eliminovať *trans*-tuky do roku 2023 sa nesmie odkladať“.



Trans mastné kyseliny vo vzťahu k niektorým ochoreniam: Srdcovo-cievne ochorenia: Mnoho rokov epidemiologického výskumu ukázalo, že populácie konzumujúce stravu s vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín vykazujú relatívne vysokú hladinu sérového cholesterolu a majú vysokú prevalenciu koronárnych srdcových chorôb (Caggiula and Mustad, 1997). Je známe, že vysoké hladiny sérového cholesterolu a najmä jeho LDL formy zvyšujú riziko vzniku arterosklerózy a srdcových chorôb. Podľa pozorovaní Mensinka a Katana (1990) tuky obsahujúce *trans* izoméry zvyšovali hladinu LDL a znižovali prospešné HDL, čo viedlo k horšiemu pomeru LDL/HDL. *Trans* izoméry mastných kyselín sú v tomto ohľade horšie ako nasýtené mastné kyseliny. Odhaduje sa, že dietetické TFA z čiastočne hydrogenovaných olejov môžu byť zodpovedné v Spojených štátoch amerických za 30 000 - 100 000 predčasných koronárnych úmrtí ročne (Dhaka et al., 2011).

Rakovina prsníka: Analýza hladín *trans* a *cis* mastných kyselín v krvnom sére žien ukázala, že riziko rakoviny prsníka sa zvyšovalo so zvyšovaním hladiny *trans* mastných kyselín. Ženy so zvýšenými sérovými hladinami *trans* mastných kyselín majú dvojnásobné riziko vzniku rakoviny prsníka v porovnaní so ženami s nižšími hladinami. Tieto zistenia naznačujú asociáciu tukových zásob TFA s post-menopauzálnym karcinómom prsníka európskych žien, ktorá by mala byť potvrdená v iných populáciách so zvážením potenciálnych úloh nasýtených a mononenasýtených tukov v potrave (Kohlmeier et al., 1997).

Vplyv na plod pri tehotenstve: Na základe výsledkov štúdií na zvieratách sa predpokladalo, že *trans* mastné kyseliny neprechádzajú placentou a že do plodu sa nedostávajú (Stender et al., 1994). Novšie štúdie na ľuďoch však ukázali, že *trans* mastné kyseliny sa prenášajú do plodu, pretože boli zistené v rovnakých hladinách v krvi novorodencov ako v ich matkách (Berghaus et al., 1998), (Elias and Innis, 2001). Vysoký príjem *trans* mastných kyselín inhibuje tvorbu polynenasýtených mastných kyselín s dlhým reťazcom z ich prekursorov (Pax et al., 1992). Ďalším prekvapujúcim zistením bola súvislosť medzi vysokým príjmom *trans* mastných kyselín a rizikom preeklampsie (hypertenzia vyvolaná tehotenstvom) (Yli – Jama et al., 2002). Zistilo sa, že ženy, u ktorých sa vyvinula preeklampsia, mali v červených krvinkách približne o 30% vyššiu hladinu *trans*-mastných kyselín ako ženy, ktoré touto poruchou netrpeli.

Rakovina hrubého čreva: Slattey et al. (2001) uvádzajú, že muži a ženy vo veku nad 67 rokov, ktorí neužívali nesteroidné protizápalové lieky, mali pri vysokej miere konzumácie *trans* mastných kyselín o 50 % vyššie riziko vzniku rakoviny hrubého čreva než referenčná vzorka. Je zaujímavé, že ženy ktoré neužívali hormonálnu substitučnú liečbu po menopauze, mali dvojnásobné riziko z vysokých hladín *trans* mastných kyselín v strave, zatiaľ čo ženy, ktoré boli estrogénne pozitívne, nemali zvýšené riziko rakoviny hrubého čreva bez ohľadu na hladinu spotrebovaných *trans* mastných kyselín.

Cukrovka: Štrnásťročná epidemiologická analýza ukázala, že riziko vzniku cukrovky typu II bolo spojené s príjmom *trans* mastných kyselín (Salmeron et al., 2001). Predpokladá sa, že zníženie príjmu priemyselne vyrábaných *trans* mastných kyselín by významne znížilo výskyt cukrovky II typu. Uvedenú priamu súvislosť medzi ochorením a konzumáciou *trans* mastných kyselín spochybňujú štúdie Meyera (Meyer et al., 2001) a Wahleho a Jamesa (1993).

Obezita: Výskum naznačuje, že *trans* tuky môžu napriek podobnému kalorickému príjmu zvýšiť prírastok hmotnosti a ukladanie tuku v brušnej dutine. Švédska štúdia naznačuje, že určité izoméry konjugovanej kyseliny linolovej, ktoré sú v tuku prežúvavcov prítomné iba vo veľmi nízkych hladinách, zvyšujú inzulínovú rezistenciu u mužov s brušnou obezitou (Riserus et al., 2002). Šesťročná štúdia odhalila, že opice kŕmené stravou rovnako kalorickou stravou s obsahom *trans* tukov získali z tohto zdroja 7,2 % svojej telesnej hmotnosti v porovnaní s 1,8 % u opíc s obsahom mononenasýtených lipidov (Kavanagh et al., 2007).



Alergia: Weiland et al., (1999) publikoval u detí vo veku 13–14 rokov priamu súvislosť medzi výskytom astmy, a atopickú dermatitídu a príjmom *trans* mastných kyselín.

Polynenasýtené mastné kyseliny: Polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA) majú vo svojom reťazci viac ako jednu dvojitú väzbu. Z hľadiska biologických účinkov ich rozdeľujeme do dvoch veľkých skupín - n-3 a n-6. Kyseliny radu n-3 majú prvú dvojitú väzbu v reťazci od metylového konca na 3. uhlíku a n-6 kyseliny na 6. uhlíku. Ľudský organizmus si nedokáže syntetizovať n-3 kyselinu α -linolénovú (ALA) a n-6 kyselinu linolovú (LA) a preto je odkázaný na ich príjem potravou. Tieto kyseliny sú pre človeka esenciálne (EMK). Z EMK vznikajú v ľudskom tele ďalšie mastné kyseliny – napr. kyselina arachidónová (AA), alebo γ -linolénová (GLA). Keďže konverzia na n-3 mastné kyseliny – kyselinu eikozapentaénovú (EPA) a dokozahexaénovú (DHA) – je obmedzená, odporúča sa, aby strava obsahovala aj ich zdroje. ALA a LA sa nachádzajú v niektorých semenách olejnin, EPA a DHA sú súčasťou tuku morských rýb. AA sa dá získať zo živočíšnych zdrojov, napríklad mäsa alebo vajecného žĺtka. Odporúčaný príjem n-3 je v jednotlivých krajinách odlišný. Pohybuje sa v rozmedzí od 0,5 do 2 % podielu na celkovom energetickom príjme. Odporúčaná dávka ALA je 1-2 g/deň, čo predstavuje 0,6 – 1,2 % z energetického príjmu (Lunn and Theobald, 2006). Rozsiahla výživová štúdia zistila, že skutočný príjem ALA sa mení od približne 0,6 g/deň (Francúzsko a Grécko) do 2,5 g/deň (Island) u mužov a 0,5 g/deň (Dánsko) u žien. Vo väčšine prípadov bol príjem EMK nižší než sú odporúčané dávky (Hulshof et al., 1999).

Polynenasýtené mastné kyseliny vo vzťahu k niektorým ochoreniam: Je známe že polynenasýtené mastné kyseliny majú priamy vzťah k niektorým ochoreniam. Hlavnou n-6 esenciálnou kyselinou, z ktorej sa vytvárajú ostatné kyseliny tohto radu je kyselina linolová. Ak sa do organizmu dostáva málo LA, prejavuje sa nedostatok aj ďalších metabolitov z nej odvodených. Deficiencia však môže byť zapríčinená aj nedostatočným metabolizmom kyselín a taktiež skutočnosťou, že konverzia LA na GLA a AA je limitovaná ich vzájomným pomerom. Najvýznamnejšie sa táto limitácia prejavuje u kyselín GLA a AA, keď ani zvýšený príjem kyseliny dihomo- γ -linolénovej (DGLA) nemusí bunka efektívne využiť. Napriek tomu, je súčasné podávanie AA spolu s DGLA spojené s určitým rizikom, pretože AA je prekursorom biologicky veľmi aktívnych prostaglandínov.

Kožné ochorenia: Na optimálnu činnosť potrebuje kožný epitel LA aj GLA. V terapii je možné LA nahradiť DGLA, ktorá má rovnaké účinky. Mastné kyseliny sa aplikujú ako rastlinné oleje, čisté MK, alebo v prijateľných farmaceutických kompozíciách ako sú krémy, gély, toniká a iné. Koncentrácia mastných kyselín v prípravkoch sa pohybuje od 1 do 10 % a množstvo dávkaných kyselín za deň je u LA 2 - 10 g/deň, u GLA alebo DGLA je to 0,3 - 2 g/deň. Na liečenie sa môžu použiť mikrobiálne oleje nižších vláknitých húb rodu *Mucoraceae*, alebo rastlinné výťažky z pupálky, boráku alebo rastliny Očianka rostkovova (*Euphrasia rostkoviana*) (Lloyd, 1989).

Osteoporóza: Kyselina dihomo- γ -linolénová priaznivo vplyva na liečbu a prevenciu osteoporózy. DGLA samotná, alebo v kombinácii s kyselinou eikozapentaénovou (EPA) znižuje vylučovanie vápnika z tela. Dvanásťtýždňová diéta obsahujúca EPA 300 mg/deň, GLA 540 mg/deň alebo ich zmes v pomere 80:20 viedla k podstatnému poklesu vyplavovania vápnika z kostí pacientov (Orchard et al., 2012).

Vredové ochorenie žalúdka a dvanástnika: Vredové choroby žalúdka a dvanástnika sú veľmi podobné. Je viacero spôsobov liečby týchto ochorení ako medikamentózna alebo chirurgická liečba doplnená diétou. Výsledky potvrdzujú, že podávanie PUFAs v množstve od 10 mg do 1 g/deň vedie pri liečbe žalúdočných vredov k pozitívnym výsledkom (Calder and Grimble, 2002).

Rakovina: Testovaním vplyvu PUFA na karcinogézu v podmienkach *in vitro* sa zistilo, že DGLA, AA a EPA inhibujú proliferáciu HeLa buniek a karcinómu prsníka. Štúdie *in*



vitro aj *in vivo* ukazujú preventívny účinok GLA a DGLA na genetické poškodenie indukované radiáciou a chemickými mutagénmi. Zaujímavé výsledky sa zistili pri štúdiu efektu DGLA, GLA, AA a EPA na inkorporáciu ³H-tymidínu v rakovinových bunkách potkanov. Keď boli zvieratá kŕmené diétou deficitnou na EMK v plazme a v tumoroch bola detegovaná nízka endogénna koncentrácia n-6 a n-3 mastných kyselín. (Larsson et al., 2004).

Neuro degeneratívne ochorenia: Je známe, že pokles koncentrácie PUFA sa pozoruje pri Parkinsonovej chorobe. Je možné predpokladať, že n-3 PUFA majú neuroprotektívne účinky, podobné ako pri Alzheimerovej chorobe. Bolo opísané, že PUFA majú dôležitú úlohu pri znižovaní úzkosti a zlepšovaní kognitívnych funkcií u primátov, okrem človeka (Vinot et al., 2011).

Schizofrénia: U zdravých ľudí sa n-3 PUFA desaturujú lepšie než n-6 analógy. Vo vzorkách od pacientov trpiacich na schizofréniu je vyšší počet defektných desaturáz s vyššou preferenciou k mastným kyselinám n-6 série. Táto skutočnosť je príčinou zvýšeného množstva AA, ALA v krvnej plazme a červených krvinkách na úkor hladiny kyseliny linolovej a DGLA. Liečba schizofrénie olejom s obsahom GLA viedla k čiastočnému zlepšeniu stavu (Laugharne et al., 1996).

Srdcovo-cievne ochorenia: Dvaja dánski lekári Bang a Dyerberg uverejnili viacero článkov v ktorých poukazujú na priamu súvislosť medzi nízkym výskytom srdcovo cievnych ochorení grónskych eskimákov a vysokou konzumáciou rýb a morských cicavcov (Dyerberg et al., 1975), (Bang, Dyerberg et al. 1976). Dodnes odborná literatúra registruje viac ako 7000 vedeckých článkov a 900 epidemiologických štúdií o význame rýb vo výžive človeka a prevencii niektorých ochorení. Vedecký poradný výbor pre výživu vo Veľkej Británii (SACN) (Nutrition 2004) odporúča týždennú konzumáciu 2–3 porcií morských rýb, aby sa zabezpečil minimálny diétny príjem EPA a DHA (Cunnane 2004).

Pod'akovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

1. Bang, H., J. Dyerberg and N. Hjorne (1976). "The composition of food consumed by Greenland Eskimos." *Acta Medica Scandinavica* 200(1 - 6): 69-73.
2. Berghaus, T., H. Demmelmair and B. Koletzko (1998). "Fatty acid composition of lipid classes in maternal and cord plasma at birth." *European journal of pediatrics* 157(9): 763-768.
3. Caggiula, A. W. and V. A. Mustad (1997). "Effects of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations: epidemiologic studies." *The American journal of clinical nutrition* 65(5): 1597S-1610S.
4. Calder, P. and R. Grimble (2002). "Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity." *European journal of clinical nutrition* 56(3): S14-S19.
5. Cunnane, S. (2004). "Recommendations for intakes of polyunsaturated fatty acids in healthy adults." *ISSFAL Newsletter* 11: 12-25.
6. Dhaka, V., N. Gulia, K. S. Ahlawat and B. S. Khatkar (2011). "Trans fats—sources, health risks and alternative approach-A review." *Journal of food science and technology* 48(5): 534-541.
7. Dyerberg, J., H. Bang and N. Hjorne (1975). "Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos." *The American journal of clinical nutrition* 28(9): 958-966.
8. Elias, S. L. and S. M. Innis (2001). "Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length." *The American journal of clinical nutrition* 73(4): 807-814.
9. Hulshof, K., M. van Erp-Baart, M. Anttolainen, W. Becker, S. Church, C. Couet, E. Hermann-Kunz, H. Kesteloot, T. Leth and I. Martins (1999). "Intake of fatty acids in western Europe with emphasis on trans fatty acids: the TRANSFAIR Study." *European journal of clinical nutrition* 53(2): 143-157.
10. Hunter, J. E. (2006). "Dietary trans fatty acids: review of recent human studies and food industry responses." *Lipids* 41(11): 967-992.



11. Kavanagh, K., K. L. Jones, J. Sawyer, K. Kelley, J. J. Carr, J. D. Wagner and L. L. Rudel (2007). "Trans fat diet induces abdominal obesity and changes in insulin sensitivity in monkeys." *Obesity* 15(7): 1675-1684.
12. Kohlmeier, L., N. Simonsen, P. van't Veer, J. J. Strain, J. M. Martin-Moreno, B. Margolin, J. K. Huttunen, J. F.-C. Navajas, B. C. Martin and M. Thamm (1997). "Adipose tissue trans fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer." *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 6(9): 705-710.
13. Larsson, S. C., M. Kumlin, M. Ingelman-Sundberg and A. Wolk (2004). "Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms." *The American journal of clinical nutrition* 79(6): 935-945.
14. Laugharne, J., J. Mellor and M. Peet (1996). "Fatty acids and schizophrenia." *Lipids* 31(1): S163-S165.
15. Lloyd, D. (1989). "Essential fatty acids and skin disease." *Journal of Small Animal Practice* 30(4): 207-212.
16. Lunn, J. and H. Theobald (2006). "The health effects of dietary unsaturated fatty acids." *Nutrition Bulletin* 31(3): 178-224.
17. Mensink, R. P. and M. B. Katan (1990). "Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects." *New England Journal of Medicine* 323(7): 439-445.
18. Meyer, K. A., L. H. Kushi, D. R. Jacobs and A. R. Folsom (2001). "Dietary fat and incidence of type 2 diabetes in older Iowa women." *Diabetes care* 24(9): 1528-1535.
19. Nariadenie komisie EÚ 2019/649 z 24. apríla 2019, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/HTML/?uri=CELEX:32019R0649&from=EN>
20. Nutrition, S. (2004). "Advice on fish consumption: benefits & risks." *Committee on Toxicity*: 204.
21. Orchard, T. S., X. Pan, F. Cheek, S. W. Ing and R. D. Jackson (2012). "A systematic review of omega-3 fatty acids and osteoporosis." *British Journal of Nutrition* 107(S2): S253-S260.
22. Pax, J., L. Douglass and J. Sampugna (1992). "Effects of linolenic and trans fatty acids on neonatal survival of C57BL/6 mice." *The Journal of Nutritional Biochemistry* 3(7): 342-348.
23. Riserus, U., P. Arner, K. Brismar and B. Vessby (2002). "Treatment with dietary trans-10cis-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome." *Diabetes care* 25(9): 1516-1521.
24. Salmeron, J., F. B. Hu, J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. A. Colditz, E. B. Rimm and W. C. Willett (2001). "Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women." *The American journal of clinical nutrition* 73(6): 1019-1026.
25. Slattery, M. L., J. Benson, K.-N. Ma, D. Schaffer and J. D. Potter (2001). "Trans-fatty acids and colon cancer." *Nutrition and cancer* 39(2): 170-175.
26. Stender, S., J. Dyerberg and A. Astrup (2006). "High levels of industrially produced trans fat in popular fast foods." *New England Journal of Medicine* 354(15): 1650-1652.
27. Stender, S., J. Dyerberg, G. Hølmer, L. Ovesen and B. Sandström (1994). "Significance of trans-fatty acids for health." *Ugeskrift for Laeger* 156(25): 3764-3769.
28. Vinot, N., M. Jouin, A. Lhomme-Duchadeuil, P. Guesnet, J.-M. Alessandri, F. Aujard and F. Pifferi (2011). "Omega-3 fatty acids from fish oil lower anxiety, improve cognitive functions and reduce spontaneous locomotor activity in a non-human primate." *PLoS One* 6(6): e20491.
29. Wahle, K. and W. James (1993). "Isomeric fatty acids and human health." *European Journal of Clinical Nutrition (United Kingdom)*.
30. Weiland, S. K., E. von Mutius, A. Hüsing and M. I. Asher (1999). "Intake of trans fatty acids and prevalence of childhood asthma and allergies in Europe." *Lancet (British edition)* 353(9169): 2040-2041.
31. WHO database online (2006): <http://www.who.int/infobase/report.aspx?rid=112&ind=CHO>
32. WHO newsletter: https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_mean_text/en/
33. Yli-Jama, P., H. Meyer, J. Ringstad and J. Pedersen (2002). "Serum free fatty acid pattern and risk of myocardial infarction: a case-control study." *Journal of internal medicine* 251(1): 19-28.

Kontaktná adresa: Dr.h.c. prof. Ing. Ján Šajbidor, DrSc., Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: jan.sajbidor@stuba.sk



DETERMINÁCIA OBSAHU A KVALITY ŠKROBU V ODRODÁCH FAREBNEJ PŠENICE DETERMINATION OF STARCH CONTENT AND ITS QUALITY IN COLORED WHEAT VARIETIES

Veronika Valková, Hana Ďúranová, Jana Bilčíková, Alžbeta Žofajová, Michaela Havrlentová

Abstract: Given the current trends in the field of healthy nutrition, we focused on evaluating the quality of untraditionally colored wheat varieties in terms of starch content and its composition. The starch content was determined by the Ewers polarimetric method and the amylose / amylopectin ratio was assessed using a commercial kit. We found statistically significant differences in starch content and amylose / amylopectin ratio (the ratio correlated negatively with the starch content) between the analyzed set of colored wheat. Our results allow for the conclusion that the starch content and its nutritional composition depend on the wheat variety.

Keywords: cereals, colored wheat, starch, amylose, amylopectin

Úvod

Pšenica predstavuje primárny zdroj ľudskej výživy. Pšeničné zrná sa skladajú najmä zo škrobu, ktorý tvorí ich najväčší podiel. Okrem tohto polysacharidu je pšenica zdrojom mnohých iných nutrične bohatých látok, ako sú bielkoviny, vitamíny (najmä skupiny B) a vláknina (Skylas et al., 2005). Najrozšírenejším druhom pšenice na svete je podľa Peng et al. (2011) pšenica letná (*Triticum aestivum* L; hexaploidná pšenica), ktorá zaberá 95 % z celkovej pestovateľskej plochy tejto základnej chlebovej obilniny. Avšak, snaha o získanie nutrične bohatých odrôd pšenice viedla šľachtiteľov k vývoju šľachtencov s vysokým podielom fytochemikálií (antokyány, karotenoidy), ktoré významným spôsobom ovplyvňujú farbu zrna (Lachman et al., 2017). Netradične sfarbené odrody pšenice sa vyznačujú významnou antioxidačnou kapacitou, vďaka ktorej ich konzumácia pôsobí priaznivo na zdravie ľudí (Wallace, 2011). Martinek et al. (2014) poukazujú na skutočnosť, že hoci netradične sfarbené odrody pšenice priťahujú pozornosť čoraz viacerých pestovateľov a pekárenského priemyslu, ich línie vykazujú pomerne nízku výnosnosť. Preto sú farebné línie pšenice s vyhovujúcim výnosovým potenciálom v neustálom procese vývoja (Garg et al., 2016).

Škrob, ako hlavná zložka pšenice predstavuje z hospodárskeho a fyziologického hľadiska jeden z najdôležitejších polysacharidov. Uvedený polysacharid je dôležitou súčasťou potravinárskeho, textilného a papierenského priemyslu a svoje uplatnenie nachádza i v prípade rôznych chemických a biochemických aplikácií (Pérez a Bertoft, 2010).

Podľa Shevkani et al. (2017) suché semená pšenice obsahujú približne 60 – 75 % škrobu. Z chemického aspektu je škrob zmesou dvoch hlavných glukánových polymérov, t.j. amylozy (20 - 30 %) a amylopektínu (70 - 80 %; Hofman et al., 2016). Ich vzájomný pomer sa však líši v závislosti od botanického pôvodu škrobu (Tester et al., 2004) a vo veľkej miere ovplyvňuje fyzikálne vlastnosti tohto polysacharidu, a tým i jeho využitie (Ratnayake et al., 2001). Z uvedeného dôvodu sme si v našej práci stanovili za cieľ analyzovať obsah škrobu a pomer jeho základných glukánových polymérov (amyloza / amylopektín) v 3 odrodách farebnej pšenice rastúcich v experimentálnych podmienkach.



Materiál a metódy

V našej práci sme analyzovali 3 odrody farebnej pšenice (Scorpion, Bonavita, Vígl'ašská červená), ktoré boli pestované na experimentálnych plochách Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch. Obsah škrobu bol stanovený Ewersovou polarimetrickou metódou (STN EN ISO 10520; 1997) a na stanovenie pomeru amyulóza / amylopektín bola použitá komerčná súprava (Megazyme Co., Wicklow, Írsko) v súlade s odporúčaniami výrobcu. Meranie sme realizovali pomocou spektrofotometra Spekol 11 (Carl Zeiss, Jena, Nemecko). Údaje boli štatisticky spracované prostredníctvom softvéru Statgraphics X64 pomocou multifaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA).

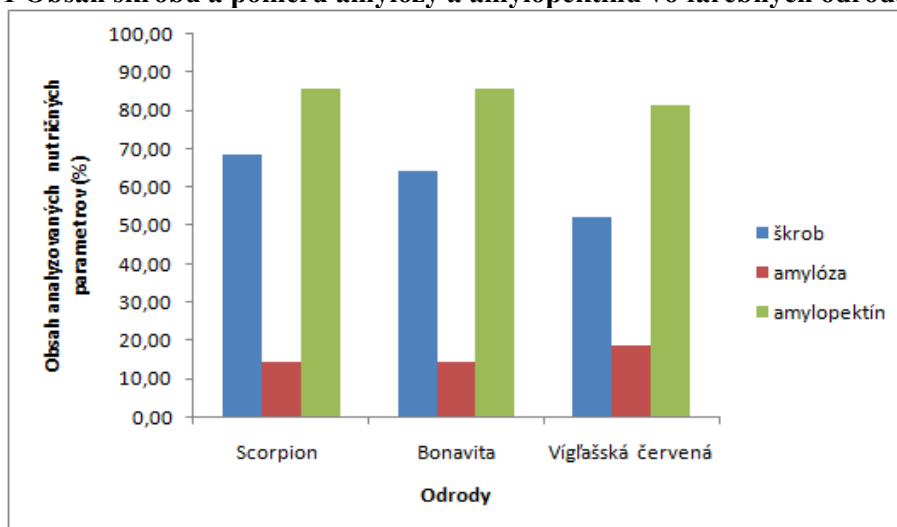
Výsledky a diskusia

Determinácia obsahu škrobu a amyulózy (pomer amyulóza / amylopektín) vo farebných odrodách pšenice: Pomocou Ewersovej polarimetrickej metódy sme zistili, že obsah škrobu vo farebných odrodách pšenice bol navzájom signifikantne odlišný ($F = 252,12$; $P < 0,0001$). V Tabuľke 1 sú sumarizované výsledky zo štatistickej analýzy. Zo zistení, demonštrujúcich Obrázok 1, je zrejmé, že odroda Scorpion disponovala najvyšším obsahom škrobu (68,50 %), zatiaľ čo jeho najnižší obsah bol zaznamenaný v starej krajovej odrode Vígl'ašská červená (52,23 %). Výsledky našich hodnotení sú v súlade so štúdiou Hřivna et al. (2018), ktorí v odrode Scorpion zistili 67,00 % podiel škrobu. Na druhej strane, priemerný obsah škrobu v našich analyzovaných farebných odrodách pšenice bol 60,37 %, čo je v rozpore s výsledkami Ma et al. (2017), ktorí analyzovali dva kultivary pšenice s červenou farbou zrna (72,60 %). Rovnako vyššie hodnoty obsahu škrobu v porovnaní s našou prácou zaznamenali i Zanoletti et al. (2017), ktorí vo svojom experimente hodnotili purpurové odrody pšenice (76,17 %). Uvedené nezrovnalosti však môžu súvisieť práve s odlišnými kultivarmi farebnej pšenice použitými v našej a uvedených štúdiách.

Tab. 1 Variabilita obsahu škrobu vo farebných odrodách pšenice

Zdroje premenlivosti	Súčet štvorcov	Df	Priemerné štvorce	F-hodnota	P-hodnota
V rámci skupín	452,717	6	75,4529	252,12	< 0,0001
Medzi skupinami	2,0949	7	0,299271		
Spolu	454,812	13			

Obrázok 1 Obsah škrobu a pomeru amyulózy a amylopektínu vo farebných odrodách pšenice



Vo farebných odrodách pšenice sme pozorovali štatisticky významné rozdiely aj v obsahu amyulózy ($F = 6,57$; $P < 0,01$; Tabuľka 2). Výsledky našich analýz ďalej preukázali negatívne



korelačné vzťahy ($r = -0,6928^*$) medzi obsahom škrobu a obsahom amylozy v experimentálnych odrodách pšenice. Obsah amylozy vo vybranej skupine vzoriek varíroval v rozmedzí od 17,83 % (Scorpion) do 22,93 % (Vígľašská červená), pričom priemerný obsah amylozy vykazoval hodnotu 20,38 %.

Tab. 2 Variabilita obsahu amylozy vo farebných odrodách pšenice

Zdroje premenlivosti	Súčet štvorcov	Df	Priemerné štvorce	F-hodnota	P-hodnota
V rámci skupín	47,6905	6	7,94842	6,57	0,0129
Medzi skupinami	8,47355	7	1,21051		
Spolu	56,1641	13			

Trend využívania netradične sfarbenej pšenice má v ľudskej výžive stúpajúcu tendenciu, nakoľko farebná pšenica obsahuje okrem škrobu množstvo pigmentových a bioaktívnych látok, ktoré sa vyznačujú benefičným vplyvom na ľudský organizmus (Garg et al., 2016). Medzi spomínané bioaktívne látky patria aj antokyány, ktoré disponujú viacerými pozitívnymi účinkami na zdravie jedinca (Ranilla et al., 2010). Vzhľadom na fakt, že antokyány znižujú riziko oxidačného poškodenia buniek a tkanív, uvedené bioaktívne substancie môžu slúžiť ako potenciálne látky pri liečbe kardiovaskulárnych chorôb a rakoviny (Chen et al., 2012).

Z výsledkov našich analýz vyplýva, že množstvo a zloženie škrobu vo farebných odrodách pšenice je odlišné, pričom tento vzťah bol i štatisticky verifikovaný. Naše zistenia v porovnaní s výsledkami iných štúdií poukazujú na určité nezrovnalosti v hodnotách obsahu škrobu a pomeru amyloza / amylopektín. Vo všeobecnosti je však známe, že kvalitu pšeničného osiva vo veľkej miere ovplyvňujú genetické a environmentálne faktory (Zhang et al., 2008), preto k možným príčinám odlišnosti medzi výsledkami našej štúdie v porovnaní s inými môžeme zaradiť práve pôsobenie týchto činiteľov.

Záver

V našej práci boli stanovené nutričné parametre pšeničného zrna netradične sfarbenej pšenice, konkrétne obsah škrobu a pomer amyloza / amylopektín. V experimentálnych vzorkách pšenice sa obsah škrobu pohyboval v rozmedzí od 52,23 % (Vígľašská červená) do 68,50 % (Scorpion). Množstvo amylozy sa v analyzovanom súbore tejto komodity pohybovalo od 17,83 % (Scorpion) do 22,93 % (Vígľašská červená), pričom negatívne korelovalo s obsahom škrobu. Výsledky našich analýz odhalili špecifický obsah škrobu a jeho rozdielne zloženie medzi rôznymi odrodami farebnej pšenice. Dlhodobé a intenzívne pestovanie pšeničnej komodity viedlo k odrodám, ktoré by boli pre našich predkov nepoznateľné. Surovinu bohatú na škrob sa široko používajú v potravinárskom priemysle, hoci ich použitie je výrazne ovplyvnené vlastnosťami škrobu. Navyše pšeničné zrná sú cenným zdrojom iných výživovo zaujímavých látok, ktoré by sa mali zohľadniť v budúcich výskumných a šľachtiteľských programoch.

Pod'akovanie: Vedecká publikácia vznikla s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“ ITMS 26220220180 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-15-0156 a APVV-15-0721.

Literatúra

- GARG, M., CHAWLA, M., CHUNDURI, V., KUMAR, R., SHARMA, S., SHARMA, N. K., KAUR, N., KUMAR, A., MUNDEY, J. K., SAINI, M. K., SINGH, S. P. (2016). Transfer of grain colors to elite wheat cultivars and their characterization. *Journal of cereal science*, 71, 138-144.
- HOFMAN, D. L., VAN BUUL, V. J., BROUNS, F. J. (2016). Nutrition, health, and regulatory aspects of digestible maltodextrins. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(12), 2091-2100.



3. HŘIVNA, L., ZIGMUNDOVÁ, V., BUREŠOVÁ, I., MACO, R., VYHNÁNEK, T., TROJAN, V. (2018). Rheological properties of dough and baking quality of products using coloured wheat. *Plant, Soil and Environment*, 64(5), 203-208.
4. CHEN, X. Q., NAGAO, N., ITANI, T., IRIFUNE, K. (2012). Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. *Food chemistry*, 135(4), 2783-2788.
5. INTERNATIONAL STANDARDS: ISO 10520. (1997). Determination of Starch Content – Ewers Polarimetric Method, Great Britain, BSI.
6. LACHMAN, J., MARTINEK, P., KOTÍKOVÁ, Z., ORSÁK, M., ŠULC, M. (2017). Genetics and chemistry of pigments in wheat grain—A review. *Journal of cereal science*, 74, 145-154.
7. MA, F., JI, T., BAIK, B. K. (2017). Quality characteristics of northern-style Chinese steamed bread prepared from soft red winter wheat flours with waxy wheat flour substitution. *Journal of Cereal Science*, 73, 99-107.
8. MARTINEK, P., JIRSA, O., VACULOVÁ, K., CHRPOVÁ, J., WATANABE, N., BUREŠOVÁ, V., KOPECKY, D., ŠTIASNA, K., VYHNÁNEK, T., TROJAN, V. (2014). Use of wheat gene resources with different grain colour in breeding. *Proceedings of the Tagungsband der*, 64, 1.
9. PENG, J., SUN, D., NEVO, E. (2011). Wild emmer wheat, 'Triticum dicoccoides', occupies a pivotal position in wheat domestication process. *Australian Journal of Crop Science*, 5(9), 1127.
10. PÉREZ, S., BERTOFT, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch:Stärke*, 62(8), 389-420.
11. RANILLA, L. G., KWON, Y. I., APOSTOLIDIS, E., SHETTY, K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource technology*, 101(12), 4676-4689.
12. RATNAYAKE, W. S., HOOVER, R., SHAHIDI, F., PERERA, C., JANE, J. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food chemistry*, 74(2), 189-202.
13. SHEVKANI, K., SINGH, N., BAJAJ, R., KAUR, A. (2017). Wheat starch production, structure, functionality and applications—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(1), 38-58.
14. SKYLAS, D. J., VAN DYK, D., WRIGLEY, C. W. (2005). Proteomics of wheat grain. *Journal of Cereal Science*, 41(2), 165-179.
15. TESTER, R. F., KARKALAS, J., QI, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of cereal science*, 39(2), 151-165.
16. WALLACE, T. C. (2011). Anthocyanins in cardiovascular disease. *Advances in Nutrition*, 2(1), 1-7.
17. ZANOLETTI, M., PARIZAD, P. A., LAVELLI, V., CECCHINI, C., MENESATTI, P., MARTI, A., PAGANI, M. A. (2017). Debranning of purple wheat: recovery of anthocyanin-rich fractions and their use in pasta production. *LWT*, 75, 663-669.
18. ZHANG, Z., ZHANG, S., YANG, J., ZHANG, J. (2008). Yield, grain quality and water use efficiency of rice under non-flooded mulching cultivation. *Field Crops Research*, 108(1), 71-81.

Kontaktné adresy: Mgr. Veronika Valková¹, RNDr. Hana Ďúranová, PhD.¹, Mgr. Jana Bilčíková¹, Ing. Alžbeta Žofajová, PhD.², RNDr. Michaela Havrlentová, PhD.^{2,3}, ¹ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Výskumné centrum AgroBioTech, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. ² Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovensko. ³ Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovensko. E-mail: veronika.valkova@uniag.sk, hana.duranova@uniag.sk, jana.bilcikova@uniag.sk, alzbeta.zofajova@nppc.sk, michaela.havrlentova@nppc.sk

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a
veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

Veterinárska sekcia





THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF AQUACULTURE: PROBIOTICS AND PLANT ESSENTIAL OILS AS FISH DIET ADDITIVES

Adriána Fečkaninová, Jana Koščová

Abstract: The present study reviews the role of plant essential oils and probiotics in the field of aquaculture. Many substances of natural origin prove their potential as antistress, antioxidant, antibacterial, antifungal and viral, appetite stimulator, potent immunomodulator and growth promoter. They reduce the chances of emergence of pathogens which may cause serious threat to fish health and environment. Yet the diseases, pathogens and pest can be treated with chemicals and antibiotics but due to their residual side effect and bio magnification in the body of fish forces the researchers to search suitable alternatives for healthy fish, environment and sustainable fish production.

Keywords: substances of natural origin, immunostimulators, application form, fish farming

Introduction

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2018) aquaculture is the fastest growing food production sector. A range of chemicals is used in fish farming and these may be categorized as disinfectants, antifoulants and veterinary medicines (Costello et al., 2001). Antibiotics, anaesthetics, antiparasitic agents, and vaccines are the most commonly used medicinal products (Kumar and Roy, 2017). However, the massive use of chemicals in aquaculture cause hazard to public health, either by the direct transfer of resistant bacteria from fish or aquaculture products to humans or by the transfer of resistance genes from the bacterial flora of fish to human pathogens (Okocha et al., 2018). That is why so important that current research is focused on finding new safe alternatives to antibiotics using mainly substances of natural origin, which would not reduce the quality of aquaculture products and at the same time do not risk the environmental contamination (Brunton et al., 2019). Probiotic microorganisms and plant essential oils are among the most interesting options for the replacement of synthetic drugs (Chuanhan and Singh, 2019; Hernández-Contreras and Hernández, 2020). Although the application of these alternatives to aquaculture is very promising, further studies are needed to gain more insight about their mechanisms of actions, to improve their stability in feed and to evaluate their impact on the environment and the host microbiota (Okocha et al., 2018).

The benefits of probiotics and essential oils in aquaculture: The benefits of probiotics in aquaculture include improved growth performance (Nath et al. 2019), feed value (Correa et al. 2018; Gao et al. 2018), improved functionality of the gastrointestinal tract (GIT), modulation of the GIT microbiota (Zheng et al., 2018), competition for iron, enzymatic contribution to digestion (Jang et al., 2019; Du et al., 2019; Zuo et al., 2019), inhibit adherence (Mohapatra et al., 2013), and colonization of pathogenic microorganisms in the gastrointestinal tract (Zheng and Wang, 2017; Chomwong et al., 2018) inhibition of virulence gene expression or quorum sensing (De la Fuente et al., 2015), increase hematological parameters, enhancement of immune responses (Adeshina, 2018; Liu et al., 2020), antiviral effect (Lakshmi et al., 2013), and improve water quality through modulation of the water microbiota (Pacheco-Vega et al., 2018; Correa et al., 2018).



Use of essential oils (EOs) has been widely disseminated over recent years, since many of them have antibacterial, antioxidant, antifungal, analgesic, anticancer, insecticide, spasmolytic, carminative, hepatoprotective, growth-promoting and cytotoxic activities, as well as activity against endoparasites and ectoparasites of animals and humans that are resistant to conventional drugs (Raut and Karuppaiyil, 2014; Sharifi-Rad et al., 2017; Soares et al., 2017). EOs are recognised for their anti-microbial activities and for their ability to affect both metabolic and immune health in different production animal species. Certain EOs have been shown to inhibit a number of important trout pathogens *in vitro* (Menanteau-Ledouble et al., 2015). They have also shown to impact on meat quality including physicochemical characteristics of fish fillet texture, colour and taste, often through their antioxidative activities (Hassoun and Coban 2017). In study Ceppa et al. (2018) the addition of EOs blend affected some physicochemical characteristics of trout fillets, including their resistance to oxidative damage and their weight loss (as liquid loss and water holding capacity) during the first period of storage, that are two important parameters related to product shelf life and susceptibility to spoilage.

Due to the volatility and susceptibility to conversion and degradation reactions of some of their components, the stability of the EOs is an important aspect to be considered in animal nutrition research, either during the diet preparation, storage or trial execution. The EOs may lose their biological activities and make the application of these products in animal production research limited. Different methods of adding the EOs to fish diets are reported in the literature such as mixing the EOs with an organic diluent (Ribeiro et al. 2016; Brum et al. 2017), phosphate-buffered saline (PBS) (Navarrete et al. 2010) or incorporation with some ingredients of the diet, such as defatted rice bran (Zheng et al. 2009). In most of the recent studies using natural EOs in fish diets (Diler et al. 2016; Hassaan and Soltan 2016; Sutuli et al. 2016; Zeppenfeld et al. 2016a,b), the EOs are generally used as a blend with a carrier oil or combined with other oils in the feed, commonly the lipidic fraction of the diet (i.e. fish oil, soybean oil, sunflower oil, and canola oil).

Stability of plant materials in the aquatic environment and digestibility in fish, and *in vitro* and *in vivo* toxicological tests need further investigations as prerequisites for their safe and efficacious application (Bulfony et al. 2015). The encapsulation process could be an effective and practical method for the use of probiotic bacteria and EOs in animal feeds, protecting the phytochemical from volatilization and deterioration during the manufacturing process, reducing the volatility and increasing the shelf life of the EOs, stability of probiotics viability, improving their stability and water solubility as well as their therapeutic efficacy.

Conclusion

The selection of substances of natural origin for aquaculture and their development for commercial use in fish farming is a multi-stage and multidisciplinary process requiring in the first stage basic and later applied research and assessment of its use in practice. In the first phase of research is important to select potential probiotics. It is assumed that the probiotics demonstrate a dominant ability to colonize the intestinal mucosa of fish even after *in vivo* application. The presence of a dominant bacterial strain in high concentrations in feed indicates its ability to grow successfully under given conditions and this strain can be expected to compete effectively for nutrients with pathogenic microorganisms. To confirm this assumption in the next stage, it is necessary to prepare a feed formula with the addition of selected strains of probiotics and essential oils with antimicrobial properties. The production of high-performance fish feed requires extensive research and development to obtain suitable types of feed with the right combination of amino acids, fatty acids, minerals and vitamins to meet the nutritional requirements of a particular species of fish. The expected benefit is also the study of



a combination of several natural substances, which can take advantage of its synergistic effect. Creating an effective alternative to antibiotics in aquaculture will require a thorough knowledge of their interactions, as well as the effect of the combination itself, which is conditioned by demanding studies. The use of natural substances as alternatives to antibiotics in fish culture systems is ecofriendly approach for a better tomorrow.

Acknowledgements: This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-19-0234.

References

1. Adeshina I. (2018) The effect of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary supplement on nonspecific immune response and disease resistance in juvenile common carp, *Cyprinus carpio*. *Int Food Res J* 25, 2345–2351.
2. Brum A, Pereira SA, Owatari MS, Chagas EC, Chaves FCM, Mouri-no JLP et al. (2017) Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture* 468: 235–243.
3. Brunton LA (2019) Identifying hotspots for antibiotic resistance emergence and selection, and elucidating pathways to human exposure: Application of a systems thinking approach to aquaculture systems. *Science of the Total Environment* 687 (2019) 1344–1356
4. Bulfon C, Volpatti D, Galeotti M (2015) Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research* 46: 513–551.
5. Ceppa F, Faccenda F, De Filippo C, Albanese D, Pindo M, Martelli R, Marconi P, Lunelli F, Fava F, Parisi G. (2018) Influence of essential oils in diet and life-stage on gut microbiota and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69:3, 318-333.
6. Correa, N.M., Bolivar Ramirez, N.C., Legarda, E.C., Rocha, J.S., Seiffert, W.Q. and Vieira, F.D.N. (2018) Dietary supplementation with probiotic and butyrate in the shrimp nursery in biofloc. *Boletim Do Instituto De Pesca* 44, e348.
7. Costello MJ, Grant A, Davies IM, Cecchini S, Papoutsoglou S, Quigley D, Saroglia M. (2001) The control of chemicals used in aquaculture in Europe. *Journal of Applied Ichthyology*. 17 (2001), 173-180.
8. De La Fuente, M. et al. (2015) Growth Inhibition of Bacterial Fish Pathogens and Quorum-Sensing Blocking by Bacteria Recovered from Chilean Salmonid Farms. In *Journal of Aquatic Animal Health*. 27, 112-122.
9. Diler O, Gormez O, Diler I, Metin S (2016) Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*.
10. Du, Y., Wang, B., Jiang, K., Wang, M., Zhou, S., Liu, M. and Wang, L. (2019) Exploring the influence of the surface proteins on probiotic effects performed by *Lactobacillus pentosus* HC-2 using transcriptome analysis in *Litopenaeus vannamei* midgut. *Fish Shellfish Immunol* 87, 853–870.
11. FAO. (2018) The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
12. Gao X, Zhang M, Li X, Han Y, Wu F, Liu Y. (2018) The effects of feeding *Lactobacillus pentosus* on growth, immunity, and disease resistance in *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish Shellfish Immunol* 78, 42–51.
13. Hassoun A, Coban OE. (2017). Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. *Trends Food Sci Technol*. 68:26–36.
14. Hernández-Contreras A, Hernández MD (2020) Application of aromatic plants and their extracts in aquaculture. *Feed Additives Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health*, 239-259
15. Chomwong S, Charoensapsri W, Amparyup P, Tassanakajon A. (2018) Two host gut-derived lactic acid bacteria activate the proPO system and increase resistance to an AHPND-causing strain of *Vibrio parahaemolyticus* in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Dev Comp Immunol* 89, 54–65.
16. Chuanhan A, Singh R. (2019) Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. *Symbiosis* 77, 99-113.
17. Jang, W.J., Lee, J.M., Hasan, M.T., Lee, B.-J., Lim, S.G. and Kong, I.-S. (2019) Effects of probiotic supplementation of a plant-based protein diet on intestinal microbial diversity, digestive enzyme activity, intestinal structure, and immunity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish Shellfish Immunol* 92, 719–727.
18. Kumar V, Roy S (2017) Aquaculture Drugs: Sources, Active Ingredients, Pharmaceutical Preparations and Methods of Administration. *J Aquac Res Development* 8: 510.
19. Lakshmi B, Viswanath B, Sai Gopal DVR. (2013) Probiotics as antiviral agents in shrimp aquaculture. *J Pathog*. Article ID 424123, p. 1–13.



20. Liu S, Wang S, Cai Y, Li E, Ren Z, Wu Y, Guo W, Sun Y. et al. (2020) Beneficial effects of a host gut-derived probiotic, *Bacillus pumilus*, on the growth, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano. *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture* 514.
21. Menanteau-Ledouble S, Krauss I, Santos G, Fibi S, Weber B, El-Matbouli M. (2015) Effect of a phytogenic feed additive on the susceptibility of *Onchorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida*. *Dis Aquat Organ*. 115:57–66.
22. Mohapatra, S. (2013) Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 97, 405-430.
23. Nath, S., Matozzo, V., Bhandari, D. and Faggio, C. (2019) Growth and liver histology of *Channa punctatus* exposed to a common biofertilizer. *Nat Prod Res* 33, 1591–1598.
24. Navarrete P, Toledo I, Mardones P, Opazo R, Espejo R, Romero J (2010) Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on intestinal bacterial microbiota of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and bacterial isolates. *Aquaculture Research* 41:667–678.
25. Okocha RC, Olatoye IO, Adedeji AB (2018) Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public Health Reviews* 39:21
26. Pacheco-Vega JM, Cadena-Roa MA, Leyva-Flores JA, Zavala-Leal OI, Perez-Bravo E, Ruiz-Velazco JMJ. (2018) Effect of isolated bacteria and microalgae on the biofloc characteristics in the Pacific white shrimp culture. *Aquacult Rep* 11, 24–30.
27. Raut JS, Karuppaiyl SM. (2014) A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod* 62: 250–264.
28. Ribeiro SC, Castelo AS, Silva BMP, Cunha AS, Proietti AA Jr, Oba-Yoshioka ET (2016) Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrassalmidae) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (*Lamiaceae*) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Acta Amazonica* 46: 99–106.
29. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, Tundis R, Sharifi-Rad M, Loizzo MR, Ademiluyi AO, Sharifi-Rad R, Ayatollahi SA, Iriti M. (2017) Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules* 22: 70.
30. Soares BV, Neves LR, Ferreira DO, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EC, Gonçalves RA, Tavares-Dias M. (2017) Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (*Verbenaceae*). *Vet Parasitol* 234: 49–56.
31. Sutili FJ, Velasquez A, Pinheiro CG, Heinzmann BM, Baldisserotto B, Gatlin DM III (2016) Evaluation of *Ocimum americanum* essential oil as an additive in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Fish & Shellfish Immunology* 56: 155–161.
32. Zeppenfeld CC, Hernandez DR, Santinon JJ, Heinzmann BM, da Cunha MA, Schmidt D et al. (2016a) Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition* 22: 933–940.
33. Zeppenfeld CC, Saccol EMH, Pires TS, Salbego J, Koakoski G, Santos AC et al. (2016b) *Aloysia triphylla* essential oil as food additive for *Rhamdia quelen* – stress and antioxidant parameters. *Aquaculture Nutrition*.
34. Hassaan MS, Soltan MA (2016) Evaluation of essential oil of fennel and garlic separately or combined with *Bacillus licheniformis* on the growth, feeding behaviour, hemato-biochemical indices of *Oreochromis niloticus* (L.) fry. *Journal of Aquaculture Research & Development* 7: 422.
35. Zheng, X., Duan, Y., Dong, H. and Zhang, J. (2018) Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* on growth performance, digestive enzymes and gut morphology of *Litopenaeus vannamei*. *Prob Anti Prot* 10, 504–510.
36. Zheng CN, Wang W. (2017) Effects of *Lactobacillus pentosus* on the growth performance, digestive enzyme and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquacult Res* 48, 2767–2777.
37. Zheng ZL, Tan JYW, Liu HY, Zhou XH, Xiang X, Wang KY (2009) Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 292: 214–218.
38. Zuo ZH, Shang BJ, Shao YC, Li, WY, Sun JS. (2019) Screening of intestinal probiotics and the effects of feeding probiotics on the growth, immune, digestive enzyme activity and intestinal flora of *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol* 86, 160–168.

Contact address: Adriána Fečkaninová, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia, Department of Pharmaceutical Technology, Pharmacognosy and Botany, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia. E-mail: adriana.feckaninova@uvlf.sk. MVDr. Jana Koščová, PhD. Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia. Email: jana.koscova@uvlf.sk



***PENICILLIUM CHRYSOGENUM* AKO KONTAMINANT SLEPAČÍCH VAJEC**

***PENICILLIUM CHRYSOGENUM* AS THE CONTAMINANT OF HEN'S EGGS**

Pavlina Jevinová, Soňa Demjanová, Ivana Regecová, Monika Pipová, Ivona Kožárová

Abstract: We tested 33 isolates of *Penicillium* spp. isolated from mouldy chicken eggs. From the total number of tested isolates were confirmed as *Penicillium chrysogenum* 4 isolates (12 %). All were confirmed to penicillin production. The results of this study show that *P. chrysogenum* as a natural part of biotopes and at the same time a frequent contaminant of food can be a source of contamination of chicken eggs as well. The results confirmed that *P. chrysogenum* as a chicken egg contaminant can be not only a source of mycotoxins but also penicillins, which poses a health risk to the consumer.

Keywords: *Penicillium chrysogenum*, PCR, micromorphology, macromorphology

Úvod

Kontaminácia potravín mikroskopickými vláknitými hubami (MVH) a ich následné kazenie predstavuje jeden z hlavných problémov potravinárskeho priemyslu (Phillips et al. 2012). Potraviny predstavujú vhodnú živnú pôdu pre rozvoj mnohých druhov mikroskopických vláknitých húb. Za jeden z najpočetnejších a najbežnejšie sa vyskytujúcich rodov mikroskopických vláknitých húb je považovaný rod *Penicillium*. V súčasnosti je známych okolo 200 druhov patriacich do daného rodu. Zástupcovia sa nachádzajú v rôznych biotopoch, od pôdy cez vegetáciu až po vzduch (Sagar a Naraián 2018). Jednotlivé druhy patriace do rodu *Penicillium* sú považované za dekompozítory organického materiálu, podieľajú sa na hnilobných procesoch prebiehajúcich na potravinách a môžu produkovať širokú škálu mykotoxínov. Naopak niektoré druhy si pre svoj pozitívny vplyv našli uplatnenie v potravinárskom priemysle. Využívajú sa na výrobu špeciálnych syrov (napr. Roquefort, Camembert) (Visagie et al. 2014). *P. chrysogenum* možno označiť ako jeden z najviac skúmaných druhov patriacich do rodu *Penicillium* (Guzmán-Chávez et al. 2018). Svoje významné postavenie si získal pre svoju schopnosť syntetizovať β -laktamátové antibiotiká (napr. benzylpenicilín a izopenicilín N) (Martín et al. 2010).

Materiál a metódy

Celkovo sme testovali 33 izolátov *Penicillium* spp. získaných z plesnivých slepačích vajec. Identifikáciu sme realizovali na základe mikroskopických a makroskopických znakov a výsledkov biochemických testov. Jednotlivé izoláty sme identifikovali ako *P. chrysogenum* na základe zhody sledovaných znakov a vlastností so znakmi a vlastnosťami referenčného kmeňa *P. chrysogenum* CCM F-362 (Česká sbírka mikroorganizmů, Masaryková univerzita Brno, Česká republika) a popisov uvádzaných v prácach autorov Frisvad a Samson (2004) a Pitt a Hocking (2009).

Zároveň všetky testované kmene boli podrobené molekulárnej identifikácii. Na potvrdenie fenotypovej identifikácie izolátov *P. chrysogenum* sme použili molekulárnu metódu PCR. DNA bola izolovaná z 33 testovaných izolátov a referenčného kmeňa kolónkovým izolačným kitom E.Z.N.A.® Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek, USA). Čistota a koncentrácia DNA bola detegovaná použitím spektrometra BioSpec nanometer (SHIMADZU, Rakúsko). Získaný supernatant bol použitý ako zdroj DNA v PCR reakciách. Oblasť rRNA



génu bola amplifikovaná v Thermal Cycler (Techne, Cambridge, UK). Primery použité na amplifikáciu špecifickej časti *benA* génu kódujúceho tvorbu beta tubulínu, *benA F* (5'-CATGTGAGTACAATGACTGGGAATCTT-3') a *benA R* (5'-TCGACCAGAACGGCACG-3') boli syntetizované a použité podľa (Browne, Fisher, Henk 2013).

PCR reakcia prebehla za použitia HotFirepol Mastermixu® (Amplia s.r.o., Slovakia), v týchto krokoch: počiatočná denaturácia pri 95 °C / 12 minút, potom nasledovalo 30 cyklov denaturácie pri 95 °C počas 1 minúty, annealingu pri 57 °C / 1 minútu a extenzie pri 72 °C / 2 minút, finálna extenzia sa vykonala pri 72 °C počas 10 minút. Výsledný produkt mal veľkosť cca 111 bp. PCR produkty boli následne vizualizované UV transilumináciou použitím Mini Bis Pro® (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Izrael). PCR produkty boli sekvenované Sangerovou metódou (GATC Biotech AG, Nemecko). Získané sekvencie študovaných kmeňov boli predložené do databázy GenBank-EMBL, kde sa hľadala homológia k sekvenciám dostupným v databáze GenBank-EMBL pomocou programu BLAST (softvérový balík NCBI).

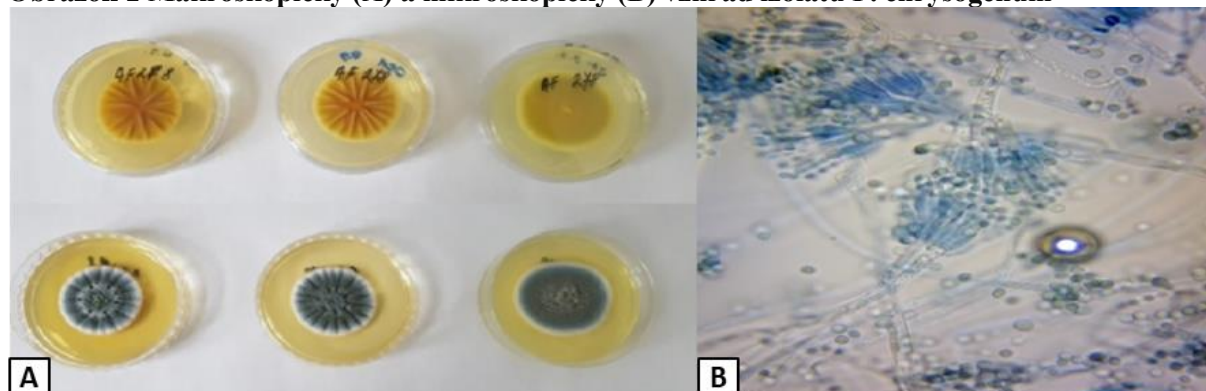
Jedným zo znakov *P. chrysogenum* je produkcia penicilínu, ktorá bola fenotypovo potvrdená kultivačnou metódou s bakteriálnymi kmeňmi citlivými na penicilín. Každý potvrdený kmeň *P. chrysogenum* sme naočkovali na 4 platne Sabouradovho agaru a inkubovali 7 dní pri teplote 25 °C. Po uplynutí stanoveného času sme preliali povrch agarových médií s porastenými kolóniami *P. chrysogenum* kultivačnými médiami inokulovanými bakteriálnymi kmeňmi citlivými a rezistentnými na penicilín. Ako testovacie kmene sme použili potravinové izoláty *Staphylococcus aureus*. Citlivosť týchto kmeňov voči penicilínu bola potvrdená fenotypovo a genotypovo. 24 hodinové kultúry uvedených kmeňov boli inokulované do BHI agaru v 1 %-tnej koncentrácii. Ako ďalšie kmene na potvrdenie produkcie penicilínu u izolátov *P. chrysogenum* sme použili *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 a *Escherichia coli* ATCC 1341. Kmeň *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 sa vyznačuje citlivosťou na beta-laktamátové antibiotiká a *Escherichia coli* ATCC 1341 na chinolóny. Testovacie média (Testagar pH 8, Merck, Nemecko) s uvedenými kmeňmi boli pripravené podľa pokynov pre screeningový test na stanovenie reziduí antibiotík s použitím piatich bakteriálnych kmeňov – metóda STAR („Úradné metódy laboratórnej diagnostiky“ nedatované). Preliate platne sme po stuhnutí inkubovali v termostate pri teplote 37 °C počas 24 hodín. Po 24 hodinách inkubácie sme sledovali tvorbu čírych zón inhibície na médiách s bakteriálnymi kultúrami okolo kolónií testovaných izolátov *P. chrysogenum*. Tvorba inhibičných zón u baktérií citlivých na penicilín indikuje produkciu penicilínu.

Výsledky a diskusia

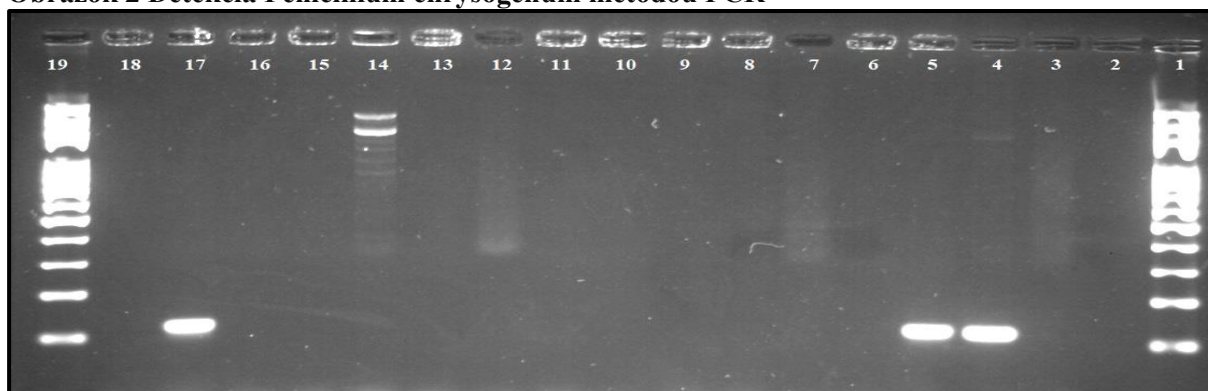
Z 33 testovaných izolátov iba 4 izoláty boli potvrdené na základe výsledkov fenotypovej identifikácie (makroskopické, mikroskopické (Obr. 1) a biochemické znaky) a PCR metódy (Obr. 2) ako druh *P. chrysogenum*.

Huby sú pozoruhodné organizmy, ktoré ľahko produkujú široký rad prírodných produktov, ako sekundárne metabolity (Calvo et al. 2002). Ako uvádzajú Frisvad a Samson (2004) medzi typické extrolity produkované *P. chrysogenum* patria penicilíny, roquefortín C a meleagrín, chrysogín, xantocilíny, sekalonové kyseliny, sorbicilín a PR-toxín. Prírodné izoláty *P. chrysogenum*, produkujú okrem roquefortínu C aj roquefortín D a stopy glandikolínu A a B (Vinokurova et al. 2003). Niektoré z nich majú biochemické využitie ako napr. výroba penicilínu a xantocilínu a iné predstavujú pre človeka zdravotné riziko ako sekalonové kyseliny, roquefortín C a PR-toxín. *P. chrysogenum* je spájaný hlavne s produkciou penicilínu (Kopke et al. 2013). Na základe tejto skutočnosti možno konštatovať, že v prípade kontaminácie potravín týmito druhmi existuje potenciálne riziko prítomnosti penicilínu v potravinách ako výsledok metabolickej činnosti týchto mikroorganizmov.

Obrázok 1 Makroskopický (A) a mikroskopický (B) vzhľad izolátu *P. chrysogenum*



Obrázok 2 Detekcia *Penicillium chrysogenum* metódou PCR



Dráhy 1, 19 – 100 bp štandarda; dráhy 2, 3, 6 až 16 – testované izoláty *Penicillium* spp.; dráha 4 (AF 278) a 5 (AF 361) – izolát *P. chrysogenum* (111 bp); dráha 17 – referenčný kmeň *P. chrysogenum* CCM F-362 (111 bp); dráha 18 – negatívna kontrola.

Ako vplýva z výsledkov tabuľky č. 1 u všetkých identifikovaných izolátov *P. chrysogenum*, vrátane referenčného kmeňa, bola potvrdená produkcia penicilínu. Okolo kolónií izolátov *P. chrysogenum* sa na médiách s baktériami citlivými na penicilín (*S. aureus* K 70 a *K. rhizophila* ATCC 9341) vytvorila číra zóna inhibície. *K. rhizophila* ATCC 9341 vykazovala najväčšie zóny inhibície.

Prítomnosť reziduí v potravinách je však z akéhokoľvek dôvodu považovaná za nežiaducu, pretože konzumácia takýchto potravín by mohla viesť k vyvolaniu alergických reakcií, vzniku polyrezistencie alebo rezistencie u mikroorganizmov napádajúcich ľudský organizmus a k zníženiu prirodzenej imunity organizmu (Shoemaker et al. 2001).

Tab. 1 Veľkosť inhibičných zón na tuhom médiu s testovacími bakteriálnymi kmeňmi

Izolát	Priemer inhibičnej zóny/ priemer kolónie izolátov <i>P. chrysogenum</i> (mm)			
	<i>S. aureus</i> K 70	<i>S. aureus</i> L 39	<i>K. rhizophila</i> ATCC 9341	<i>E. coli</i> ATCC 1341
CCM F-362	41/28	0/30	62/29	0/30
AF 278	45/30	0/31	55/31	0/32
AF 281	49/29	0/33	73/31	0/35
AF 284	47/31	0/32	83/30	0/31
AF 361	60/33	0/35	72/35	0/33

Záver

Záverom môžeme konštatovať, že *P. chrysogenum*, ako prirodzená súčasť biotopov a zároveň častý kontaminant potravín, môže byť zdrojom kontaminácie aj slepačích vajec.



Výsledky ďalej potvrdili, že *P. chrysogenum*, ako kontaminant slepačích vajec, môže byť zdrojom nielen mykotoxínov ale aj penicilínov, čo predstavuje zdravotné riziko pre konzumenta.

Pod'akovanie: Táto práca bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-18-0039.

Literatúra

1. CALVO, A. M. et al. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. In *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2002, vol. 66, no. 3, p. 447–459.
2. FRISVAD, J. C – SAMSON, R. A Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium* A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. In *Studies in Mycology*. ISSN 0166-0616, 2004, vol. 49, p. 1–175.
3. GUZMÁN-CHÁVEZ, F. et al. Engineering of the Filamentous Fungus *Penicillium chrysogenum* as Cell Factory for Natural Products. In *Frontiers in microbiology*. [online]. 2018, vol. 9, 25 p.
4. KOPKE, K. et al. Members of the *Penicillium chrysogenum* Velvet Complex Play Functionally Opposing Roles in the Regulation of Penicillin Biosynthesis and Conidiation. In *Eukaryotic Cell*. ISSN 1535-9786, 2013, vol. 12, no. 2, p. 299–310.
5. MARTÍN, J. F. – ULLÁN, R. V. – GARCÍA-ESTRADA, C. Regulation and compartmentalization of β -lactam biosynthesis. In *Microbial Biotechnology*. 2010, vol. 3, p. 285–299.
6. PHILLIPS, C. A. – LAIRD, K. – ALLEN, S. C. The use of Citri-V™® — An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and on food. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2012, vol. 47, p. 310–314.
7. PITT, J. I. – HOCKING, A. D. *Penicillium* and Related Genera. In *Fungi and Food Spoilage*. Boston : Springer, MA, 2009. ISBN 978-0-387-92207-2. p. 169–273.
8. SAGAR, S. S. – NARAIAN, R. Biosynthesis of Nanoparticles by *Penicillium* and Their Medical Applications. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Amsterdam: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-444-63501-3, p. 235–246.
9. SHOEMAKER, N. et al. Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 0099-2240, 2001, vol. 67, p. 561–568.
10. Úradné metódy laboratórnej diagnostiky, [online]. [cit. 2019-08-05]. Dostupné na internete: <https://www.svps.sk/dokumenty/zakladne_info/R_25.pdf>.
11. VINOKUROVA, N. G. – BOICHENKO, L. V. – ARINBASAROV, M. U. Formation of alkaloids from *Penicillium* species fungi during growth on wheat kernels. In *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* ISSN 0555-1099, 2003, vol. 39, p. 457–460.
12. VISAGIE, C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. In *Studies in Mycology*. ISSN 0166-0616, 2014, vol. 78, p. 343–371.

Kontaktné adresy: MVDr. Pavlína Jevinová, PhD., Mgr. Soňa Demjanová, MVDr. Ivana Regecová, PhD., doc. MVDr. Monika Pipová, PhD., doc. MVDr. Ivona Kozárová, PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk, sona.demjanova@student.uvlf.sk, ivana.regecova@uvlf.sk, monika.pipova@uvlf.sk, ivona.kozarova@uvlf.sk



ÚČINOK PRÍDAVKU FERMENTOVANÉHO KRMIVA VO VÝŽIVE BROJLEROV NA FYZIKÁLNO - CHEMICKÉ ZMENY VO SVALOVINÁCH EFFECT OF FERMENTED FEED ADDITION IN THE NUTRITION OF BROILERS TO PHYSICO - CHEMICAL CHANGES IN MUSCLES

Beáta Koréneková, Dominika Petriková, Slavomír Marcinčák, Dana
Marcinčáková, Tatiana Klemková

Abstract: This study deals with the influence of fermented feed on ageing processes in the chicken muscles of Cobb breed. In the experiment, the control group (CG) was fed with commercial feed mixtures (CFM). In the experimental group (EG), 10% fermented feed (*Mortierella alpina* CCF286) was added to CFM. After slaughtering of chicken, lactic acid (LA), phosphates (P), and pH were determined on 1st, 3rd, 7th day of storing at 4° C in breast and thigh muscle. The results of the study show that the levels of LA in the EG was higher on day 1 of ageing compared to CG. The pH value reflected the dynamics of changes in LA during ageing. The effect of fermented feed on LA was found in the early stages of ageing process.

Keywords: chicken, breast, thigh, muscle, physico-chemical changes

Úvod

Údaje o globálnej spotrebe potravín (OECD, 2019) naznačujú, že mäso a mäsové výrobky sú aj budú jednou z kľúčových zložiek ľudskej stravy. Medzi potraviny, ktorých konzumácia vo svete najrýchlejšie rastie patrí mäso hydiny. Spôsobené je to z dôvodu nízkych nákladov na chov hydiny a zmenou spotrebiteľských preferencií. Z pohľadu výživových vlastností mäso kurčiat je bohatým zdrojom bielkovín a esenciálnych aminokyselín. Poskytuje tiež vitamíny B6 a B12 a minerálne látky ako železo, zinok a fosfor (Soriano-Santos, 2010). Ľahkú stráviteľnosť ovplyvňuje nízky obsah lipidov, v ktorých najviac zastúpené sú kyselina palmitová a steárová (Brady, 2013). Na produkciu a kvalitu hydinového mäsa vplývajú genetické faktory, živočíšny druh, plemeno, pohlavie, vek, výživa i nové trendy zavádzania alternatívnych produktov, ktoré zvyšujú úžitkovosť hydiny, ale v konečnom dôsledku zabezpečia kvalitu a zdravotnú bezpečnosť výsledného produktu. Medzi takéto možné alternatívy môžeme zaradiť využitie probiotík, prebiotík, éterických olejov, včelích produktov, enzymatických preparátov, nových alternatívnych rastlín a krmív (Haščík et al., 2014). Jednou z alternatív je aj použitie kultivácie vláknitých húb pomocou biotechnológie, a to fermentáciou na tuhej fáze. Atraktivnosť týchto kultivácii spočíva vo využívaní ľahko dostupných substrátov na báze odpadových produktov poľnohospodárskych výrobní. Výhodou je eliminácia antinutričných zložiek a čiastočná hydrolýza biopolymérov, čo môže vplývať na produkčné parametre pri výkrme hydiny (Čertík et al., 2009). Kvalita mäsa kurčiat závisí aj od fyzikálnych a biochemických zmien svaloviny po usmrtení. Premena svaloviny na mäso je tak významný kontrolný bod v stanovení kvality mäsa (Tougan et al., 2013). Cieľom práce bolo preto zistiť vplyv fermentovaného krmiva na zmeny hladín kyseliny mliečnej, fosfátov a pH v priebehu zrecieho procesu mäsa hydiny.

Materiál a metódy

Do pokusu bolo zaradených 100 ks kurčiat mäsového hybridu Cobb 500, chované na hľbokej podstielke. Kontrolná skupina (KS) bola kŕmená komerčnými kŕmivými zmesami (KKZ) BR1



(1. - 11.), BR2 (11. - 30.) a BR3 (30. - 39.) deň veku. V pokusnej skupine (PS) bola 2x denne kurčatám od 10. dňa výkrmu znížená KKZ o 10% a nahradená 10 % prídavkom fermentovaného krmiva, ktoré obsahovalo vláknitú hubu triedy *Zygomycetes*, kmeň *Mortierella alpina* CCF2861. Prístup k vode a krmivu mali kurčatá *ad libitum*. Na 40. deň pokusu boli kurčatá usmrtené a jatočne opracované. Následne bol vykonaný odber prsnej (10) a stehennej (10) svaloviny. Vzorky boli uskladnené v chladničke pri teplote $4\pm 2^{\circ}\text{C}$. Fyzikálno - chemické parametre boli stanovené 24 h po porážke hydiny (1. deň pokusu), na 3. deň a na 7. deň pokusu. Kyselina mliečna a fosfáty boli extrahované zo vzorky svaloviny destilovanou vodou. Na stanovenie hodnôt kyseliny mliečnej a fosfátov v hydinovom mäse na Elektroforetickom analyzátoe (EA 102, výrobcu Villa Labeco s.r.o., SR) bola použitá metóda na kontrolu zrenia mäsa (Koréneková et al., 2014, Mačanga et al., 2011). Použitý bol vodiaci elektrolyt: 10 mmol HCl + β -alanín + 0,1% m-HEC a zakončujúci elektrolytu: 5 mmol kyselina kaprónová + 5 mmol TRIS. Vzorky boli analyzované vodivostným detektorom. Výsledky analýz boli vyhodnotené programom ITP Pro 32 (KasComp, Bratislava, SR) a udávané v g/100g vzorky. Hodnoty pH boli stanovené pomocou sklenenej elektródy vo vodnom extrakte svaloviny pH-metrom (InoLab WTW 720). Štatistická analýza bola vykonaná v programe Studentov *t* – test, Microsoft Excel, (verzia 2013, Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA) použitím Studentovho *t*-testu.

Výsledky a diskusia

Pri hodnotení *dynamiky* kyseliny mliečnej (KM) v *prsnej svalovine* v kontrolnej skupine (KS) bol pozorovaný na 3. deň uskladnenia svaloviny signifikantný vzostup ($p\leq 0,001$) hladín KM, kým na 7. deň pokles ($p\leq 0,05$). V pokusnej skupine (PS) bol zistený podobný priebeh dynamiky KM, avšak menej výrazný. V *stehennej svalovine* neboli signifikantné zmeny hladín KM.

Dynamika kyseliny mliečnej v celom časovom intervale zrecieho procesu v mäse odráža kvantitatívnu premenu glykogénu na kyselinu mliečnu, kde v počiatočnej fáze je jej nárast najvýraznejší (Kopřiva a Steinhauser, 1992). Pri *porovnaní KM medzi skupinami* bolo zistené, že v PS po prídavku fermentovaného krmiva bola signifikantne ($p\leq 0,001$) vyššia koncentrácia KM v prsnej svalovine ($1,12\pm 0,46$) v porovnaní s KS ($0,84\pm 0,21$), podobne mierne vyššia bola aj v stehennej svalovine. V ďalšie dni pokusu tento jav už nebol zaznamenaný. Počas celého priebehu uskladnenia boli namerané vyššie koncentrácie KM v prsnej než stehennej svalovine. Vyššie hodnoty a výraznejšiu dynamiku KM v prsnej svalovine než stehennej pokusných kurčiat je možné v pokuse vysvetliť tým, že prsná svalovina obsahuje väčšie množstvo glykogénu než stehenná (Balyte et al., 1998). Hodnoty svalového glykogénu a súvisiace genetické prejavy u kurčiat môžu tak ovplyvňovať ich kvalitu (Talpur et al., 2018).

Tab. 1 Hladiny kyseliny mliečnej, fosfátov (g/100g vzorky) a hodnoty pH v svalovine kurčiat

Parameter	Skupiny	Svalovina	1. deň	3. deň	7. deň
Kyselina mliečna	Kontrola	Prsná	$0,84\pm 0,21$	$1,69\pm 0,49^{***}$	$1,27\pm 0,26^*$
		Stehenná	$0,77\pm 0,20$	$0,90\pm 0,25$	$0,75\pm 0,14$
	FK	Prsná	$1,12\pm 0,46^{+++}$	$1,44\pm 0,28^+$	$1,20\pm 0,24$
		Stehenná	$0,84\pm 0,19$	$0,66\pm 0,23^+$	$0,60\pm 0,16$
Fosfáty	Kontrola	Prsná	$0,62\pm 0,09$	$1,31\pm 0,32^{***}$	$0,98\pm 0,23^*$
		Stehenná	$0,81\pm 0,32$	$0,87\pm 0,33$	$0,70\pm 0,16$
	FK	Prsná	$0,54\pm 0,17^{++}$	$1,21\pm 0,40^{***+++}$	$0,89\pm 0,16^*$
		Stehenná	$0,61\pm 0,23$	$0,72\pm 0,14$	$0,44\pm 0,14^{++}$
pH	Kontrola	Prsná	$5,68\pm 0,17$	$5,48\pm 0,10^{**}$	$5,65\pm 0,30^*$
		Stehenná	$6,06\pm 0,12$	$5,76\pm 0,16^{***}$	$5,99\pm 0,23^*$
	FK	Prsná	$5,67\pm 0,08$	$5,59\pm 0,14$	$5,72\pm 0,08^{*++}$
		Stehenná	$6,11\pm 0,24$	$5,19\pm 1,48^{***}$	$6,04\pm 0,24^{***}$



Signifikantné zmeny medzi dňami pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnou skupinou na hladine: + $p \leq 0,05$; ++ $p \leq 0,01$; +++ $p \leq 0,001$

Pri posudzovaní *dynamiky fosfátov (P)* v *prsnej svalovine* v KS bol zistený signifikantný vzostup ($p \leq 0,001$) na 3. deň ($1,31 \pm 0,32$) oproti začiatku pokusu ($0,62 \pm 0,09$). Podobný signifikantný vzostup ($p \leq 0,001$) hladín P bol na 3. deň pozorovaný aj v PS po prídavku fermentovaného krmiva ($1,21 \pm 0,40$) s následným signifikantným poklesom ($p \leq 0,05$) na 7. deň pokusu ($0,89 \pm 0,16$). V *stehennej svalovine* oboch skupín (KS aj PS) bol nárast hladín na 3. deň pokusu menej výrazný. Koncentrácia P bola nižšia v PS než KS počas celého pokusu.

V prípade *dynamiky hodnôt pH* v *prsnej svalovine* bol na 3. deň pokusu v KS pozorovaný signifikantný ($p \leq 0,01$) pokles ($5,48 \pm 0,10$). Na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,05$) vzostup hodnôt pH ($5,65 \pm 0,35$) oproti 3. dňu pokusu. Podobný signifikantný vzostup ($p \leq 0,05$) hodnôt pH ($5,72 \pm 0,08$) bol pozorovaný aj v PS na 7. deň v *prsnej svalovine*. V *stehennej svalovine* v KS skupine bol zistený signifikantný ($p \leq 0,001$) pokles hodnôt pH na 3. deň ($5,76 \pm 0,16$) oproti 1. dňu ($6,06 \pm 0,12$), kým na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,05$) vzostup hodnôt pH ($5,99 \pm 0,23$). V *stehennej svalovine* v PS bol zistený signifikantný ($p \leq 0,001$) pokles hodnôt pH na 3. deň ($5,19 \pm 1,48$) oproti 1. dňu ($6,11 \pm 0,24$), kým na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,05$) vzostup hodnôt pH ($6,04 \pm 0,24$). Hodnoty pH boli ovplyvnené KM a odrážali jej dynamiku v celom priebehu skladovania mäsa. Pri porovnávaní hodnôt pH navzájom medzi KS a PS, tak hodnota pH bola signifikantne ($p \leq 0,01$) vyššia v PS na 7. deň pokusu. V priebehu uskladnenia boli zistené vyššie hodnoty pH v *stehennej svalovine* ako v *prsnej svalovine*.

Svalový glykogén je významný faktor vplývajúci na zmeny hodnôt pH po usmrtení kurčiat, ale aj fyzikálnych vlastností mäsa, ako je schopnosť zadržiavať vodu, ich farba a pevnosť mäsa (Berri et al., 2008). Pokles hodnôt pH po usmrtení je spôsobený postupnou premenou glykogénu na kyselinu mliečnu (Sheffler et al., 2011), pričom hodnota pH 24 h klesá na 5,4–5,7 (Maltib et al., 2003). Rôznorodosť v kvalite mäsa medzi jednotlivými svalmi vyplýva zo zastúpenia rôznych typov svalových vlákien, ich rozdielnych kontraktálnych, metabolických, fyziologických chemických a morfológických charakteristík (Realini et al., 2013). Kvalitu mäsa ovplyvňujú aj chladiarenské, mraziarenské teploty a doba skladovania. Maximálna doba pre skladovanie a chemické ukazovatele hydínového mäsa nie sú stanovené, čo dokáže v značnej miere ovplyvniť biochemické zmeny prebiehajúce v mäse kurčiat (Tkáčová a Angelovičová, 2013).

Záver

Z výsledkov prezentovanej štúdie vyplýva, že prídavok fermentovaného krmiva za použitia vláknitej huby triedy *Zygomycetes*, kmeň *Mortierella alpina* CCF2861 do komerčnej krmnej zmesi pozitívne ovplyvnil sledované fyzikálno - chemické parametre, ktoré sa menili počas zrenia mäsa pokusných brojlerov.

Pod'akovanie: Táto práca bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

Literatúra

1. Balsyte, G., Turek, P., Nagy, J., Cabadaj, R. 1998. Vplyv teploty na dynamiku tvorby kyseliny mliečnej v mäse hydiny, *Hygiena Alimentorum* XIX, Košice, 26-28. 10. 1998, s. 25-26.
2. Berri, C., J. Besnard, Relandeau, C: 2008. Increasing dietary lysine increases final pH and decreases drip loss of broiler breast meat. *Poult. Sci.* 87:480-484.
3. Brady, J.W, 2013. *Introductory food chemistry*. Ithaca: Comstock Publishing Associates, 2013, 638p.
4. Čertík, M., Adamechová, Z., Masrnová, S., Šajbidor, J.: Cereal – based bioproducts containing polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technology*, 2009, 21, pp. 250-253



5. Dadgar, S., Crowe, T.G., Classen, J.M., Wats, P., Shand, P.J.: Broiler chicken responses to cold stress during simulated transport before slaughter, *Poultry Science*, 91, 6, 2012, pp. 1454-1464.
6. Haščík, P., Bobko, M., Weis, J., Čuboň, J.: Spracovanie hydiny a minoritných živočíšnych produktov, SPÚ Nitra, 2014, ISBN 978-80-552-1154-1.160p.
7. Koréneková B, Nagy J, Smulders FJM, Paulsen, P., Mačanga, J., Popelka, P., Marcinčák, S., Korének, M. 2014: Lactic acid concentration and pH values in muscles of European brown hare, In: Trends in game meat hygiene, From forest to fork, Edited by: Paulsen, P., Bauer, A., Smulders, F. J. M. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2014, 400p.
8. Kopřiva, V., Steinhäuser, L.: Průběh zrání vakuově baleného masa. *Prům. Potr.* 1, 1992,13-14.
9. Mačanga, J., Koréneková, B., Nagy, J., Marcinčák, S., Popelka, P., Kožárová, I., Korének, M. 2011. Post-mortem changes in the concentration of lactic acid, phosphates and pH in the muscles of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) according to the perimortal situation. *Meat Science*. 2011, 88, 4, pp. 701-704.
10. Maltib, C., Balcerzk, D., Tilley, R., Delday, M.: Determinants of meat quality: tenderness. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2003, vol.62, pp. 337-347.
11. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2019). Meat consumption (indicator) [homepage on the Internet]. Organization for Economic Co-operation and Development. Retrieved from <https://data.oecd.org/agrou tput/meat-consu mption. htm>
12. Realini, C.E., Vénien, A., Gou, P., Gatellier, P., Pérez-Juan, M., Danon, J., Astric, T. 2013. Characterization of Longissimus thoracis, Semitendinosus and Masseter muscles and relationships with technological quality in pigs. *Meat Sci*, 2013, 94, pp. 408-416.
13. Scheffler, T. L., S. Park, and D. E. Gerrard. 2011. Lessons to learn about *postmortem* metabolism using the AMPK γ 3 R200Q mutation in the pig. *Meat Sci.* 89:244-250.
14. Soriano-Santos, J.: Chemical composition and nutritional content of raw poultry meat, In: Handbook of Poultry Science and Techn. 1: Ed: I. Guerrero-Legarreta, Y.H. Hui Copyright © 2010 John Wiley & Sons, Inc., pp.489.
15. Talpur, M.Z., Abdulwahid, A.M., Yan, S., Tao, Li, Ahmed, I., Liu, L., Wang, K., Li, Q. , Dou,T., Li, Z., Ge, Ch., Jia, J.: Chicken meat quality; association with different gene expression, physiochemical properties and muscle glycogen, *Pak. J. Agri. Sci.*, Vol. 55(4), 979-994; 2018
16. Tkáčová, J., Angelovičová, M. (2013): Aetheroleum and fat oxidation of chicken meat. In *Potravinárstvo*, roč. 7, č. 1, s. 76-79. ISSN 1337-0960.
17. Tougan, P.U., Dahouda, Ch., Salifou, F.A., Ahounou, S.G.A., Kpodekon, M.T., Mensah, G.A., Thewis, A., Karim, I.Y.A. 2013. Conversion of chicken muscle to meat and factors affecting chicken meat quality: a review: *Int. J. Agron. Agricul. Res.*, 3, 8, 2013, pp. 1-20.

Kontaktné adresy: Beáta Koréneková, Dominika Petriková, Slavomír Marcinčák, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: beata.korenekova@gmail.com, dominika.petrikova@gmail.com, slavomir.marcincak@uvlf.sk. Dana Marcinčáková, Katedra farmakológie a toxikológie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: dana.marcincakova@uvlf.sk Tatiana Klempová, Slovenská technologická univerzita, Ústav biotechnológie, Vazovova 5, 812 43, Bratislava, Slovenská republika. E-mail: tatiana.klempova@stuba.sk



VPLYV ÚPRAVY KŔMNEHO REŽIMU NOSNÍC NA PRÍTOMNOSŤ INHIBIČNÝCH LÁTOK VO VAJCIACH EFFECT OF MODIFICATION OF THE LAYING HEN FEEDING REGIME ON THE PRESENCE OF INHIBITORY SUBSTANCES IN EGGS

Ivona Kožárová, Daniela Juščáková, Slavomír Marcinčák

Abstract: The aim of this work was to evaluate the growth inhibition of test strains of the Premi®Test, Explorer 2.0 test and Screening Test for Antibiotic Residues (STAR method) after examination of eggs of laying hens fed with a commercial basic feed mixture without and with the addition of feed fermented by the low filamentous fungal strain *Mortierella alpina* CCF 2861 (10 %, 15 %), humic substances (1 %) and an enzyme preparation (0.25 %). The results detected by all the above microbial inhibition tests were comparable, with the exception of humic eggs in which the addition of humic substances into the feed mixture caused an increase in the sizes of the inhibition zones on the *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953 test plates and thus confirmed their anti-microbial properties.

Keywords: eggs, feed, inhibitory substances, screening

Úvod

Výskyt rezíduí antimikrobiálnych látok v potravinách živočíšneho pôvodu je výsledkom podávania týchto látok zvieratám určeným na produkciu potravín. V chove hydiny sú antimikrobiálne látky podávané v krmive alebo pitnej vode. Za účelom efektívnejšieho využitia krmiva, zlepšenia konverzie krmiva, podpory zdravotného stavu, ale aj zníženia obsahov rezíduí antimikrobiálnych látok v živočíšnych produktoch hydiny sa do kŕmnych zmesí hydiny začali pridávať rôzne doplnkové látky, ako sú napr. probiotiká, prebiotiká, humínové kyseliny, enzýmy, mikroorganizmy, a pod. (Kožárová et al., 2016, Marcinčáková et al., 2018).

Prítomnosť rezíduí antimikrobiálnych látok v akomkoľvek produkte živočíšneho pôvodu je pre spotrebiteľa zdraviu škodlivá. Ak sú rezíduá týchto látok prítomné v živočíšnych produktoch v koncentráciách vyšších, ako sú nariadením Komisie (EÚ) č. 37/2010 stanovené ich maximálne limity rezíduí (MRL), živočíšne produkty sa posudzujú ako nevhodné pre ľudskú spotrebu (Smernica rady 96/23/ES).

Pre prvotný screening rezíduí antimikrobiálnych látok v živočíšnych produktoch potravinových zvierat sú schválené dve úradné metódy laboratórnej diagnostiky potravín, platňová metóda STAR (R-25, 2006) a tubový test Premi®Test (R-26, 2006). Ich podstatou je inhibícia rastu testovacieho kmeňa rezíduom antimikrobiálnej látky prítomnej vo vyšetrovanej vzorke. Keďže testovacie kmene mikrobiálnych inhibičných testov sú citlivé aj na antimikrobiálne látky prirodzene sa vyskytujúce v produktoch živočíšneho a rastlinného pôvodu, podstatou nášho záujmu bolo overiť možnú inhibíciu testovacích kmeňov metódy STAR a Premi®Testu pri vyšetrovaní vajec nosníc kŕmených kŕmnu zmesou obohatenou o prídavok fermentovaného krmiva, humínových látok a enzýmového prípravku. Do štúdie bol zahrnutý aj novší tubový test Explorer 2.0 pre porovnateľnosť výsledkov Premi®Testu.

Materiál a metódy

Do experimentu boli zahrnuté vajcia nosníc kŕmených: 1) komerčnou kŕmnu zmesou (KKZ) pre nosnice (De Heus, Česká republika; skupina vajec K), 2) KKZ s prídavkom krmiva fermentovaného produkčným kmeňom nižších vláknitých húb triedy *Mortierella alpina*



CCF2861 pripraveného podľa modifikovanej metódy Čertík et al. (2006) v dávke 10 a 15 % (skupina vajec FK 10 %, FK 15 %), 3) KKZ s prídavkom humínových látok v dávke 1 % (HUMAC® Natur AFM, Humac s.r.o., Slovenská republika; skupina vajec HK) a 4) KKZ s prídavkom enzymatického preparátu v dávke 0,25 % podávaného vo vode (Enzymix F; skupina vajec E). K analýze boli použité vajcia získané náhodným výberom z príslušnej skupiny vajec.

Inhibičné látky boli stanovované vo vaječnom bielku, vaječnom žĺtku a vaječnej zmesi v súlade s postupmi Premi®Testu, Explorer 2.0 testu a metódy STAR. Premi®Test (R–Biopharm AG, Nemecko) a Explorer 2.0 (Zeu-Inmunotec, Španielsko) kombinujú princíp tubových agarových difúzných testov so zmenou farby indikátora v dôsledku aktívneho metabolizmu testovacieho kmeňa *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* v neprítomnosti inhibítora. Metóda STAR je platňový agarový difúzny test, pri ktorom sa na piatich Petriho miskách používajú testovacie kmene s citlivosťou na aminoglykozidy (*Bacillus subtilis* BGA), makrolidy a beta-laktámy (*Kocuria rhizophila* ATCC 9341), tetracyklíny (*Bacillus cereus* ATCC 11778), chinolóny (*Escherichia coli* ATCC 11303) a beta-laktámy a sulfónamidy (*Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149). Ak sú v skúšanej vzorke prítomné látky inhibujúce rast testovacieho kmeňa, vznikajú okolo vzorky číre zóny inhibície.

Premi®Test a Explorer 2.0 test: 100 µl vyšetrovanej vzorky sme pomocou mikropipety aplikovali do príslušných testovacích túb. Tuby boli najskôr predinkubované pri teplote 80 °C 10 min. a následne inkubované pri teplote 65 °C ± 0,5 °C približne 3 h. Metóda STAR: 30 µl vyšetrovanej vzorky sme aplikovali na povrch testovacích platní pomocou papierových diskov (Ø 9 mm, Albet LabScience, Nemecko). Inkubácia prebiehala nasledovne: platne s kmeňom *Bacillus subtilis* BGA a *Bacillus cereus* ATCC 11778 (18 h., 30 °C), platne s kmeňom *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 (24 h., 37 °C), platne s kmeňom *Escherichia coli* ATCC 11303 (18 h, 37 °C) a platne s kmeňom *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 (12 - 15 h, 55 °C).

Výsledky a diskusia

Premi®Test a Explorer 2.0: Výsledky boli stanovené posúdením farby dolných dvoch tretín agarového média. Fialové, resp. žlté/fialové sfarbenie poukazuje na prítomnosť inhibičných látok vo vyšetrovanej vzorke, ktorých množstvo je nad, resp. na úrovni detegovateľnosti testov (pozitívna vzorka). Metóda STAR: Výsledky boli stanovené meraním veľkostí inhibičných zón od okraja papierových diskov po vonkajší okraj inhibičnej zóny pomocou digitálneho posuvného meradla (Mitutoyo, Japonsko). Za pozitívne sú považované vzorky na platniach s kmeňmi *Bacillus subtilis* BGA, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 11303 a *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 s veľkosťou inhibičnej zóny ≥ 2 mm a na platniach s *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 ≥ 4 mm. Dosiagnuté výsledky sú prezentované v Tabuľke 1. Vyšetrením vzoriek skupiny vajec FK 10 % sme metódou STAR zachytili prítomnosť pozitívnej veľkosti inhibičnej zóny na platniach s kmeňom *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 a *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 pri všetkých vzorkách, na platniach s *Bacillus subtilis* BGA pri troch vzorkách (1 B, 1 Z, 3 B), na platniach s *Bacillus cereus* ATCC 11778 pri jednej vzorke (1 B) a na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303 tiež pri jednej vzorke (2 B). Vyšetrením vzoriek skupiny vajec FK 15 % sme metódou STAR zachytili prítomnosť pozitívnej inhibičnej zóny na platniach s kmeňom *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 a *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 pri všetkých vzorkách, na platniach s *Bacillus subtilis* BGA pri dvoch vzorkách (1 B, 3 B) a na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303 tiež pri dvoch vzorkách (1 B, 1 Z). Vyšetrením vzoriek skupiny vajec E sme metódou STAR zachytili prítomnosť pozitívnej veľkosti inhibičnej zóny na platniach s kmeňom *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 pri všetkých vzorkách, na platniach s *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149



pri všetkých vzorkách s výnimkou vzorky 1 B, na platniach s *Bacillus subtilis* BGA pri dvoch vzorkách (1 B, 1 Z), na platniach s *Bacillus cereus* ATCC 11778 tiež pri dvoch vzorkách (1 B, 2 B) a na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303 pri jednej vzorke (2 B). Vyšetrením vzoriek skupiny vajec HK sme metódou STAR zachytili prítomnosť pozitívnej veľkosti inhibičnej zóny na platniach s kmeňom *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 a *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 pri všetkých vzorkách a na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303 pri dvoch vzorkách (1 B, 2 B).

Vyšetrením vzoriek kontrolnej skupiny vajec K sme metódou STAR zachytili prítomnosť pozitívnej veľkosti inhibičnej zóny na platniach s kmeňom *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 pri všetkých vzorkách, na platniach s *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 pri všetkých vzorkách s výnimkou vzorky 1 B, na platniach s *Bacillus subtilis* BGA pri piatich vzorkách (1 B, 1 Z, 2 B, 3 B, 3 Z), na platniach s *Bacillus cereus* ATCC 11778 pri jednej vzorke (1 B) a na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303 pri štyroch vzorkách ((1 B, 1 Z, 2 B, 3 B). Pri vyšetrení vajec tubovými testami Premi[®]Test a Explorer 2.0 boli detegované pozitívne výsledky len pri vaječných bielkach všetkých experimentálnych skupín vyšetovaných Explorer 2.0 testom. Premi[®]Test nedetegoval prítomnosť inhibičných látok ani v jednej z vyšetovaných vzoriek vajec.

Prezentované výsledky poukazujú na skutočnosť, že pri vyšetovaní vajec metódou STAR boli pri všetkých skupinách vajec detegované porovnateľné výsledky s výnimkou vajec od nosníc kŕmených s prídavkom humínových látok, kde na platniach s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 došlo k nárastu veľkostí inhibičných zón pri všetkých zložkách vajec. Z testovacích kmeňov najvyššiu citlivosť vykazovali testovacie kmene *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 a *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149 a naopak najnižšiu citlivosť testovací kmeň *Bacillus cereus* ATCC 11778. Z pomedzi vyšetovaných matric najväčšie inhibičné zóny, t.j. najviac pozitívnych výsledkov bolo zaznamenaných pri vaječných bielkach. Porovnaním s tubovými testami počet pozitívnych výsledkov bol podstatne nižší. Pozitívne boli len vaječné bielka všetkých experimentálnych skupín vyšetovaných Explorer 2.0 testom. Berúc do úvahy výsledky detegované tubovými testami a metódou STAR, porovnateľné pozitívne výsledky detegované pri metóde STAR môžeme pravdepodobne prisudzovať lyzozýmu, ako antimikrobiálnej látke prirodzene vyskytujúcej sa vo vaječnom bielku. Metóda STAR nevyžaduje krok predinkubácie vzoriek vykonávaný za účelom eliminácie prirodzených inhibítorov vo vyšetovanej vzorke pri porovnaní s tubovými testami Premi[®]Test a Explorer 2.0.

Ak by sme prítomnosť inhibičných zón posudzovali z pohľadu rezíduí antimikrobiálnych látok, ktorých stanovenie v produktoch živočíšneho pôvodu sa práve týmito mikrobiálnymi inhibičnými testami vykonáva, vyšetované vajcia by boli pozitívne na prítomnosť rezíduí beta-laktámových antibiotík (pozitivita na platniach s *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 a *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149), makrolidov (pozitivita na platniach s *Bacillus subtilis* BGA), tetracyklínov (pozitivita na platniach s *Bacillus cereus* ATCC 11778) a chinolónov (pozitivita na platniach s *Escherichia coli* ATCC 11303). Pri takto získaných výsledkoch je jednoznačne potrebná následná konfirmačná analýza.



Tab. 1 Výsledky screeningu inhibičných látok vo vyšetrovaných maticiach stanovené metódou STAR, Premi®Test a testom Explorer 2.0

SKUPINA VAJEC		STAR					Premi®Test	EXPLORER 2.0	
		<i>B. stearotherophilus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. rhizophila</i>			
FK 10 %	1	Ž	5,17 ± 0,53	0,85 ± 0,32	/	1,32 ± 0,15	6,02 ± 0,11	-	-
		B	10,64 ± 0,86	2,52 ± 0,20	3,97 ± 0,37	1,23 ± 0,49	8,54 ± 0,59	-	+
		Z	4,46 ± 0,39	3,13 ± 0,25	/	0,98 ± 0,57	8,52 ± 0,14	-	-
	2	Ž	9,45 ± 0,99	/	/	/	5,12 ± 0,38	-	-
		B	13,16 ± 0,78	/	/	1,84 ± 0,19	9,77 ± 0,07	-	-
		Z	10,70 ± 3,46	/	/	/	7,76 ± 0,45	-	-
	3	Ž	9,53 ± 0,28	/	/	/	2,14 ± 1,19	-	-
		B	13,99 ± 1,35	3,97 ± 0,36	/	1,35 ± 0,27	7,15 ± 0,66	-	-
		Z	13,41 ± 0,66	/	/	/	7,15 ± 0,21	-	-
FK 15 %	1	Ž	4,17 ± 0,90	1,16 ± 0,14	/	1,22 ± 0,27	5,05 ± 0,32	-	-
		B	9,96 ± 0,38	2,70 ± 0,25	/	2,34 ± 1,14	9,68 ± 0,36	-	+
		Z	4,59 ± 0,39	1,42 ± 0,21	/	1,97 ± 0,53	7,31 ± 0,18	-	-
	2	Ž	8,62 ± 3,43	/	/	/	5,03 ± 0,25	-	-
		B	14,91 ± 1,60	/	/	/	7,13 ± 0,38	-	-
		Z	10,29 ± 3,31	/	/	/	7,45 ± 0,20	-	-
	3	Ž	13,39 ± 4,78	/	/	/	3,16 ± 0,26	-	-
		B	15,55 ± 0,72	3,65 ± 0,39	/	0,35 ± 0,31	7,85 ± 0,42	-	-
		Z	13,11 ± 0,56	/	/	/	5,87 ± 0,15	-	-
E	1	Ž	4,81 ± 0,75	0,60 ± 0,17	/	0,85 ± 0,13	5,46 ± 0,28	-	-
		B	3,51 ± 0,12	2,69 ± 0,38	4,36 ± 0,20	1,42 ± 0,49	9,14 ± 0,34	-	+
		Z	4,35 ± 0,39	1,61 ± 0,42	/	1,35 ± 0,09	9,11 ± 0,28	-	-
	2	Ž	9,04 ± 1,62	/	/	/	4,27 ± 0,41	-	-
		B	13,85 ± 0,90	/	1,84 ± 0,36	2,29 ± 0,24	8,69 ± 0,33	-	-
		Z	10,63 ± 0,62	1,50 ± 0,21	/	/	6,66 ± 0,19	-	-
HK	1	Ž	10,24 ± 0,62	/	/	/	3,37 ± 2,04	-	-
		B	17,16 ± 0,35	/	/	2,07 ± 0,33	9,48 ± 0,28	-	+
		Z	15,73 ± 4,48	/	/	/	8,27 ± 0,34	-	-
	2	Ž	6,78 ± 0,43	/	/	/	4,55 ± 0,75	-	-
		B	14,01 ± 0,71	/	/	2,76 ± 0,18	9,34 ± 0,39	-	-
		Z	12,39 ± 1,18	/	/	/	7,07 ± 0,11	-	-
K	1	Ž	4,46 ± 0,52	1,11 ± 0,17	/	/	6,55 ± 0,16	-	-
		B	3,50 ± 0,32	2,36 ± 0,35	4,77 ± 0,23	3,01 ± 0,20	10,63 ± 0,28	-	+
		Z	4,29 ± 0,42	1,84 ± 0,23	/	2,65 ± 0,14	9,11 ± 0,27	-	-
	2	Ž	10,55 ± 0,36	/	/	/	3,64 ± 1,12	-	-
		B	14,24 ± 1,10	2,94 ± 0,35	/	1,79 ± 0,39	8,91 ± 0,28	-	-
		Z	13,71 ± 0,52	/	/	/	5,97 ± 0,27	-	-
	3	Ž	9,66 ± 0,52	/	/	/	3,60 ± 0,51	-	-
		B	13,64 ± 0,14	2,17 ± 0,49	/	2,91 ± 0,55	9,39 ± 0,44	-	-
		Z	12,96 ± 0,51	2,78 ± 0,29	/	/	7,57 ± 0,39	-	-

Legenda: inhibičná zóna ((mm ± SD), SD – smerodajná odchýlka, Ž – žltok, B – bielok, Z – vaječná zmes, + pozitívna matrica, - negatívna matrica



Záver

Screening rezíduí inhibičných látok v produktoch živočíšneho pôvodu je veľmi dôležitý v záujme ochrany verejného zdravia a garancie bezpečnosti potravín. Vzhľadom na súčasné alternatívy kŕmneho režimu u hydiny využívajúce podávanie doplnkových látok vykazujúcich antimikrobiálnu účinnosť je pri mikrobiálnych inhibičných testoch potrebné počítať aj s inhibíciou rastu testovacích kmeňov a možnému nárastu pozitívnych výsledkov. K zväčšeniu veľkostí inhibičných zón došlo predovšetkým pri vajciach od nosníc kŕmených s prídavkom humínových látok. Humínové látky majú preukázateľný antimikrobiálny účinok a potenciovali inhibíciu rastu testovacieho kmeňa *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149. Na základe dosiahnutých výsledkov doporučujeme aj pri metóde STAR začleniť do postupu stanovenia prítomnosti inhibičných látok vo vajciach krok tepelného ošetrenia pred samotnou analýzou.

PodĎakovanie: Spracovanie príspevku bolo podporené projektmi APVV-18-0039 a APVV-14-0397.

Literatúra

1. Čertík, M., Sláviková, L., Masrnová, S., Šajbidor, J. Enhancement of nutritional value of cereals with linolenic acid by fungal solid state fermentations. In Food Technology and Biotechnology 2006, 44, 75-82.
2. Kožárová, I., Marcincák, S., Reitznerová, A., Bartkovský, M., Mačanga, J., Marcincáková, D., Klemková, T., Čertík, M.: Verification for the presence of inhibitory substances in poultry meat after the consumption of the feed mixture supplemented with fermented feed. In Potravinárstvo. 2016, 10, 612-618.
3. Marcincáková, D., Kostilníková, N., Jaduttová, I., Mellen, M., Mačanga, J., Bartkovský, M., Váczi, P., Marcincák, S. Účinok prídavania 1 % humínových látok do kŕmnych zmesí brojlerov na výťažnosť a chemické zloženie mäsa. In Zborník prednášok a posterov z medzinárodnej vedeckej konferencie "Hygiena Alimentorum XXXIX", Košice: UVLF. 2018, 130-134.
4. NARIADENIE KOMISIE (EÚ) č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácii, pokiaľ ide o maximálne limity rezíduí v potravinách živočíšneho pôvodu. In Úradný vestník Európskej únie L 15, 2010, 1-72.
5. R-25. http://www.svssr.sk/dokumenty/zakladne_info/Diagnostika/R%2025%20STAR%20test.pdf
6. R-26. http://www.svssr.sk/dokumenty/zakladne_info/Diagnostika/R%2026%20PREMi%20test.pdf
7. SMERNICA RADY (ES) č. 96/23 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch. In Úradný vestník Európskej únie L 125, 1996, 10-32.

Kontaktné adresy: doc. MVDr. Ivona Kožárová, PhD., MVDr. Daniela Juščáková, prof. MVDr. Slavomír Marcincák, PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk, daniela.juscakova@student.uvlf.sk, slavomir.marcincak@uvlf.sk



KRYOSKOPICKÉ MERANIE MLIKA DETERMINATION OF THE FREEZING POINT OF MILK

Jana Maľová, Boris Semjon, Jana Výrostková, Martina Žakarovská

Abstract: Milk freezing point was determined by two instruments - Lactoscan MCCW and CryoStar I. cryoscope. Of the 100 milk samples studied, 10 were noncompliant for the required freezing point of milk (FPM) parameters and added water. When measured with CryoStar I, the average FPM value was $-0,553\text{ }^{\circ}\text{C}$ with 11 of 100 samples not meeting the desired FPM value. When analysing the freezing point changes of milk after the addition of various amounts of water, samples were measured with cryoscope CryoStar I. (without addition of water, after addition of 1, 2 and 3 drops of distilled water).

Keywords: milk, freezing point, water, analysis

Úvod

Mlieko charakterizujeme ako sekret mliečnej žľazy získaný nadojením a jeho hlavnou zložkou je voda, ktorej hodnota sa pohybuje okolo 88 %. V minulosti sa verilo, že riedenie mlieka vodou je hlavným dôvodom nárastu teploty tuhnutia mlieka. Ukázalo sa však, že 1 % pridanej vody spôsobí zvýšenie bodu tuhnutia mlieka o $0,006\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Singhal et al. 1997).

Teplota tuhnutia mlieka je dôležitým ukazovateľom kvality mlieka. Zisťuje sa predovšetkým na preukázanie falšovania mlieka vodou alebo na stanovenie množstva pridanej vody (Bhandari, Singh 2003). Zmeny teploty tuhnutia boli donedávna pripisované hlavne pridávaniu cudzej vody do mlieka avšak štúdie z posledných rokov ukázali, že nežiaduce riedenie mlieka vodou nie je jediným dôvodom zvýšenia bodu tuhnutia mlieka.

Príčinami kolísania bodu tuhnutia mlieka (BTM) môže byť množstvo ďalších faktorov, ako spôsob chovu, plemeno, príjem vody, denná doba (t.j. ranné mlieko oproti večernému), zemepisná poloha, prídanie konzervačných látok a spôsob manipulácie so vzorkami ale i technologické zvodnenie mlieka, ktoré môže byť spôsobené nedostatočným odstraňovaním preplachovej vody z potrubného systému, čerpadiel a nádrží (Kirchnerová a Foltys, 2007). Vo všeobecnosti sa v našich podmienkach adaptovala hodnota $-0,515\text{ }^{\circ}\text{C}$, resp. $-0,520\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Nariadenie 853/2004).

Práca sa zaoberá meraním teploty tuhnutia vo vzorkách surového a konzumného mlieka a poukazuje na možnosti ovplyvňujúce jeho kvalitu. Porovnáva dosiahnuté hodnoty bodu tuhnutia v korelácii s fyzikálno-chemickými ukazovateľmi mlieka.

Materiál a metódy

Experimentálna časť práce bola vykonávaná v laboratóriu na Ústave hygieny a technológie mlieka UVLF v Košiciach. Z celkového počtu vzoriek ($n=100$; surové kravské mlieko $n=93$; konzumné mlieko $n=7$) sme stanovili hodnotu BTM ako aj obsah základných zložiek v mlieku. Všetky vzorky surového kravského mlieka (1 - 93) pochádzali z jedného produkčného hospodárstva a boli odobrané pri rannom dojení, 7 vzoriek konzumného mlieka sa zakúpilo v obchodnej sieti (vysokopasterizované mlieko – 3 vzorky polotučné mlieko, 3 vzorky plnotučné mlieko, 1 vzorka bezlaktózové mlieko). Bod tuhnutia sme stanovovali prostredníctvom automatického kryoskopu CryoStar I (Funke-Dr. N. Gerber, Berlin, Nemecko). Vzorka mlieka určená k meraniu bola pipetovaná do testovacích skúmaviek. Testované množstvo vzorky bolo 2,5 ml.

Obsah základných zložiek mlieka (g/100g) sme analyzovali pomocou prístroja Lactoscan MCCW. Rozsah merania prístroja Lactoscan MCCW zahŕňal stanovenie obsahu



tuku, bielkovín, laktózy, minerálnych látok (solí), beztuková sušina (BTS), hustoty, teploty mlieka, pH, množstva vody a bodu tuhnutia mlieka. Ultrazvukové technológie umožňujú priame meranie tuku, bielkovín, laktózy a solí, čo sú rozpustné zložky mlieka ovplyvňujúce bod tuhnutia. V rámci experimentu sme sa zamerali aj na merania, v ktorých sme sledovali vplyv a množstvo pridanej vody na hodnotu BTM. Vzorky mlieka (n=20) boli analyzované na kryoskope CryoStar I. bez pridanej vody, po pridaní 1, 2 a 3 kvapiek destilovanej vody do skúmavky ku vzorke mlieka.

Výsledky práce a diskusia

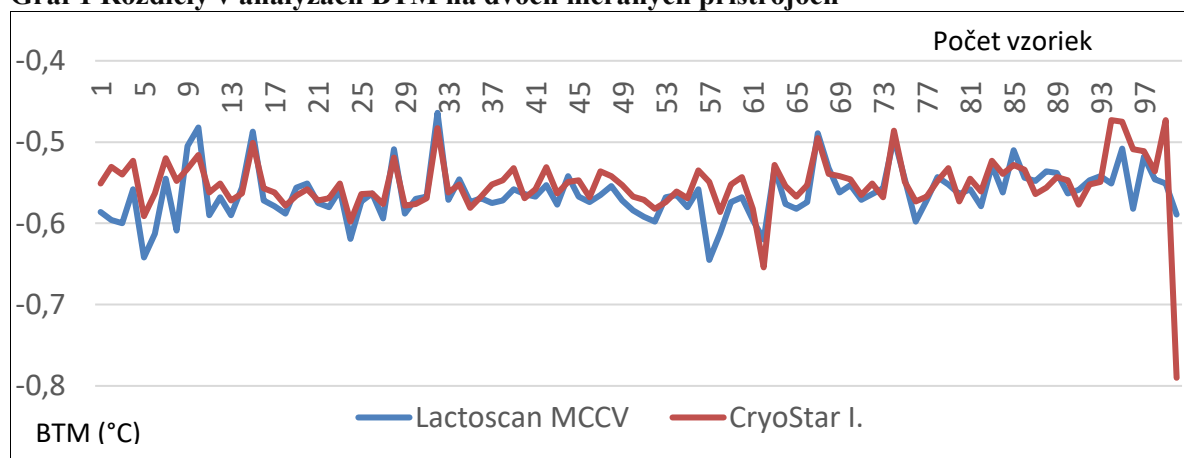
Zo sledovaných vzoriek mlieka mala pri meraní prístrojom Lactoscan MCCV najnižšiu hodnotu BTM vzorka č. 32 (-0,462 °C). Túto vzorku sprevádzal aj najnižší obsah laktózy (4,15 g), solí (0,61 g) a SNF (7,54 g). Najvyššiu hodnotu BTM vykazovala vzorka surového kravského mlieka č. 5 (-0,645 °C), zároveň sa vyznačovala aj najvyšším obsahom solí (0,81 g), laktózy (5,58 g) a SNF (9,97 g). Zo 100 analyzovaných vzoriek mlieka bolo 10 vzoriek nevyhovujúcich pre požadované parametre BTM a pridanú vodu, aj keď mlieko nebolo pred analýzou zvodnené. V tabuľke 1 sú zaznamenané štatistické údaje z meraní všetkých vzoriek (n=100) prístrojom Lactoscan MCCW, ktoré sme spracovali.

Tab. 1 Štatistické údaje z výsledkov analýz vzoriek pomocou prístroja Lactoscan MCCW

Parametre	Min.	Max.	Priemerná hodnota
Teplota (°C)	20,23	26,22	24,412
Tuky (g/100g)	0,8	7,05	2,019
SNF (g/100g)	7,54	9,97	8,982
Hustota (g/100g)	23,37	36,64	32,326
Bielkoviny (g/100g)	2,76	3,65	3,283
Laktóza (g/100g)	4,15	5,58	4,934
pH	6,51	7,12	6,758
Solí (g/100g)	0,61	0,81	0,728
Pridaná voda (%)	0	10,76	0,479
BTM (°C)	-0,645	-0,464	-0,563

*SNF - (Solid Not Fat = beztuková sušina); BTM – bod tuhnutia mlieka

Graf 1 Rozdiely v analýzach BTM na dvoch meraných prístrojoch



V grafe č. 1 sú graficky znázornené rozdiely v meraniach bodu tuhnutia mlieka tej istej vzorky na prístroji Lactoscan MCCW a na kryoskope CryoStar I.



Pri analyzovaní BTM pomocou prístroja CryoStar I. sme zistili, že najnižšiu hodnotu BTM vykázala vzorka č. 100 (-0,79 °C), najvyššia hodnota (-0,473 °C) bola stanovená u vzorky č. 94. Priemerná hodnota BTM bola -0,553 °C. Len 11 vzoriek (11 %) z celkového počtu nespĺňalo údaj o priemernej hodnote BTM.

Výsledky zaznamenané v tabuľke č. 2 napriek tomu, že vzorky mlieka boli zvodnené, vykazujú pri niektorých z nich obsah vody 0 % a bod tuhnutia mlieka v norme. Priemerné stúpanie BTM pridaním 1 kvapky (0,05 ml) destilovanej vody činilo zvýšenie BTM o 0,029 °C. Pridaním 3 kvapiek vody (0,15 ml) BTM priemerne stúpol o 0,083 °C.

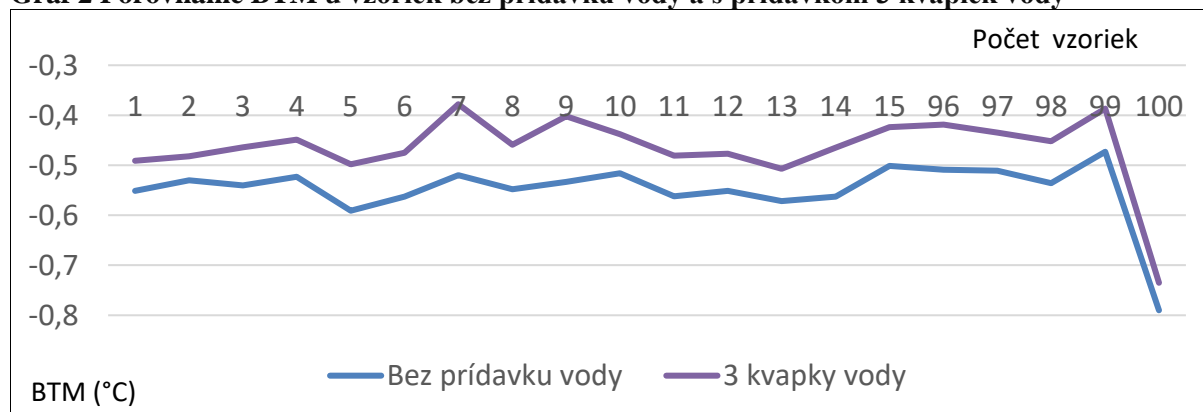
Tab. 2 Zmena BTM pridaním kvapiek destilovanej vody

BTM (°C) / AdW					BTM (°C) / AdW				
Vzorka	Bez prídavku vody	+ 1 kvapka H ₂ O	+ 2 kvapka H ₂ O	+ 3 kvapka H ₂ O	Vzorka	Bez prídavku vody	+ 1 kvapka H ₂ O	+ 2 kvapka H ₂ O	+ 3 kvapka H ₂ O
1	-0,551	-0,524	-0,508	-0,491	11	-0,562	-0,539	-0,512	-0,481
	0%	0%	1,8%	6,1%		0	0%	0,6%	7,5%
2	-0,530	-0,519	-0,513	-0,482	12	-0,551	-0,519	-0,491	-0,477
	0%	0,2%	1,4%	7,4%		0%	0,1%	6,6%	8,3%
3	-0,540	-0,502	-0,487	-0,464	13	-0,572	-0,543	-0,528	-0,507
	0%	2,4%	6,8%	8,9%		0%	0%	0%	1,8%
4	-0,523	-0,496	-0,473	-0,449	14	-0,563	-0,524	-0,497	-0,465
	0%	5,6%	7,2%	13,60%		0%	0%	6,4%	8,9%
5	-0,591	-0,558	-0,523	-0,498	15	-0,501	-0,478	-0,451	-0,424
	0%	0%	0%	5,6%		1,9%	8,6%	13,9%	18,8%
6	-0,563	-0,531	-0,516	-0,475	16	-0,509	-0,486	-0,447	-0,419
	0%	0%	0,3%	8,4%		2,2%	7,0%	13,8%	19,2%
7	-0,520	-0,462	-0,429	-0,378	17	-0,511	-0,494	-0,466	-0,435
	0%	9,0%	18,7%	27,20%		1,9%	6,7%	9,2%	18,0%
8	-0,548	-0,515	-0,488	-0,459	18	-0,536	-0,517	-0,479	-0,452
	0%	0,4%	7,1%	10,2%		0	0,2%	8,9%	10,6%
9	-0,533	-0,497	-0,449	-0,402	19	-0,473	-0,443	-0,415	-0,387
	0%	6,3%	13,6%	20,2%		9%	13,9%	19,5%	24,7%
10	-0,516	-0,472	-0,453	-0,438	20	-0,790	-0,767	-0,747	-0,735
	0,4%	8,5%	10,4%	17,9%		0%	0%	0%	0%

AdW- added water milk; 1 kvapka vody = 0,05 ml

Graf 2 názorne porovnáva hodnoty BTM u dvadsiatich vzoriek bez prídavku vody a po pridaní troch kvapiek vody.

Graf 2 Porovnanie BTM u vzoriek bez prídavku vody a s prídavkom 3 kvapiek vody



V súčasnosti už neplatí, že riedenie mlieka vodou je hlavným dôvodom nárastu BTM. Slaghuis (2001) uviedol, že obsah laktózy je zodpovedný za 53,8 % BTM u kráv, pričom ďalšie



zložky takisto významne vplyvajú na hodnotu BTM. Súčet laktózy, chloridov, citrátov a kyseliny mliečnej predstavuje 79 až 86 % celkovej hodnoty BTM, pričom laktóza predstavuje približne 55 % a chloridy 25 % (Bjerg, Rasmussen 2005). Laktóza prispieva k zníženiu bodu tuhnutia mlieka asi o 0,296 °C a chloridy spolu s kationmi Na + a K + približne o 0,199 °C (Navrátilová et al. 2006). Zvyšných 20 – 25 % hodnoty BTM ovplyvňujú ďalšie zložky mlieka ako sú draslík, sodík, vápnik, horčík, kazeín, citráty, fosfáty (5,4 %) a močovina (1,9 %) (Hanuš 2006).

Navrátilová (2006) poznamenala, že mliečny tuk nemá žiadny vplyv na bod tuhnutia mlieka a že mliečne bielkoviny ho ovplyvňujú iba veľmi málo: 2,66 % kazeínu v mlieku môže znížiť teplotu tuhnutia o 0,000001 °C a 0,67 % srvátkových bielkovín o 0,000407 °C.

BTM nie je iba indikátorom prípadného zvodnenia mlieka, ale aj ukazovateľom kvality mliečneho potravinového reťazca a technologickej vhodnosti mlieka, keďže, ak sa vylúči zvodnenie mlieka, nevyhovujúce výsledky BTM môžu byť spôsobené nevyrovnanou krmnou dávkou v obsahu bielkovín a energie, resp. nedostatkom v minerálnej výžive dojníc (Kološta 2003).

Staples a Tchatcher (2016) skonštatovali, že keď sa stádu, ktoré bolo kŕmené s vysokým obsahom sacharidov zmenilo kŕmenie na krmivo s nízkym obsahom sacharidov, bod tuhnutia mlieka sa zvýšil a množstvo beztukovej sušiny sa znížilo.

V Slovenskej a Českej republike je nedostatočná (bielkovinová, energetická a minerálna) výživa dojníc považovaná za dôležitý faktor ovplyvňujúci bod tuhnutia surového kravského mlieka (Navrátilová 2006).

Záver

Zabezpečenie kvality a bezpečnosti výrobkov patrí medzi povinnosti výrobcov a priority vyspelých trhových ekonomík. Bod tuhnutia mlieka je dôležitý ukazovateľ kvality mlieka a používa sa predovšetkým na preukázanie falšovania mlieka vodou a/alebo na stanovenie množstva pridanej vody.

Mlieko s pridanou vodou má vyššiu teplotu tuhnutia ako surové mlieko. Cudzía voda sa do mlieka môže dostať z dojacích strojov, v dôsledku nedbalosti alebo zlými postupmi dojenia. Automatizované systémy dojenia môžu takisto zvýšiť bod tuhnutia mlieka, preto monitorovanie BTM môže byť užitočné aj pre poľnohospodárov a technikov, keď sa snažia určiť účinnosť dojacích a čistiacich systémov.

Pozor však pri analýzach BTM, nakoľko niektoré prístroje nemerajú bod tuhnutia ani množstvo vody, ale vypočítavajú tieto hodnoty zo zložiek (priame meranie tuku, bielkovín, laktózy a solí). Preto môžu v niektorých prípadoch uvádzať zavádzajúce a nespolahlivé výsledky.

PodĎakovanie: Práca bola podporená projektom Kultúrnej a edukačnej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, KEGA 007UVLF-4/2020.

Literatúra

1. BJERG, M. – RASMUSSEN, M.D. Changes in freezing point of blood and milk during dehydration and rehydration in lactating cows. In *Journal of Dairy Science* [online]. 2005, vol. 88, no. 9, p. 3174-3185 [cit. 2019-03-24]. Dostupné na internete: <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73001-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73001-0)>. ISSN: 1525-3198.
2. HANUŠ, O. et al. Vlivy na bod mrznutí syrového kravského mléka od nadojení až po jeho zpracování. In *Zborník prednášok zo seminára : Kvalita surového mlieka*. 2006. Žilina: VUM, 2006, s. 38-58. ISBN 80-969312-2-9.
3. KIRCHNEROVÁ, K. – FOLTYS, V. Význam ukazovateľa bodu mrznutia mlieka pre zistenie jeho technologickej kvality. In *Mliekarstvo : bulletin pre internú potrebu výrobcov a spracovateľov mlieka*. 2007, roč. 38, č. 1, p. 37 – 39. ISBN: 1210-3144.



4. KOLOŠTA, M. Vplyv úrovne výživy dojníc na pastve na teplotu tuhnutia mlieka. In: *Mliekarstvo : bulletin pre internú potrebu výrobcov a spracovateľov mlieka*. 2003, roč. 34, č. 3. s. 25.
5. Nariadenie európskeho parlamentu a rady (es) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.
6. NAVRÁTILOVÁ, P. et al. Freezing Point of Heat-treated Drinking Milk in the Czech Republic. In *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2006, vol. 24, no. 4, p. 156 – 163 [cit. 2019-11-20]. Dostupné na internete: <DOI: 10.17221/3313-CJFS>.
7. SINGHAL, R.S. et al. *Handbook of Indices of Food Quality and Authenticity*. 1997. Cambridge: Woodhead Publishing, 560 s. ISBN: 9781855732995.
8. SLAGHUIS, B.A. The freezing point of authentic and original farm bulk tank milk in The Netherlands. In *International Dairy Journal* [online]. 2001, vol. 11, no.3, p. 121 – 126 [cit. 2019-04-27]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00043-7>. ISSN: 0958-6946.
9. STAPLES, C.R. – TCHATCHER, W.W. Heat stress: Effects on Milk Production and Composition. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online]. 2011, p. 561 – 566 [cit. 2019-05-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21237-7>.

Kontaktné adresy: MVDr. Jana Maľová, PhD., MVDr. Boris Semjon, PhD., MVDr. Jana Výrostková, PhD., Mgr. Martina Žakarovská, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko.
E-mail: jana.malova@uvlf.sk, boris.semjon@uvlf.sk, jana.vyrostkova@uvlf.sk



ÚČINOK PRÍRODNÝCH HUMÍNOVÝCH LÁTOK PODÁVANÝCH VO VÝKRME BROJLEROVÝCH KURČIAT NA KVALITU MÄSA PRSNEJ SVALOVINY THE EFFECT OF FEEDING NATURAL HUMIC SUBSTANCES IN BROILER CHICKEN NUTRITION ON THE QUALITY OF BREAST MUSCLE MEAT

**Slavomír Marcinčák, Martin Bartkovský, Boris Semjon, Dana Marcinčáková,
Lukáš Bujňák**

Abstract: The aim of this work was to monitor the effect of adding 0.5 and 0.7% natural source of humic substances in the form of Humac Natur AFM to the feed of broiler chickens during 37 days of fattening on final weight, body yield, chemical composition and water loss of meat, as well as colour and sensory properties of the produced meat. The experiment was performed under conditions, breeding 120 day-old chicks of COBB 500 divided into three groups of 40 pieces. The chickens of the control group were fed commercial feed mixtures. In the experimental groups H0.5 and H0.7 humic substances were added to the commercial feed 0.5 and 0.7% concentrations. In both experimental groups, a higher final weight of chickens was recorded ($P > 0.05$) as well as a significantly higher yield of chickens' body ($P < 0.05$). Water losses by boiling breast meat were significantly lower in the experimental groups ($P < 0.05$). The chemical composition of breast meat was affected after feeding humic substances in 0.7%, where we recorded a significantly lower fat content and, conversely, a higher protein content ($P < 0.05$). No statistically significant differences in the colour and sensory properties of the meat were found between the control and experimental groups.

Keywords: feed, natural humic substances, meat quality

Úvod

Humínové látky sú prírodné látky vznikajúce biologickým a chemickým rozkladom prevažne rastlinnej biomasy a syntetickou činnosťou mikroorganizmov (Demeterová, 2006). V prírode sú všadeprítomné, nakoľko sú súčasťou humusu v pôde (Stevenson, 1994). Vznikajú biologickým a chemickým rozkladom rastlinnej biomasy za pomoci činnosti mikroorganizmov. Ich heterogénna makromolekulová štruktúra a zloženie sa môžu líšiť vzhľadom na miesto výskytu. Podľa rozpustnosti sa delia na humínové kyseliny, fulvové kyseliny a humíny. Vzhľadom na veľký špecifický povrch sú veľmi dobrými adsorbentmi rôznych látok, čo u živočíchov môže eliminovať alebo zmierniť toxické účinky endogénnych a exogénnych toxínov (Demeterová a Mariščáková, 2006). Patria medzi ionomeniče reduktívneho charakteru. Z uvedeného dôvodu môžu hrať dôležitú úlohu pri uvoľňovaní alebo viazaní rôznych iónov, resp. úprave pH. V živočíšnej výrobe prídavok humínových kyselín do krmiva môže pozitívne ovplyvňovať všetky produkčné parametre. Zvyšujú denné prírastky, znižujú spotrebu krmiva a konverziu krmiva, zvyšujú jatočnú výťažnosť a výrazne znižujú úhyn (Kocabagli et al., 2002; Kucukersan et al., 2005; Celik et al., 2008).

Cieľom práce bolo vo farmových podmienkach sledovať účinok skrmovania neupravovaných prírodných humínových látok v koncentráciách 0,5 a 0,7 % pridávaných do krmiva brojlerových kurčiat na finálnu hmotnosť kurčiat a výťažnosť tela, a taktiež sledovať ich vplyv na chemické zloženie, straty vody, farbu mäsa ako aj senzorké vlastnosti produkovaného mäsa prsnej svaloviny kurčiat.



Materiál a metodika

V pokuse bolo použitých 120 ks brojlerových kurčiat hybrida COBB 500, rozdelených do 3 skupín: 1. skupina (kontrola) – 40 ks kurčiat kŕmených štandardnými kŕmnymi zmesami (KZ) bez prídavku humínových kyselín. 2. skupina (H0,5) – 40 ks kurčiat kŕmených štandardnými KZ s prídavkom 0,5 % prípravku HUMAC Natur AFM (Humac s.r.o., Košice) ako zdroj humínových kyselín (min. 62 % v sušine) od prvého dňa výkrmu do krmiva. 3. skupina (H0,7) – 40 ks kurčiat kŕmených štandardnými KZ s prídavkom 0,7 % prípravku HUMAC Natur AFM (Humac s.r.o., Košice) od prvého dňa výkrmu do krmiva. Prístup k vode a krmivu mali kurčatá *ad libitum*. Priebežne bol sledovaný zdravotný stav kurčiat. Po 37 dňoch výkrmu boli kurčatá omráčené a jatočne opracované.

Z každej skupiny bolo odobratých 40 kusov jatočne opracovaných tiel, ktoré boli vykostené a jednotlivé časti zvažované. Následne bol vypočítaný podiel jatočne opracovaného tela a prsnej svaloviny v percentách. Podiel prsnej svaloviny bol prepočítaný na hmotnosť jatočne opracovaného tela.

Základné chemické zloženie prsnej svaloviny bolo vykonané podľa Popelka et al. (2009). Na prvý deň (skladované pri 4 °C) sa zmerala farba prsnej svaloviny pomocou Chroma metra CR-410 (Konica Minolta, Japonsko). Výsledky sú vyjadrené na základe CIE Lab vzorca, kde L* predstavuje relatívnu svetlosť, a* relatívnu červenosť a b* relatívnu žltosť. Straty vody varením (%) bola analyzovaná po dosiahnutí teploty 80 °C v jadre (prsna svalovina sa zvažila pred a po uvarení). Sensorická analýza prsnej svaloviny bola vykonaná po uvarení a posudzovaná 5 hodnotiteľmi 5-bodovým hodnotiacim systémom. Hodnotili sa štyri sensorické ukazovatele: vôňa, chuť, šŕavnatosť a krehkosť. Maximálny možný počet dosiahnutých bodov bol 20. Výsledky sú vyjadrené ako priemer súčtu pridelených bodov vône, chuti, šŕavnosti a krehkosti.

Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism 8.3 (GraphPad Software, San Diego, California, USA, 2018). Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer (\bar{x}) a štandardná odchýlka (\pm SD). Jednotlivé výsledky medzi skupinami boli navzájom štatisticky porovnané t-testom, pričom hodnota $P < 0,05$ bola považovaná za štatisticky významný rozdiel.

Výsledky a diskusia

Výsledky jatočnej výťažnosti brojlerových kurčiat a prsnej svaloviny sú uvedené v tabuľke 1. V oboch pokusných skupinách sme zaznamenali vyššiu jatočnú výťažnosť tela kurčiat ($P < 0,05$, a u skupiny H0,7 bola zaznamenaná aj vyššia výťažnosť prsnej svaloviny v porovnaní s kontrolnou skupinou ($P < 0,05$). Kocabagli et al., (2002) uvádzajú po skrmovaní humínových kyselín o 0,25 % vyššiu percentuálnu výťažnosť kurčiat v porovnaní s kontrolou ($P > 0,05$). Prídavok humínového prípravku HUMAC Natur v dávke 0,5 % do krmiva nemal vplyv na percentuálny podiel prsnej svaloviny a bol porovnateľný s kontrolnou skupinou. Straty vody varením v prsnej svalovine pokusných skupín boli v porovnaní s kontrolou výrazne nižšie ($P < 0,05$), čo môže súvisieť aj so zmenou chemického zloženia v prsnej svalovine pokusných kurčiat.

Tab. 1 Finálna hmotnosť, percentuálna výťažnosť a straty vody prsnej svaloviny po varení mäsa

	Kontrola	HK0,5	HK 0,7
Finálna hmotnosť kurčiat (g)	2319,3 \pm 92,6	2377,8 \pm 133,2	2404,5 \pm 125,3
Jatočná výťažnosť tela (%)	73,8 \pm 1,8 ^b	75,3 \pm 3,2 ^a	75,0 \pm 2,0 ^a
Prsia (%)	30,5 \pm 2,8	28,5 \pm 2,7	32,0 \pm 3,5
Straty vody varením – prsia (%)	38,9 \pm 1,0 ^a	34,6 \pm 1,1 ^b	37,6 \pm 0,4 ^b

HK0,5 - krmivo s obsahom 0,5 % humínových látok, HK0,7 - krmivo s obsahom 0,7 % humínových látok; Hodnoty v riadkoch s odlišným označením (a, b) sú štatisticky rozdielne $P < 0,05$.



Výsledky vplyvu pridávania humínových látok vo forme prípravku Humac Natur AFM (Humac s.r.o.) v 0,5 a 0,7 % koncentrácii do krmiva od 1. dňa výkrmu, na chemické zloženie mäsa prsnej svaloviny sú uvedené v tabuľke 2. Po aplikácii 0,5 % humínových látok sme zaznamenali zníženie obsahu tuku a porovnateľný obsah bielkovín v porovnaní s kontrolou ($P > 0,05$). Po skrmovaní 0,7 % humínových látok sme však zaznamenali štatisticky výrazné zníženie podielu tuku a naopak výrazné zvýšenie podielu celkových bielkovín v prsnej svalovine v porovnaní s kontrolou ($P < 0,05$). Podobne aj Semjon et al. (2020) uvádzajú, že po skrmovaní 0,8 a 1,0 % humínových látok bol zaznamenaný výrazne nižší obsah tuku a výrazne vyšší obsah bielkovín v porovnaní s kontrolou.

Tab. 2 Chemické zloženie mäsa prsnej svaloviny

Prsia	Sušina (%)	Tuk (%)	Voda (%)	Bielkoviny (%)
Kontrola	25,46 ± 0,11	2,94 ± 0,10 ^a	74,20 ± 0,38	21,48 ± 0,13 ^b
HK0,5	26,09 ± 0,34	2,41 ± 0,86 ^{a,b}	74,04 ± 0,25	21,25 ± 0,60 ^b
HK0,7	25,71 ± 0,54	2,28 ± 0,010 ^b	74,60 ± 0,15	22,03 ± 0,42 ^a

HK0,5 - krmivo s obsahom 0,5 % humínových látok, HK0,7 - krmivo s obsahom 0,7 % humínových látok; Hodnoty v stĺpcoch s odlišným označením (a, b) sú štatisticky rozdielne $P < 0,05$.

Skrmovanie produktu Humac Natur malo len mierny vplyv ($P > 0,05$) na farbu prsnej svaloviny (Tabuľka 3). Sledované parametre a^* , b^* boli na prvý deň o niečo vyššie u kontroly v porovnaní s pokusnými skupinami ($P > 0,05$) a hodnota L^* bola najnižšia ($P > 0,05$). Podobné rozdiely vo svojej práci zistili aj Esenbuga et al. (2008) a Ozturk et al. (2012), ale nimi namerané hodnoty pre a^* a b^* sú v porovnaní s našimi nižšie.

Skrmovanie produktu Humac Natur AFM v koncentráciách 0,5 a 0,7 % ovplyvnilo iba minimálne senzorické vlastnosti hydínového mäsa. Celkové senzorické hodnotenie bolo u všetkých skupín porovnateľné, pričom najvyššie bolo hodnotené mäso kontroly ($P > 0,05$).

Tab. 3 Farba mäsa prsnej svaloviny kurčiat

	$L^*(D65)$	$a^*(D65)$	$b^*(D65)$
Kontrola	56,49 ± 2,22	16,70 ± 1,82	10,91 ± 2,33
H0,5	56,54 ± 3,32	15,99 ± 1,65	9,04 ± 3,23
H0,7	58,05 ± 2,45	14,56 ± 0,96	10,77 ± 3,39

HK0,5 - krmivo s obsahom 0,5 % humínových látok, HK0,7 - krmivo s obsahom 0,7 % humínových látok; Hodnoty v stĺpcoch s odlišným označením (a, b) sú štatisticky rozdielne $P < 0,05$.

Ako uvádza tabuľka 4 súčet pridelených bodov za vôňu, chuť, šťavnatosť a krehkosť bol u kontrolnej a pokusných skupín takmer rovnaký. Najvýraznejší rozdiel v hodnotení mäsa pokusných skupín a kontroly bol len vo farbe mäsa ($P > 0,05$).

Tab. 4 Výsledky senzorickej analýzy prsnej svaloviny kurčiat

	Kontrola	HK0,5	HK0,7
farba	4,3 ± 0,67	3,6 ± 0,84	3,6 ± 0,96
vôňa	3,3 ± 1,05	3,6 ± 1,07	3,6 ± 1,07
chuť	3,4 ± 0,96	3,2 ± 0,63	3,2 ± 0,92
šťavnatosť	3,1 ± 0,31	3,0 ± 0,81	3,1 ± 0,99
krehkosť	3,5 ± 0,70	3,6 ± 0,51	3,5 ± 0,82
spolu	17,6 ± 2,4	17,0 ± 2,9	17,0 ± 3,3

HK0,5 - krmivo s obsahom 0,5 % humínových látok, HK0,7 - krmivo s obsahom 0,7 % humínových látok.



Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že pridávanie humínového prípravku HUMAC Natur AFM v koncentráciách 0,5 a 0,7 % do kŕmnych zmesí malo pozitívny vplyv na finálnu hmotnosť kurčiat, a jatočnú výťažnosť kurčiat. Obidve koncentrácie mali pozitívny vplyv na chemické zloženie prsnej svaloviny znížením obsahu tuku a pri 0,7 % koncentrácii aj zvýšením obsahu celkových bielkovín. Obidve koncentrácie mali vplyv na zníženie strát vody mäsa po tepelnom opracovaní. Celkovo môžeme konštatovať pozitívny vplyv pridávania humínových látok v koncentrácii 0,5 ale hlavne 0,7 % do KZ kurčiat na finálnu hmotnosť ako aj na kvalitu produkovaného mäsa prsnej svaloviny.

PodĎakovanie: Táto práca bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

Literatúra

1. Celik, K., Uzatici, A., Akin A.E. 2008: Effects of dietary humic acid and *Saccharomyces cerevisiae* on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3, 344 – 350.
2. Demeterová M., 2006: Vplyv použitia humínových látok na rast a využitie živín u brojlerových kurčiat, *Proceedings, 15th Scientific Symposium with international participation on ecology in selected agglomerations of Jelšava, Lubeník and Central Spiš, Hrádok*, 91 – 94.
3. Demeterová M., Mariščáková R., 2006: Vplyv prídavku probiotika a humínových látok na niektoré produkčné a metabolické ukazovatele u brojlerových kurčiat, CD nosič z medzinárodnej vedeckej konferencie „Dni výživy a veterinárnej dietetiky VII“, Košice, 198 – 201.
4. Esenbuga, N., Macit, M., Karaoglu, M., Aksu, M. I., Bilgin, O. C. 2008: Effects of dietary humate supplementation to broilers on performance, slaughter, carcass and meat colour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1201 – 1207.
5. Kocabagli, N., Alp, M., Acar, N., Kahraman, R. 2002: The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Science* 81, 227 – 230.
6. Kucukersan, S., Kucukersan, K., Colpan, I., Goncuoglu, E., Reisli, Z., Yesilbag, D. 2005: The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. *Vet. Med. – Czech*, 50, 406 – 410.
7. Popelka, P. et al. *Laboratórne vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov*. Edičné stredisko UVL, Košice, 2009, ISBN 978-80-8077-160-7.
8. Ozturk, E., Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., Cankaya, S. 2012: Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 59 – 65.
9. Semjon, B., Marcinčáková, D., Koréneková, B., Bartkovský, M., Nagy, J., Turek, P., Marcinčák, S. 2020. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. *Poultry Science*, 99, 1750-1760.
10. Stevenson, F.J. 1994: Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. 2nd Edn., *Wiley Interscience*, New York.

Kontaktná adresa: prof. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: slavomir.marcincak@uvlf.sk



VPLYV SUPLEMENTÁCIE KLINOPTILOLITU NA KONZISTENCIU VÝKALOV U OŠÍPANÝCH V POODSTAVOVOM OBDOBÍ

EFFECT OF CLINOPTILOLITE ADMINISTRATION ON FAECAL CONSISTENCY OF PIGS AFTER WEANING

Jaroslav Novotný, Slavomír Marcinčák, Vladimír Macák, Petronela Kyzeková,
Peter Reichel

Abstract: The aim of our study was to evaluate the effect of long-term peroral administration of natural zeolite (clinoptilolite) on faecal consistency of growing pigs. Fourteen Landrace × Large White crossbred pigs of both genders, a few days after weaning with an average body weight 12.95kg, were divided into two equal groups. The control group was fed with a basal feed mixture, and the experimental group with a feed mixture supplemented with 2 % of natural zeolite. The appetite, clinical state and consistency of the faeces were assessed every day. Final faecal consistency score in the experimental animals was 18.82 % lower than that of the control piglets.

Keywords: klinoptilolit, faecal consistency, pigs, zeolite

Úvod

Klinoptilolit (Cpt) je mikroporézna prírodná forma zeolitu, ktorá má trojrozmernú štruktúru tvorenú z hlinítkremičitanov. Vyznačuje sa rozsiahlym vnútorným priestorom vo forme kanálov a dutín s negatívnym nábojom, ktorý má špecifické vlastnosti pre absorpciu a výmenu iónov. Dutiny môžu zachytávať molekuly rôznych pevných látok, kvapalín alebo plyných látok, napríklad: metánu, oxidu uhličitého, amoniaku a pod. [18]. Vďaka svojej štruktúre a vlastnostiam sa tento prírodný inertný a netoxický materiál môže používať ako nosič s pomalým uvoľňovaním agrochemických, farmaceutických a biochemických účinných látok. Prírodný zeolit sa môže použiť aj za účelom zlepšenia fyzikálnych vlastností pôdy, ako aj na jej ošetrovanie po kontaminácii [13].

Špecifické fyzikálno-chemické vlastnosti klinoptilolitu sú predpokladom jeho použitia aj v chovoch zvierat [18]. Vo veterinárnej medicíne možno Cpt využiť za účelom zníženia obsahu amoniaku v tráviacom trakte a na elimináciu iónov ťažkých kovov pri ich prípadnom výskyte [7, 16]. Klinoptilolit má tiež schopnosť viazať niektoré polárne mykotoxíny, najmä aflatoxíny [14, 15, 19]. Okrem toho poskytuje aj určitú ochranu pred zearalenonom [12]. Cpt je tiež schopný pôsobiť ako: antioxidant, hemostatický, protihnačkový, rast podporujúci a imunostimulačné aditívum [3, 20, 22]. Cpt zlepšuje schopnosť organizmu zvierat odolávať niektorým ochoreniam, redukuje zápach a vlhkosť exkrementov, zlepšuje životné podmienky zvierat v ustajnení [9].

Materiál a metódy

Zvieratá: Štrnásť klinicky zdravých ošípaných (krížence Bielej ušľachtilej x Landrace) rovnakého veku (36 dní) s priemernou telesnou hmotnosťou 12,95 kg bolo náhodným výberom rozdelených do dvoch rovnakých skupín: experimentálnej a kontrolnej.

Experimentálny dizajn: V pokuse trvajúcom 6 týždňov boli kontrolné ošípané kŕmené komerčnou suchou, sypkou kŕmnom zmesou odporúčanou pre túto kategóriu zvierat (OŠ-02, Poľnonákup Šariš a. s., Prešov, Slovensko). Pokusné ošípané boli kŕmené totožnou kŕmnom zmesou doplnenou o prírodný zeolit s obsahom klinoptilolitu (ZeoFeed; Zeocem a.s. Bystré, Slovensko). Cpt bol primiešaný v dávke 20 g na kilogram kŕmnej zmesi. Jeho mineralogické a



chemické zloženie sú uvedené v tabuľke 1. Krmivo a voda boli dostupné *ad libitum*. Zvieratá boli umiestnené v štandardných ustajňovacích podmienkach, v priestoroch Kliniky ošípaných UVLF v Košiciach. U zvierat sme každý deň po rannom krmení hodnotili apetít, klinický stav a konzistenciu výkalov.

Posúdenie konzistencie výkalov: Pri ich hodnotení sme použili päťbodovú stupnicu: 1 – formované; 2 – pastovité; 3 – riedko kašovité; 4 – vodnaté; 5 – s prímiesou (krvi, hlienu).

Tab 1 Minerálne a chemické zloženie klinoptilolitu ZeoFeed

Parameter	Obsah
Klinoptilolit – sediment	Nie menej ako 80 %
Ílové minerály	Nie viac ako 20 %
Veľkosť častíc	0,01–0,2 mm
Strata sušením	≤ 6 %
SiO ₂	62–73 %
Al ₂ O ₃	11–14 %
Si:Al pomer	4,8–5,40
CaO	2–5,50 %
Na ₂ O	0,2–1,5 %
Fe ₂ O ₃	0,7–2,3 %
K ₂ O	2,2–3,4 %
MgO	0,5–1,2 %
TiO ₂	0,1–0,3 %

Výsledky a diskusia

Šesť týždňová suplementácia Cpt nemala negatívny vplyv na klinický stav a apetít ošípaných. Naše zistenia sú v súlade s mnohými toxikologickými, hematologickými, biochemickými a histopatologickými štúdiami, ktoré dokazujú, že Cpt je netoxický a bezpečný pre použitie v humánnej a veterinárnej medicíne [1, 9, 11, 17, 21].

Fyziologické zmeny (zmena pH žalúdka, zmena aktivity tráviacich enzýmov, redukcia črevných klkov, zníženie absorpčnej kapacity čriev), ktoré prebiehajú v tráviacom aparáte prasiatok po odstave sa prejavujú zmenou konzistencie výkalov. V tomto období sú prasiatka vo zvýšenej miere vnímavé aj voči patogénom [5]. V dôsledku toho sa počas prvého týždňa po odstave v komerčných chovoch vyskytujú hnačky približne u 32 do 40% ošípaných [4,2,], v druhom týždni u 69% a počas tretieho týždňa po odstave u 50% zvierat [6]. V našom experimente bola najredšia konzistencia výkalov (riedko-kašovitá až vodnatá) pozorovaná päť dní po začatí experimentu (v prvom týždni po odstave) v kontrolnej skupine. Konzistencia výkalov v kontrolnej skupine sa stabilizovala až po 25. dni experimentu. Na druhej strane konzistencia výkalov v experimentálnej skupine bola relatívne stabilná počas celého experimentu. Pri celkovom zhodnotení sme zaznamenali o 18,82% tuhšie výkaly ako u prasiatok v kontrolnej skupine. Na porovnanie v podobnej päťtýždňovej štúdiu suplementácia Cpt zlepšila konzistenciu výkalov (diarrhoea severity score) o 12,96% [20].

Positívne pôsobenie prírodného zeolitu v tráviacom systéme sa interpretuje predĺžením retenčného času trávenia v črevách, pomalším prechodom tráveniny tráviacim traktom a zvýšenou mikrobiálnou aktivitou v tenkom čreve ošípaných, čo vedie k lepšiemu využitiu živín [8, 11]. Schopnosť Cpt viazať vodu taktiež napomáha k suchším a kompaktnjším výkalom [10].



Záver

Šesťtýždňová suplementácia klinoptilolitu v dávke 20g na kilogram krmiva mala pozitívny vplyv na konzistenciu výkalov u ošípaných. Na základe našich zistení odporúčame suplementáciu predovšetkým v období do 3 týždňov po odstave prasiatok.

Literatúra

- Alexopoulos, C., Papaioannou, D. S., Fortomaris, P., Kyriakis, C. S., Tserveni-Goussi, A., Yannakopoulos, A., Kyriakis, S. C., 2007: Experimental study on the effect of in-feed administration of a clinoptilolite-rich tuff on certain biochemical and haematological parameters of growing and fattening pigs. *Livest. Sci.*, 111, 230–241. DOI: 10.1016/j.livsci.2007.01.152.
- Ball, R. O., Aherne, F. X., 1982: Effect of diet complexity and feed restriction on the incidence and severity of diarrhoea in early-weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 62, 907–913.
- Ghasemi, Z., Sourinejad, I., Kazemian, H., Rohani, S., 2016: Application of zeolites in aquaculture industry: a review. *Rev. Aquaculture*, 10, 75–95. DOI: 10.1111/raq.12148.
- Hampson, D. J., 1986: Influence of creep feeding and dietary intake after weaning on malabsorption and occurrence of diarrhoea in newly weaned pig. *Research in Veterinary Science*, 41, 1, 63–69.
- Mackinnon, J. D., 2015: Differential diagnosis of post-weaning diarrhoea in pigs. https://www.pig333.com/articles/differential-diagnosis-of-post-weaning-diarrhoea-in-pigs_10484/.
- Nabuurs, M. J. A., 1991: *Etiologic and Pathogenic Studies on Postweaning Diarrhoea*. PhD. Thesis, State University of Utrecht, Centraal Diergeneeskundig Instituut. Lelystad, the Netherlands, pp. 131.
- Nakaue, H. S., Koelliker, J. K., 1981: Studies with clinoptilolite in poultry. I. Effect of feeding varying levels of clinoptilolite (zeolite) to dwarf Single Comb White Leghorn pullets and ammonia production. *Poult. Sci.*, 60, 944–949. DOI: 10.3382/ps.0600944.
- Ouhida, I., Pérez, J. F., Piedrafita, J., Gasa, J., 2000: The effects of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity. Productive performance and nutritive value. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 85, 183–194. DOI: 10.1016/S0377-8401(00)00148-6
- Papaioannou, D. S., Kyriakis, C. S., Alexopoulos, C., Tzika, E. D., Polizopoulou, Z. S., Kyriakis, S. C., 2004: A field study on the effect of the dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials, on the health status and performance of weaned, growing and finishing pigs. *Res Vet Sci.*, 76, 1, 19–29. DOI: 10.1016/j.rvsc.2003.08.006.
- Papaioannou, D., Katsoulos, P. D., Panousis, N., Karatzias, H., 2005: The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous Mesoporous Mater.*, 84, 161–170. DOI: 10.1016/j.micromeso.2005.05.030.
- Prvulović, D., Jovanović-Galović, A., Stanić, B., Popović, M., Grubor-Lajšić, G., 2007: Effects of a clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. *Czech J. Anim. Sci.*, 52, 6, 159–164. DOI: 10.17221/2317-CJAS.
- Ramos, A.-J., Fink-Gremmels, J., Hernandez, E., 1996: Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J. Food Prot.*, 59, 631–641.
- Reháková, M., Čuvanová, S., Dzivák, M., Rimár, J., Gavalová, Z., 2004: Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the clinoptilolite type. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 8, 6, 397–404. DOI:10.1016/j.cossms.2005.04.004.



14. Sabater-Vilar, M., Malekinejad, H., Selman, M. H. J., Van Der Doelen, M. A. M., Johanna FinkGremmels, J., 2007: In vitro assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxicoses. *Mycopathologia*, 163, 81–90. DOI: 10.1007/s11046-007-0093-6.
15. Sabet, F., A., Libre, N. A., Shekarchi, M., 2013: Mechanical and durability properties of self-consolidating high performance concrete incorporating natural zeolite, silica fume and fly ash. *Construct Building Mat.*, 44, 175–84. DOI: 10.1016/j.conbuildmat.2013.02.069.
16. Shurson, G. C., Ku, P. K., Miller, E. R., Yokoyama, M. T., 1984: Effects of zeolite A or clinoptilolite in diets of growing swine. *J. Anim. Sci.*, 59, 1536–1545.
17. Šperanda, M., Liker, B., Šperanda, T., Šerić, V., Antunović, Z., Grabarević, Ž., et al., 2006: Haematological and biochemical parameters of weaned piglets fed on fodder mixture contaminated by zearalenone with addition of clinoptilolite. *Acta Vet. (Beograd)*, 56, 121–136. DOI: 10.2298/AVB0603121S.
18. Straková, E., Suchý, P., Herzig, I., Šerman, V., Mas, N., 2008: The long-term administration of a clinoptilolite-supplemented feed to layers and its effect on performance, haematological parameters and metabolic profile. *Czech J. Anim. Sci.*, 53, 5, 212–218. DOI: 10.17221/311-CJAS.
19. Thieu, N. Q., Ogle, B., Pettersson, H., 2008: Efficacy of bentonite clay in ameliorating aflatoxicosis in piglets fed aflatoxin contaminated diets. *Trop. Anim. Health Prod.*, 40, 649–656. DOI:10.1007/s11250-008-9144-3.
20. Valpotic, H., Terzic, S., Vince, S., Samardzija, M., Turk, R., Lackovic, G., et al., 2016: In-feed supplementation of a clinoptilolite favorably modulates intestinal and systemic immunity and some production parameters in weaned pigs. *Vet. Med.*, 61, 317–327. DOI: 10.17221/175/2015-VETMED.
21. Valpotić, H., Barić-Rafaj, R., Mrljak, V., Grabarević, Ž., Samardžija, M., Šperanda, M., et al., 2017: Influence of dietary mannan oligosaccharide and clinoptilolite on hematological, biochemical and gut histological parameters in weaned pigs. *Period. Biol.*, 119, 63–73. DOI: 10.18054/pb.v119i1.4407.
22. Wu, Q. J., Wang, L. C., Zhou, Y. M., Zhang, J. F., Wang, T., 2013: Effects of clinoptilolite and modified clinoptilolite on the growth performance, intestinal microflora, and gut parameters of broilers. *Poult. Sci.*, 92, 684–692.

Kontaktné adresy: MVDr. Jaroslav Novotný, PhD., doc. MVDr. Vladimír Macák, PhD., MVDr. Petronela Kyzeková, prof. MVDr. Peter Reichel, CSc., Univerzitná veterinárna nemocnica, Klinika ošipáných, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská republika. E-mail: jaroslav.novotny@uvlf.sk, vladimir.macak@uvlf.sk, petronela.kyzekova@student.uvlf.sk, peter.reichel@uvlf.sk, prof. MVDr. Slavomír Marcincák, PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská republika. E-mail: slavomir.marcincak@uvlf.sk



ZMENY FENOTYPOVÉHO PREJAVU ANTIMIKROBIÁLNEJ REZISTENCIE U DRUHU *S. AUREUS* VPLYVOM MRAZIARENSKÉHO SKLADOVANIA POTRAVÍN CHANGES IN THE PHENOTYPIC MANIFESTATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *S. AUREUS* DURING FREEZER FOOD STORAGE

Ivana Regecová, Monika Pipová, Pavlina Jevinová, Jana Výrostková, Soňa Demjanová, Denis Šugarek

Abstract: The aim of the study was to identify 16 strains of *Staphylococcus aureus* from food of animal origin by PCR. Resistance to six selected antibiotics was determined using the disk diffusion method. In our study, *Staphylococcus aureus* strains showed the greatest resistance to penicillin (100%) and cefoxitin (50%) immediately after isolation. After initial detection of the phenotypic manifestation of antimicrobial resistance, the isolates were stored at -18 °C for 3 months. Storage of the tested isolates caused a decrease in the number of staphylococcal strains resistant to cefoxitin, erythromycin and tetracycline.

Keywords: antibiotic, freezer storage, resistance, staphylococci

Úvod

Väčšina prípadov ochorenia z potravín je spojená s konzumáciou potravín kontaminovaných potravinovými bakteriálnymi patogénmi (Rajnbar et al., 2017) vrátane *Staphylococcus aureus* (Hasanpour et al., 2017). Potravinové baktérie *S. aureus* sú zvyčajne spojené so zvýšenou prevalenciou rezistencie na antibiotiká. Zároveň podliehajú počas spracovania a skladovania potravín rôznym fyzikálnymi a chemickým stresom (napr. osmózou, ohrevom, mrazením (Safarpour et al., 2017; Ma et al., 2019). Používanie práve týchto spôsobov spracovania a skladovania môže účinne inaktivovať patogény a narušiť genetické determinanty faktorov virulencie a antimikrobiálnej rezistencie a tým do istej miery zabezpečiť bezpečnosť potravín (Zhang et al., 2017).

Materiál a metódy

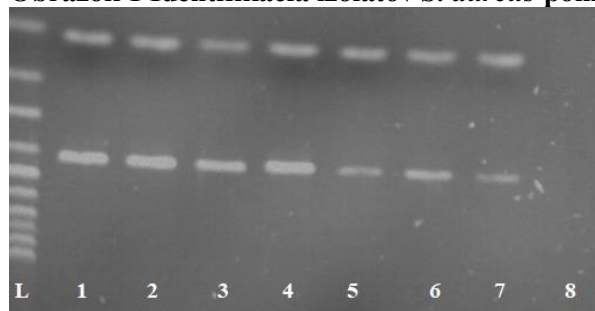
Na mikrobiologické vyšetrenie boli odobraté 3 vzorky zo stehennej svaloviny ošípanej, 3 vzorky zo stehennej svaloviny kurčiat a 3 vzorky z hovädzej sviečkovice. Zo sterilne odobratých vzoriek sa stafylokoky izolovali podľa pokynov STN EN ISO 6888-1/A1 (2004). Získané izoláty sa identifikovali ako *S. aureus* pomocou multiplex PCR metódy podľa Stromenger et al. (2003). Následne sa u izolátov identifikovaných ako *S. aureus* stanovovala antimikrobiálna rezistencia na vybrané antibiotiká (penicilín, cefoxitín, klindamycin, erytromycín, tetracyklín, gentamicín) diskovou difúznou metódou (DDM) podľa postupu CLSI (2020). Izoláty sa po stanovení antimikrobiálnej rezistencie uskladnili v glycerínových konzervách pri teplote -18 °C. Po 3 mesiacoch uskladnenia sa opätovne u izolátov detegovala citlivosť izolátov k vybraným antibiotikám pomocou DDM.

Výsledky a diskusia

Mikrobiologickým vyšetrením hovädzej sviečkovice, vzoriek stehennej svaloviny ošípanej a kurčiat bolo vyizolovaných 40 kmeňov. Z toho, pomocou multiplexnej PCR bolo 16 kmeňov identifikovaných ako *S. aureus* (Obrázok 1).



Obrázok 1 Identifikácia izolátov *S. aureus* pomocou PCR metódy



L – 100 bp štandarda; dráhy: 1 – pozitívna kontrola *S. aureus* CCM 4223 (420bp - *16S rDNA* gén a 107 bp - gén špecifického pre *S. aureus*); 2 - 7 izoláty *S. aureus*; 8 – negatívna kontrola

U identifikovaných stafylokokov sa pomocou DDM stanovila citlivosť na jednotlivé antibiotiká. Ihneď po inkubácii sa potvrdila najčastejšie rezistencia voči penicilínu a to u všetkých 16 kmeňov (100 %). Pomocou DDM, vykonanej hneď po 24 hodinovej inkubácii izolátov, sa potvrdila rezistencia aj na cefoxitín (50 %), erytromycín (38 %) a tetracyklín (31 %; Tabuľka 1). V roku 2016 bola realizovaná podobná vedecká štúdia, ktorá testovala antimikrobiálnu rezistenciu u 16 kmeňov *S. aureus* v produktoch živočíšneho pôvodu. U 25 % testovaných izolátov potvrdili rezistenciu voči penicilínu. Zároveň, kmene boli testované na antibiotikum erytromycín, pričom rezistenciu vykazovalo len 3 % izolátov (Vasiľ et al., 2016).

Tab. 1 Počty rezistentných (R), intermediárne citlivých (I) a citlivých (C) izolátov *S. aureus* pred a po skladovaní

ATB (disk µg)	C		I		R	
	ihneď po inkubácii	po 3 mesiacoch skladovania pri -18 °C	ihneď po inkubácii	po 3 mesiacoch skladovania pri -18 °C	ihneď po inkubácii	po 3 mesiacoch skladovania pri -18 °C
Penicilín (10)	0	0	0	0	16	16
Cefoxitín (30)	8	16	0	0	8	0
Erytromycín (15)	6	10	4	4	6	2
Klindamycín (2)	16	14	0	2	0	0
Gentamicín (10)	13	16	3	0	0	0
Tetracyklín (30)	11	14	0	1	5	1

Kelsi et al. (2006), vo svojej vedeckej štúdií potvrdil, že pod vplyvom chladového šoku môže dôjsť k zmenám vo vnútri bunky, ktoré sa prejavili u izolátov *S. aureus* v 89 % až 100 %. Tieto výsledky korelujú s našou štúdiou kde po skladovaní izolátov 3 mesiace pri teplote -18 °C sa u testovaných kmeňov potvrdila zmena rezistencie, a to na cefoxitín (0 %), erytromycín (13 %), tetracyklín (6 %). Testované kmene vykazovali vyššiu citlivosť na tieto antibiotiká po skladovaní ako pred ňou. V prípade klindamycínu a tetracyklínu sa prejavili niektoré prvotne citlivé izoláty ako intermediárne citlivé. V prípade gentamicínu sa po skladovaní u izolátov vytratila intermediárna citlivosť a všetky kmene boli citlivé na toto antibiotikum (Tabuľka 1).

Záver

Tieto výsledky poukazujú na jednu z možností ako znížiť výskyt rezistentných kmeňov pomocou úpravy teploty pri skladovaní potravín. Potvrdenie uvedených skutočností si však do budúcnosti vyžaduje vykonanie rozsiahlejšej štúdie vrátane analýzy špecifických antimikrobiálnych determinantov rezistencie.



Literatúra

1. CLSI document M100 – S30. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 30th informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, USA. 2020, 330 s.
2. HASANPOUR D. A, et al. One-year prevalence of antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat. In *Tropical Biomedicine*. 2017, vol.34, no. 2, p. 396–404.
3. KELSI, L. A. et al. Characterization of the *Staphylococcus aureus* heat shock, cold shock, stringent, and SOS responses and their effects on log-phase mRNA turnover. In *Journal of Bacteriology*. 2006, vol. 188, no. 19, p. 6739-6756.
4. MA, Y., et al. Stress tolerance of *Staphylococcus aureus* with different antibiotic resistance profiles. In *Microbial Pathogenesis*, 2019, p. 103549.
5. RANJBAR R, et al. Shiga (Vero)-toxin producing *Escherichia coli* isolated from the hospital foods; virulence factors, o-serogroups and antimicrobial resistance properties. In *Antimicrobial Resistant and Infection Control*. 2017, vol. 6, no. 1, p. 4.
6. SAFARPOOR D. F et al. Genotypic and phenotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. In *Antimicrobial Resistant and Infection Control*, 2017, vol. 6, no. 1, p. 104.
7. STN EN ISO 6888-1/A1. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda stanovenia počtu koaguláza-pozitívnych stafylokokov (*Staphylococcus aureus* a ďalšie druhy). Časť 1: Metóda s použitím Bairdovho-Parkerovho agarového média. Bratislava, SR: SÚTN. 2004.
8. STROMMINGER B. et al. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. In *Journal of Clinical Microbiology*. 2003, vol. 41, no.9, p. 4089-4094.
9. VASIL M., et al., Antibiotic resistance in bacteria *Staphylococcus* spp. isolated from samples of raw sheep's milk, *Potravinárstvo*, 2016, vol. 10, no. 1, p. 619-624.
10. ZHANG, C.M. et al. Effects of ultraviolet disinfection on antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater: Inactivation, antibiotic resistance profiles and antibiotic resistance genes. In *Journal of Applied Microbiology*, 2017, vol. 123, no. 1, p. 295-306.

Kontaktná adresa: MVDr. Ivana Regecová, PhD., Katedra hygieny, technológie a bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.
E-mail: ivana.regecova@uvlf.sk



VPLYV MODIFIKÁCIE PROTEÍNOVÉHO ZLOŽENIA VSTUPNEJ SUROVINY NA FERMENTAČNÉ PROCESY EXPERIMENTÁLNE VYROBENÝCH VZORIEK ACIDOFILNÉHO MLIEKA

EFFECT OF PROTEIN CONTENT MODIFICATION OF INPUT RAW MATERIAL ON FERMENTATION PROCESSES OF EXPERIMENTAL MADE ACIDOPHILUS MILK

Boris Semjon, Andrea Mokányová, Jana Maľová, Lukáš Bujňák, Slavomír Marcinčák

Abstract: The quality of experimental samples of acidophilus milk during the storage period of 14 days at 4 ± 2 °C was studied. Determination of quality was performed by the determination of physico-chemical variables. The experimental samples of acidophilus milk were prepared with and without the addition of milk proteins. The titration acidity of all samples increased by approximately 4 °SH. Higher protein values were recorded in protein content by the Kjeldahl method. After the storage period, an increase in protein content was observed in sample of whole acidophilus milk with a 5% milk protein addition (from 1.91% to 4.26%).

Keywords: physico-chemical parameters, sensory evaluation, acidophilic milk, quality

Úvod

Kyslomliečne výrobky, označované aj ako fermentované výrobky, sú výrobky vyrábané z kravského, kozieho alebo ovčieho mlieka, prípadne z mliečnych výrobkov, ku ktorým boli zámerne pridané vhodné mikroorganizmy (Šnirc a Golian 2016). Charakteristickou črtou je prítomnosť vhodných mikroorganizmov v závislosti od finálneho výrobku. V konečnom produkte musia byť v nadbytku, čo predstavuje najmenej 10^7 živých mikroorganizmov v 1 ml alebo v 1 g kyslomliečnych výrobkov (Lengyelová et al. 2010).

Baktérie mliečneho kvasenia menia zloženie mlieka tak, že na väčšinu mikroorganizmov pôsobí bakteriostatický alebo dokonca baktericídne. Tieto podmienky sa docielia nízkym pH (4,6 až 4,0), pričom sa produkujú metabolity, ktoré poskytujú želané sensorické vlastnosti alebo sa produkujú enzýmy, ktoré napomôžu dozrievaniu fermentovaného výrobku (Walstra et al. 2006; Prajapati et al. 2018).

Fermentácia mlieka je príkladom predĺženia trvanlivosti výrobkov biologickou konzerváciou. V tomto procese je časť laktózy premenená na kyselinu mliečnu. Zároveň môžu vznikáť napr. karbonylové zlúčeniny, prchavé mastné kyseliny, aminokyseliny, etanol, polysacharidy, oxid uhličitý a niektoré vitamíny. Tieto zlúčeniny spolu s ostatnými faktormi vplyvajú na sensorické a nutričné vlastnosti kyslomliečnych výrobkov (Plocková 2002). Štiepenie týchto látok závisí od druhu fermentácie mliečného kvasenia, ktorá môže byť homofermentatívna alebo heterofermentatívna. Pri homofermentatívnej fermentácii je kyselina mliečna jediný konečný produkt. Heterofermentatívna fermentácia produkuje okrem kyseliny mliečnej najmä etanol a CO_2 (Maczulak 2011).

Premena laktózy na kyselinu mliečnu má konzervačný účinok na mlieko. Nízke pH kultivovaného mlieka bráni rastu hnilobných baktérií a iných škodlivých mikroorganizmov, čím predlžuje trvanlivosť produktu. Na druhej strane, okyslené mlieko je priaznivým prostredím pre kvasinky a plesne, ktoré spôsobujú nepríjemné chute, nafúknutie obalu atď., ak je umožnený ich rast (Bylund 2019).



Rozlišujú sa dve metódy fermentácie v závislosti od výroby daného výrobky. Prvou je termostatová metóda, ktorá sa využíva napr. pri výrobe jogurtov s tuhou konzistenciou. Pri tejto metóde sa naočkované mlieko dávkuje do obalu. Po uzavretí obalov nastáva fermentácia (zrenie) až po dosiahnutie pH v závislosti od použitej kultúry a výrobky sa ochladia pod 10 °C (Šnirc a Golian 2016). Tanková metóda je využívaná napr. pri výrobe acidofilného, kefirového a kyslého mlieka. Fermentácia prebieha v koagulačných tankoch. Po dosiahnutí pH 4,5 – 4,7 sa koagulát chladí priamo v tanku alebo vo výmenníkoch tepla (trubkové, doskové), kde bol koagulát. Po ochladení na teplotu 15 – 22 °C (Dudříková et al. 2014) sa sfermentované mlieko prečerpá do vyrovnávacieho tanku, kde sa ponechá pre ďalšie technologické úkony (Šnirc a Golian 2016).

Nebezpečenstvo počas fermentácie môže spôsobiť slabá aktivita použitej mliekarenskej kultúry, čo nám zapríčiní nedostatočnú tvorbu aromatických látok a tým zhoršenie celkovej sensorickej kvality produktu. Dôležité je sledovanie hodnoty pH a titračnej kyslosti (Burdová, Turek, Cabadaj 2001).

Materiál a metódy

Príprava jednotlivých sérií experimentálnych vzoriek acidofilných mliek pozostávala z výroby kontrolných vzoriek bez prídavku mliečnych bielkovín z plnotučného (AAK1, AAK2, AAK3) a polotučného mlieka (ABK1, ABK2, ABK3) a vzoriek plnotučného (AA51, AA52, AA53) a polotučného mlieka (AB51, AB52, AB53), ku ktorým bolo pridané 5 % mliečnych bielkovín. Do jednotlivých druhov mliek (plnotučné, polotučné) s objemom 1 liter sme pridali sušenú acidofilnú kultúru *Lb. acidophilus*, následne dôkladne premiešali a uzatvorili. Pripravené vzorky s acidofilnou kultúrou sme inkubovali pri teplote 37 °C po dobu 16 hodín. Po inkubácii acidofilného mlieka sme pridali predpripravený smotanový zákys v pomere 1 : 9. Smotanový zákys pozostával zo smotanovej kultúry a plnotučného mlieka, ktorý sme inkubovali pri teplote 21 °C po dobu 16 hodín. Po premiešaní fliaš acidofilného mlieka so smotanovým zákysom sme pridali k určeným sériám vzoriek (AA5, AB5) mliečne bielkoviny v práškovej forme (Whey Isolate CFM WPI90 Natural) v množstve 5 % s presnosťou na 0,01 g. Štandardizované acidofilné produkty sme dôkladne premiešali a uložili do chladiaceho zariadenia pri teplote 4 ± 2 °C.

Experimentálne vyrobené vzorky mlieka sme pripravovali v priestoroch Ústavu hygieny a technológie mlieka, v technologickvej cvičebni a analyzovali v chemickom laboratóriu. Pripravených 12 vzoriek acidofilného mlieka sme hodnotili počas 14 dní od počiatku výroby až po skladovanie pri chladničkovvej teplote (4 ± 2 °C). Stanovovali sme fyzikálno-chemické parametre vzoriek acidofilného mlieka.

Počas procesu výroby a počas skladovania sme merali aktívnu kyslosť experimentálnych vzoriek acidofilného mlieka pomocou pH metra 7110 InoLab (WTW, Nemecko). Vzorky sme analyzovali na obsah sušiny acidofilného mlieka sušením do konštantnej hmotnosti podľa Dudříková a Pažáková (2009) pri teplote 102 ± 2 °C.

Titračnú kyslosť vzoriek sme stanovili metódou podľa Soxhlet-Henkela, ktorú sme vyjadrovali ako množstvom (v ml) roztoku hydroxidu sodného c (NaOH) = 0,25 mol. l⁻¹ potrebného na titráciu 100 ml acidofilného mlieka za použitia fenolftaleínu ako indikátora. Obsah tuku vo vzorkách acidofilného mlieka sme stanovili modifikovanou butyrometrickou metódou podľa Gerbera (Dudříková a Pažáková 2009). Obsah bielkovín sme stanovovali Kjeldahlovou metódou pričom na výpočet obsahu bielkovín sme použili faktor 6,25 pre mlieko a mliečne výrobok podľa autorov Bujňák a Hreško Šamudovská (2017).



Výsledky a diskusia

Výsledky z jednotlivých fyzikálno-chemických analýz sme zhrnuli do tabuľky 1. V tabuľke sú výsledky uvedené pred skladovaním (čerstvo vyrobené) a po dvojtyždňovom skladovaní. Tabuľka uvádza označenia vzoriek, meraný fyzikálno-chemický parameter a to pH, obsah bielkovín, titračná kyslosť, obsah tuku, obsah sušiny a aktivita vody. Výsledky sú vyjadrené ako priemer a smerodajná odchýlka šiestich meraní.

Pri meraní aktívnej kyslosti sme zistili, že pri čerstvo vyrobených vzorkách a vzorkách po skladovaní nedochádza k výrazným rozdielom medzi nameranými hodnotami. Minimálne zmeny v hodnotách boli zaznamenané aj vo vzorkách acidofilných mliek, kde boli zámerne pridané mliečne bielkoviny.

Metódou podľa Kjeldahla sme zistili obsah bielkovín resp. dusíkatých látok vo vzorkách acidofilného mlieka. Z tabuľky je viditeľné, že obsah bielkovín stúpol vo všetkých vzorkách po 14 dňovom skladovaní. Najväčší výkyv bol u vzorky AA5. Jedná sa o plnotučné acidofilné mlieko s prídavkom mliečnej bielkoviny. Zmenu titračnej kyslosti sme zaznamenali po 14 dňovej lehote skladovania. V jednotlivých vzorkách stúpla titračná kyslosť približne o 4°SH. Pri stanovení obsahu sušiny sušením do konštantnej hmotnosti a obsahu tuku stanoveného metódou podľa Gerbera sme nezistili veľké zmeny v hodnotách pred skladovaním a po skladovaní.

Bakteriálne znehodnotenie fermentovaného mlieka je málo pravdepodobné. Kombinácia tepelného ošetrenia, prítomnosť aktívnych čistých mliekarenských kultúr (ČMK), nízke pH a chladenie zabraňuje rastu bakteriálnych kontaminantov. Problémom sa môže stať kontaminácia bakteriofágmi, ktoré majú schopnosť inaktivovať ČMK alebo spôsobiť pomalé okysľovanie. Preto je dôležité vyrábať fermentované mlieka v hygienických podmienkach, aby sa minimalizovala kontaminácia (Fernandes 2009).

Úroveň prežitia patogénnych organizmov vo fermentovanom stave mlieka závisí od závažnosti kontaminácie a pH produktu. Napr. výrobky (jogurty) s hodnotami pH > 4,5 umožňujú prežitie salmonel až 10 dní. Prítomnosť koliformných baktérií indikuje zlé hygienické podmienky počas výroby fermentovaných mliečnych výrobkov. Patria sem druhy *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* a *Citrobacter freundii* a rod *Enterobacter*, *Proteus*, *Psychrobacter*, *Halomonas* a *Serratia*. Špecifickými patogénmi sú najmä enterotoxigénne patotypy *E. coli* a *Salmonella* (Fernández et al. 2015). Vo všeobecnosti koliformné baktérie neznášajú vysokú kyslosť a preto sú zriedkavo prítomné vo fermentovaných mliečnych výrobkoch s nízkymi hodnotami pH (Yildiz 2010). Grampozitívne baktérie spojené s otravou jedlom zahŕňajú hlavne nesporulujúce mikroorganizmy z rodov *Staphylococcus* a *Listeria*, ako aj sporulujúce *Clostridium terium*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* a členov skupiny *Bacillus cereus* (Fernández et al. 2015).

Tab. 1 Výsledky fyzikálno-chemických analýz experimentálnych vzoriek acidofilného mlieka pred a po skladovaní

Parameter	Vzorka	Pred skladovaním	Po skladovaní
		priemer ± SD	
pH	AAK	4,65 ± 0,00	4,48 ± 0,00
	AA5	4,60 ± 0,00	4,49 ± 0,00
	ABK	4,53 ± 0,00	4,42 ± 0,00
	AB5	4,6 ± 0,00	4,51 ± 0,00
Obsah bielkovín (%)	AAK	1,29 ± 0,20	3,19 ± 0,41
	AA5	1,91 ± 0,22	4,26 ± 1,12
	ABK	1,39 ± 0,08	1,80 ± 0,34
	AB5	2,01 ± 0,29	2,62 ± 0,20



Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

Titračná kyslosť (°SH)	AAK	33,33 ± 0,56	37,97 ± 0,65
	AA5	39,97 ± 0,24	43,15 ± 0,91
	ABK	34,27 ± 0,87	38,95 ± 0,14
	AB5	42,63 ± 0,63	45,3 ± 0,48
Obsah tuku (%)	AAK	2,92 ± 0,12	2,90 ± 0,09
	AA5	2,85 ± 0,1	2,98 ± 0,08
	ABK	1,53 ± 0,05	1,45 ± 0,05
	AB5	1,60 ± 0,09	1,55 ± 0,1
Obsah sušiny (%)	AAK	12,52 ± 0,53	12,53 ± 0,4
	AA5	13,69 ± 0,51	12,03 ± 1,29
	ABK	10,56 ± 0,27	10,08 ± 1,17
	AB5	12,52 ± 0,43	12,56 ± 0,12

AAK – plnotučné acidofilné mlieko; AA5 – plnotučné acidofilné mlieko s prídavkom mliečnej bielkoviny; ABK – polotučné acidofilné mlieko; AB5 – polotučné acidofilné mlieko s prídavkom mliečnej bielkoviny.

Napriek nízkemu riziku patogénnych baktérií vo fermentovanom mlieku môže nastať znehodnotenie fermentovaného mliečného výrobku kvasinkami alebo mikroskopickými vláknitými hubami (Ahmed et al. 2014). Najčastejšie zaznamenané prípady znehodnotenia sa týkajú jogurtov. Jogurty, ktoré obsahujú sacharózu pridaním ovocných džemov, príchuť alebo čokolády sú obzvlášť citlivé na tento druh znehodnotenia, pretože mnohé kvasinky sú schopné fermentovať sacharózu (Fernandes 2009). Najbežnejšie izolované kvasinky z ovocného jogurtu sú *Kluyveromyces* spp. a *Saccharomyces* spp. (Yildiz 2010). Znehodnotenie fermentovaných mliečnych výrobkov mikromycétami nastane za prítomnosti širokej škály metabolických vedľajších produktov mikromycét, ktoré spôsobia zmeny vo farbe a textúre (Khalifa a Nossair 2015). Za najčastejšie rody mikroskopických vláknitých húb vo fermentovaných mliečnych výrobkoch sa považujú *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., a *Alternaria* spp. (Yildiz 2010).

Záver

Acidofilné mlieko patriace do skupiny fermentovaných výrobkov je v dnešnej dobe pomerne vyhľadávaným kyslomliečnym výrobkom, najmä pre jeho dietetické a výživové vlastnosti. Na trhu sa s ním stretáme ako plnotučné a polotučné acidofilné mlieko, bez ochutnenia alebo s ochutením.

Analýza vplyvu doby skladovateľnosti na experimentálne vzorky acidofilného mlieka potvrdila, že časom sa skutočne zmenili hodnoty niektorých parametrov. Na základe dosiahnutých výsledkov tejto práce môžeme odporučiť prídavok mliečnej bielkoviny do špeciálnej výroby radu acidofilných mliek so zvýšenou nutričnou hodnotou pri zachovaní parametrov ich sensorického štandardu avšak podrobné skúmanie vplyvu prídavku bielkovín, najmä na prítomnú mikrobiotu v acidofilných mliekach, bude nevyhnutné.

PodĎakovanie : Realizácia experimentu bola finančne podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2020.

Literatúra

1. AHMED, L. I. et al. Hygienic Quality of Some Fermented Milk Products. In *International journal of Dairy Science*. Egypt: Academic Journals Inc. ISSN 1811-9743, 2014, p. 63-64.
2. BUJŇÁK, L. – HREŠKO ŠAMUDOVSÁ, A. *Návody na praktické cvičenia z výživy zvierat*. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 1. vydanie, 2017. 106 s. ISBN 978-80-8077-550-6.
3. BURDOVÁ, O. – TUREK, P. – CABADAJ, R. 2001. *Hygienu mlieka z pohľadu správnej výrobných praxe a aplikácia HACCP do výroby a spracovania mlieka*. Bratislava : Štátna veterinárna správa SR, 2001. ISBN 80-7148-048-7.



4. BYLUND, G. The Dairy Processing Handbook. *Fermented Milk Products. Chapter 11*. [online]. Switzerland: Tetra Pak International S.A., 2019. [cit. 2019-04-10]. Dostupné na internete: <<https://dairyprocessinghandbook.com/chapter/fermented-milk-products>>.
5. DUDRÍKOVÁ, E. – PAŽÁKOVÁ, J. *Hygiena a technológia mlieka a mliečnych výrobkov. Praktické cvičenia 2. časť*. Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach: Edičné stredisko UVL v Košiciach, 2009. 114 s. ISBN 978-80-8077-134-8.
6. DUDRÍKOVÁ, E. et al. *Technológia výroby, bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov pre magistratov*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, 2014. 307 s. ISBN 978-80-8077-447-9.
7. FERNANDES, R. *Microbiology Handbook Dairy Products*. UK: Leatherhead Food International Ltd, 2009. 182 p. ISBN: 978-1-905224-62-3.
8. FERNÁNDEZ, M. et al. Role of Microorganisms Present in Dairy Fermented Products in Health and Disease. In *BioMed Research International, Special Issue*. [online]. Article ID 412714, 2015. [cit. 2020-03-14]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1155/2015/412714>>.
9. KHALIFA, E. – NOSSAI, M. Comparative Mycological Assay on Prevalence of Yeasts, Molds and Aflatoxin M1 (AFM1) in Some Fermented Milk Products in Alexandria, Egypt. In *Life Science Journal*. [online]. 2016. [cit. 2020-03-13]. Dostupné na internete: <http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life130716/03_30862ljsj130716_20_29.pdf>.
10. LENGYELOVÁ, L. et al. Comparison of occurrence lactic acid bacteria in chosen yogurts. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. ISSN 1337-0960, 2010. vol. 4, no. 4, p. 38.
11. MACZULAK, A. *Encyclopedia of Microbiology*. New York: Facts On File, Inc., 2011. 465 p. ISBN 978-1-4381-3406-2.
12. PRAJAPATI, J. B. et al. *Starter Cultures and Fermented Milk Products*. [online]. India: AgriMoon Team, 2018. [cit. 2019-04-23]. p. 137-141. Dostupné na internete: <<https://www.agrimoon.com/wp-content/uploads/Starter-Cultures-and-Fermented-Milk-Products.pdf>>.
13. ŠNIRC, J. – GOLIAN, J. et al. *Mlieko a mliečne výrobky. II. Diel - Technológia výroby mliečnych výrobkov*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2016. 254 s. ISBN 978-80-552-1451-1.
14. TŮMA, Š. – PLOCKOVÁ, M. Protektivní kultury pro výrobu polotvrdých sýrů. In *Mléko a sýry (sborník přednášek semináře)*. Praha: 2007, ISBN 978 – 80 – 7080 – 661 – 6. s. 31-35.
15. WALSTRA, P. et al. *Dairy Science and Technology*. Boca Raton, FL, USA: CRC press, 2006. 377; 763 p. ISBN 0-8247-2763-0 554.
16. YILDIZ, F. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, 2010. 451 p. ISBN 978-1-4200-8207-4

Kontaktné adresy: MVDr. Boris Semjon, PhD., Mgr. Andrea Mokányová, MVDr. Jana Maľová, PhD., prof. MVDr. Slavomír Marcincák, PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: boris.semjon@uvlf.sk, jana.malova@uvlf.sk, slavomir.marcincak@uvlf.sk. MVDr. Lukáš Bujňák, PhD., Katedry výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: lukas.bujnak@uvlf.sk

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a
veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

Pedologická sekcia





VPLYV OBRÁBANIA NA EMISIE OXIDU UHLIČITÉHO Z PÔDY

INFLUENCE OF TILLAGE ON CARBON DIOXIDE EMISSION

Ján Hecl, Božena Šoltysová, Igor Danielovič, Martin Danilovič

Abstract: The influence of tillage on carbon dioxide emission was solved in the conditions of Gleyic Fluvisols in Milhostov, where the Experimental workplace of NPPC – Agroecology Research Institute Michalovce is localized. The field experiment included two soil protection tillage (reduced tillage, no-tillage), which were compared with conventional tillage. We observed influence of tillage on CO₂ emissions from soil at crops (winter wheat, spring barley, soybeans, maize) in from 2016 to 2018. From the point of view of tillage, higher emission of carbon dioxide was measured in conventional tillage (0.169 g m⁻² h⁻¹) and lower in soil protection tillage (0.160 g m⁻² h⁻¹ in reduced tillage, respectively 0.162 g m⁻² h⁻¹ in no-tillage).

Keywords: carbon dioxide emission, Gleyic Fluvisols, tillage, winter wheat, spring barley, grain maize, soya

Úvod

Pôda je dôležitou a často podceňovanou súčasťou klimatického systému. Po oceánoch predstavuje druhú najväčšiu zásobáreň uhlíka. V dôsledku klimatických a intenzívnych zmien vo využívaní pôdy, sa zásoba organického uhlíka v pôdach pomerne rýchlo mení (Barančíková, *et al.*, 2010). Predovšetkým hlboká orba akceleruje mineralizáciu pôdnej organickej hmoty a tým znižuje zásobu uhlíka v intenzívne využívaných orných pôdach (Chukov, 2000). Obrábanie pôdy tak môže hrať veľmi dôležitú úlohu pri uvoľňovaní CO₂ z poľnohospodárskych pôd. Všeobecne platí, že každý hektár pôdy sa na kolobehu uhlíka v prírode podieľa s preukazne významnými množstvami. Z mnohoročných meraní vyplýva, že ročne sa môže z jedného hektára pôdy emitovať do ovzdušia 3 – 5 ton C-CO₂ a to v závislosti od pôdneho druhu a samozrejme od spôsobu jej využívania. Správa o rozdieloch v emisiách z roku 2013 z Programu OSN pre životné prostredie tvrdí, že zmena poľnohospodárskych postupov bez obrábania, ako alternatíva ku konvenčnému obrábaniu pôdy, spôsobí akumuláciu organického uhlíka v pôde, čím zmierni zmenu podnebia prostredníctvom sekvestrácie uhlíka.

Cieľom príspevku bol výskum vplyvu obrábania pôdy na uvoľňovanie CO₂ z pôdy pri plodinách (kukurica siata na zrnno, jačmeň siaty jarný, sója fazuľová, pšenica letná forma ozimná) pestovaných na fluvizemi glejovej.

Materiál a metódy

Pokusné merania boli realizované na ťažkých pôdach Východoslovenskej nížiny v Milhostove v rokoch 2016 – 2018. Experimentálne pracovisko v Milhostove je súčasťou NPPC – Výskumného ústavu agroekológie Michalovce. Pôdy sú charakterizované ako ťažké fluvizeme glejové s vysokým obsahom ílovitých častíc.

Merania emisií oxidu uhličitého boli realizované priamo v poľných podmienkach pri plodinách: kukurica siata na zrnno, jačmeň siaty jarný, sója fazuľová a pšenica letná forma ozimná, ktoré boli pri troch rozdielnych spôsoboch obrábania: PS – priama sejba do nespracovanej pôdy, RA – redukovaná agrotechnika, KA – konvenčná agrotechnika. Meranie pôdnej respirácie (uvoľňovanie CO₂) bolo realizované v sledovaných rokoch v štvortýždňových intervaloch od mája do ukončenia vegetácie plodín. V daných termínoch na



každom variante bolo uskutočnených 5 meraní v trojminútových intervaloch v troch opakovaníach. Pre meranie boli využité prístroje COMT 500. Priemerné výsledky zisteného množstva uvoľneného oxidu uhličitého pri pšenici letnej forme ozimnej, jačmeni siatom jarnom, sóji fazuľovej a kukurici na zrno boli prepočítané vzhľadom na množstvo emisií na začiatku a na konci merania, inkubačnú dobu, teplotu vzduchu na začiatku a na konci merania, objem inkubačnej nádoby a meranú plochu a boli uvedené v $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Pri každom meraní boli sledované faktory ovplyvňujúce množstvo uvoľňujúceho oxidu uhličitého (teplota pôdy, vlhkosť pôdy).

Výsledky a diskusia

V Tab. 1 sú uvedené priemerné hodnoty oxidu uhličitého uvoľneného z pôdy v rokoch 2016 – 2018 pri plodinách pestovaných pri rozdielnom obrábaní pôdy. Priemerné množstvo oxidu uhličitého uvoľneného z pôdy pod porastom pšenice letnej formy ozimnej bolo vyššie pri konvenčnej agrotechnike ($0,165 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) než pri pôdoochrannom obrábaní pôdy (redukovaná agrotechnika – $0,142 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, resp. priama sejba – $0,156 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$). Analogicky aj pri sóji a kukurici bolo zistené vyššie uvoľňovanie CO_2 pri konvenčnej agrotechnike ($0,182 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri sóji, $0,161 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri kukurici) a nižšie pri redukovanej agrotechnike ($0,176 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri sóji, $0,156 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri kukurici) a priamej sejbe ($0,172 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri sóji, $0,150 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri kukurici). Pri jačmeni siatom jarnom bolo uvoľnené množstvo emisii oxidu uhličitého pri priamej sejbe a konvenčnej agrotechnike porovnateľné.

Na základe zistených výsledkov je možné konštatovať, že z hľadiska obrábania pôdy bolo na fluvizemi glejovej namerané vyššie uvoľňovanie oxidu uhličitého pri konvenčnej agrotechnike (priemerne $0,169 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) a nižšie pri pôdoochrannom obrábaní pôdy (priemerne $0,160 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri redukovanej agrotechnike, resp. priemerne $0,162 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pri priamej sejbe).

Pokiaľ porovnáваме dva krajné spôsoby obrábania, teda konvenčnú agrotechniku a priamu sejbu, tak pri použití priamej sejby bolo zistené o 4,1 % nižšie uvoľňovanie oxidu uhličitého z pôdy než na oranom variante. Z hľadiska pestovanej plodiny bol najvyšší pokles emisií CO_2 pri priamej sejbe oproti konvenčnej agrotechnike zistený pri kukurici (-6,8 %) a nižší pri pšenici a sóji (-5,5 %). Pri použití redukovanej agrotechniky pokleslo uvoľňovanie oxidu uhličitého z pôdy o 5,3 % v porovnaní s konvenčnou agrotechnikou. V rámci plodín bol významný pokles zaznamenaný pri pšenici (-13,9 %) a nevýznamný pokles pri jačmeni, sóji a kukurici (-3,0 %, -3,3 %, resp. -3,1 %) v porovnaní s oraným variantom. To, že redukované systémy obrábania pôdy znižujú emisie CO_2 potvrdzujú práce mnohých autorov (Buragiene et al., 2015; O'Dell et al., 2020; Wang et al., 2020), ktorí zistili, že tieto systémy znižujú emisie CO_2 v porovnaní s konvenčným systémom s orbou. O'Dell et al. (2020) pri konvenčnom obrábaní pôdy namerali $0,93 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ emisií CO_2 a pri ochranných postupoch bez obrábania $0,56 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ emisií CO_2 . Podobne štúdia autorov Bilandžija, Zgorelec a Kisić (2014) naznačuje, že postupy obrábania pôdy majú významný vplyv na emisie CO_2 v pôde.

Tab. 1 Množstvo uvoľneného CO_2 [$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$] pri plodinách pestovaných pri rozdielnej agrotechnike

Plodina	Rok	KA	RA	PS	Priemer za roky
pšenica	2016	0,170	0,135	0,161	0,155
	2017	0,165	0,160	0,155	0,160
	2018	0,160	0,132	0,153	0,148
	priemer	0,165	0,142	0,156	0,154
jačmeň	2016	0,155	0,151	0,154	0,153
	2017	0,183	0,183	0,187	0,184
	2018	0,170	0,158	0,171	0,167
	priemer	0,169	0,164	0,171	0,168



Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

sója	2016	0,165	0,169	0,165	0,167
	2017	0,211	0,193	0,185	0,196
	2018	0,171	0,166	0,166	0,168
	priemer	0,182	0,176	0,172	0,177
kukurica	2016	0,182	0,170	0,169	0,174
	2017	0,154	0,161	0,140	0,152
	2018	0,147	0,136	0,142	0,142
	priemer	0,161	0,156	0,150	0,156
Priemer za obrábanie	2016	0,168	0,156	0,162	0,162
	2017	0,178	0,174	0,167	0,173
	2018	0,162	0,148	0,158	0,156
	priemer	0,169	0,160	0,162	0,164

kde: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika, PS – priama sejba

Abdalla *et al.* (2016) analyzovali celkom 46 recenzovaných publikácií v celkovom počte 174 párových pozorovaní porovnávajúcich emisie CO₂ z obrábaných a neobrábaných pôd s rôznymi druhmi plodín pestovanými v diferencovaných pôdnych a klimatických podmienkach s cieľom kvantifikovať vplyv obrábania na emisie CO₂. Autori zistili, že obrábané piesočnaté pôdy s nízkym obsahom organického uhlíka v pôde a nízkou pôdnou vlhkosťou emitovali v priemere o 21 % viac CO₂ ako nespracované pôdy. V ílovitých pôdach s vyšším obsahom organického uhlíka spracovanie pôdy nemalo žiadny vplyv na emisie CO₂. Tieto výsledky naznačujú, že neobrábanie pôdy je účinným zmiernujúcim opatrením strát oxidu uhličitého hlavne zo suchých piesočnatých pôd.

Powlson *et al.* (2014) tvrdia, že obrábanie pôdy je prospešné pre kvalitu pôdy a prispôsobenie poľnohospodárstva zmenám v podnebí, ale jeho úloha pri akumulácii organického uhlíka v pôde a pri zmiernovaní emisií CO₂ je často preceňovaná.

Tvrdenia Powlsona *et al.* (2014) a Abdalla *et al.* (2016) viac menej korešpondujú s našim zistením, keď pri plodine ako jačmeň jarný sme medzi jednotlivými obrábaniami pôdy nezaznamenali preukazné rozdiely v množstve uvoľneného CO₂ z pôdy.

V rámci ročníka bolo v hodnotenom období na fluvizemi glejovej priemerne vyššie uvoľňovanie oxidu uhličitého z pôdy zistené v roku 2017 (0,173 g.m⁻².h⁻¹), nižšie v roku 2016 (0,162 g.m⁻².h⁻¹) a najnižšie v roku 2018 (0,156 g.m⁻².h⁻¹). Z hľadiska pestovaných plodín bolo v roku 2017 vyššie uvoľňovanie oxidu uhličitého zistené len pri hustosiatych plodinách, akými sú pšenica, jačmeň a sója.

Záver

V podmienkach ťažkých pôd Východoslovenskej nížiny bol v pokusoch overovaný vplyv obrábania pôdy na uvoľňovanie CO₂ z pôdy. Z hľadiska obrábania pôdy bolo na pôdnom druhu fluvizem glejová namerané vyššie uvoľňovanie oxidu uhličitého pri konvenčnej agrotechnike a nižšie pri pôdoochrannom obrábaní pôdy. Pri použití priamej sejby bolo zistené o 4,1 % nižšie uvoľňovanie oxidu uhličitého z pôdy a pri redukovanej agrotechnike o 5,3 % v porovnaní s oraným variantom.

Z hľadiska pestovanej plodiny bol pri priamej sejbe najvýznamnejší pokles emisií oxidu uhličitého zaznamenaný pri kukurici siatej (-6,8 %) a pri redukovanej agrotechnike pri pšenici ozimnej (-13,9 %) v porovnaní s konvenčnou agrotechnikou.

Môžeme konštatovať, že intenzita emisií oxidu uhličitého z pôdy, ktoré prispievajú k skleníkovému efektu, sa môže líšiť v závislosti od mnohých faktorov, akými sú typ pôdy,



použitý systém obrábania pôdy, meteorologické podmienky (líšia sa v rôznych regiónoch sveta), vlastnosti pôdy, hnojenie, vlastnosti zvyškov rastlín a pod.

PodĎakovanie: Táto práca bola financovaná Ministerstvom poľnohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky v rámci riešenia rezortného projektu výskumu a vývoja (2016 – 2018) s názvom „Agroekosystémy zohľadňujúce faktory prostredia v zmenených pôdno-klimatických podmienkach“.

Literatúra

1. ABDALLA, K. *et al.* 2016. No-tillage lessens soil CO₂ emissions the most under arid and sandy soil conditions : Results from a meta-analysis. In: *Biogeosciences Open Access*, vol. 13, 2016, No. 12, pp. 3619-3633.
2. BARANČÍKOVÁ, G. *et al.* 2010. Modelovanie zásob pôdneho organického uhlíka na poľnohospodárskom podniku Agro Čergov s.r.o. Osikov. In: *Folia Oecologica* 4, roč. 51, 2010, s. 29-42.
3. BILANDŽIJA, D. – ZGORELEC, Ž. – KISIĆ, I. 2014. The influence of agroclimatic factors on soil CO₂ emissions. In: *Collegium Antropologicum Open Access*, vol. 38, 2014, pp. 77-83.
4. BURAGIENE, S. *et al.* 2015. Experimental analysis of CO₂ emissions from agricultural soils subjected to five different tillage systems in Lithuania. In: *Science of the Total Environment*, vol. 514, 2015, pp. 1-9.
5. CHUKOV, S.N. 2000. Study by ¹³C – NMR spectroscopy of humus acids molecular parameters in anthropogenically disturbed soils. In: Proceedings of 10th International Meeting of the IHSS. Toulouse, 2000, PP. 81-84.
6. O'DELL, D. *et al.* 2020. Conservation agriculture as a climate change mitigation strategy in Zimbabwe. In: *International Journal of Agricultural Sustainability*, vol. 18, 2020, No. 3, pp. 250-265.
7. POWLSON, D.S. *et al.* 2014. Limited potential of no-till agriculture for climate change mitigation. In: *Nature Climate Change*, vol. 4, 2014, No. 8, pp. 678-683.
8. WANG, H. *et al.* 2020. No tillage increases soil organic carbon storage and decreases carbon dioxide emission in the crop residue-returned farming system. In: *Journal of Environmental Management*, vol. 261, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110261>

Kontakné adresy: RNDr. Ján Hecl, PhD., Ing. Božena Šoltysová, PhD., RNDr. Igor Danielovič, PhD., Ing. Martin Danilovič, PhD., NPPC – Výskumný ústav agroekológie Michalovce, Špitálska 1273, 071 01 Michalovce, Slovenská republika. E-mail: jan.hecl@nppc.sk, bozena.soltysova@nppc.sk, igor.danielovic@nppc.sk, martin.danilovic@nppc.sk



DEGRADAČNÉ PROCESY POĽNOHOSPODÁRSKYCH PÔD SLOVENSKA V ZMENENÝCH SPOLOČENSKO- EKONOMICKÝCH PODMIENKACH PO ROKU 1993 DEGRADATION PROCESSES OF AGRICULTURAL SOILS IN CHANGED SOCIO-ECONOMIC CONDITIONS AFTER THE YEAR 1993

**Jozef Kobza, Gabriela Barančíková, Rastislav Dodok, Jarmila Makovníková,
Boris Pálka, Ján Styk, Miloš Širáň**

Abstract: Current state and development of soil properties according to main threats to soil (soil contamination, soil acidification, salinization and sodification, decline in soil organic matter, soil erosion and compaction) based on soil monitoring system in Slovakia are evaluated in this paper. Based on obtained results under the most frequent degradation processes belong soil erosion and compaction in opposite to soil acidification, salinization and sodification and soil contamination with slight development. In addition, slight stabilization of soil organic matter on agricultural land has been observed during last period.

Keywords: soil monitoring, soil degradation processes, agricultural soils, Slovakia

Úvod

Pôdy – individuálne jednotky pôdneho pokryvu – sú variabilné polychrónne a polygenetické útvary s veľkou schopnosťou odrazu (v zmysle teórie odrazu). Sú výsledkom dlhodobého vývoja a genézy. Počas tohto vývoja nadobudli určité znaky a vlastnosti, ktoré sú pre konkrétne pôdy viac alebo menej charakteristické, pričom tento ich „prirodzený“ vývoj stále prebieha. Viac charakteristické znaky a vlastnosti sa dotýkajú tých pôd, ktoré vo svojom vývoji dosiahli štádium klimaxu, ich ďalší vývoj je značne pomalý. Menej charakteristické znaky a vlastnosti súvisia s recentným až subrecentným vývojom pôd. Za takéto môžeme vo všeobecnosti pokladať iba tie pôdy alebo časti ich profilu, ktoré sú výsledkom pôsobenia takej interakcie pôdnych faktorov, ktorá je v určitej lokalite a časovo nadväzná na súčasnú. Pojem recentná pôda musíme vzťahovať na konkrétnu lokalitu i taxón klasifikácie pôd, pretože rôzne typy pôd reagujú svojim vývojom na meniace sa interakcie pôdotvorných faktorov rôzne.

Okrem prirodzeného vývoja pôd, kedy pôdy nadobúdajú určité vlastnosti, k uvedeným vývojovým tendenciám pristupuje navyše aj vplyv človeka, teda predovšetkým vplyv rôzneho hospodárskeho využívania a technológií, ktorý viac alebo menej rušivo zasahuje do prirodzeného vývoja pôd a zároveň viac alebo menej ovplyvňuje ich vlastnosti. Tento vplyv človeka sa môže prejaviť v kladnom, ale i v negatívnom zmysle a často ovplyvňuje prirodzený vývoj pôd a ich vlastností aspoň v časti ich profilu. Výsledkom takéhoto antropogénneho pôsobenia je často zmena prirodzených vlastností pôd, v ojedinelých prípadoch môže dôjsť i k pretvoreniu pôd. Antropizáciou pôd sú výraznejšie ovplyvňované vrchné orničné a podorničné vrstvy, spodné si dlho udržiavajú pôvodné vlastnosti podmienené prirodzeným vývojom.

Prostredníctvom komplexného systému monitorovania pôd sme sa začali detailnejšie zaoberať hodnotením aktuálneho stavu a vývoja pôd v zmenených spoločensko-ekonomických podmienkach (od roku 1993) Slovenska podľa konkrétnych ohrození (erózia a kompakcia pôd, pôdna organická hmota, kontaminácia, acidifikácia, salinizácia a sodifikácia pôd) (Kobza et al., 2019).



V tomto príspevku sme sa pokúsili priblížiť aktuálny stav a vývoj vlastností poľnohospodárskych pôd Slovenska podľa uvedených degradačných procesov za doterajšie sledované obdobie. Limitné hodnoty sú dané legislatívnymi nariadeniami v zmysle Vyhlášky č. 59/2013 Z.z. (MPRV SR 2013).

Materiál a metódy

V príspevku sme vychádzali z najnovších výsledkov permanentného systému monitorovania pôd na Slovensku, ktorý zahŕňa 318 monitorovacích lokalít na poľnohospodárskych pôdach (Kobza et al., 2019). Boli sledované a hodnotené základné indikátory vlastností pôd, ktoré sa vzťahujú ku konkrétnym ohrozeniam pôdy:

Monitorované indikátory podľa degradačných procesov pôd:

Erózia pôdy: ^{137}Cs , pH/KCl, POC, P, K, zrnitosť (FAO);

Kompakcia pôdy: objemová hmotnosť, pórovitosť, maximálna kapilárna kapacita, zrnitosť (FAO);

Kvantitatívne a kvalitatívne zloženie pôdnej organickej hmoty: POC, N_t, HK, FK, C_{HK}/C_{FK}, Q₄6;

Kontaminácia pôd: Cd, Cr, Pb, Ni, Zn, Cu, Se, Co (rozklad lúčavkou kráľovskou), Hg (celkový obsah – analyzátor AMA);

Acidifikácia pôd: pH/H₂O, pH/KCl, pH/CaCl₂, KVK (kationová výmenná kapacita), výmenné kationy (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺), aktívny Al (len ak pH/KCl < 6,0);

Salinizácia a sodifikácia pôd: elektrická vodivosť (ECe), obsah výmenného Na v sorpčnom komplexe pôdy (ESP) sodíkový adsorpčný pomer (SAR), pH/H₂O, výmenné kationy a anióny (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻, CO₃²⁻, HCO₃⁻).

Analýzy boli vykonané na pracovisku laboratórnych činností pri NPPC – VÚPOP v Bratislave podľa jednotných pracovných postupov rozborov pôd (Kolektív, 2011). Dosiadnuté výsledky boli spracované a vyhodnotené podľa zaužívaných štatistických postupov.

Výsledky a diskusia

Erózia pôdy: Erózia je ireverzibilný proces, kedy dochádza k negatívnym zmenám základných pôdných parametrov, čoho výsledkom je významné zníženie úrodnosti pôdy. Rôzne formy, ako aj intenzita erózie vo forme rôznych rýh a výmoľov je dobre viditeľná, najmä keď je pôda bez porastu. Fenomény, ktoré tu vznikajú, sú nezvratného charakteru. Dochádza k trvalej strate vrchnej kultúrnej pôdnej vrstvy, na povrch sa dostávajú spodné, menej úrodné vrstvy. Dochádza taktiež k výraznej strate pôdnej organickej hmoty i k zhoršovaniu fyzikálnych parametrov pôdy.

Spôsob ochrany spočíva v protieróznej agrotechnike, osevných postupoch, ako aj v protieróznom usporiadaní pôdneho fondu. Intenzitu erózie pôdy sledujeme pravidelne v 5-ročných cykloch na 20-tich vybraných transektoch. Recentná erózia, ktorá prebieha v poslednom období na konkrétnych lokalitách, bola vyhodnotená na základe stanovenia priestorovej aktivity rádioaktívneho izotopu ^{137}Cs v pôdných profiloch záujmového územia. Aktivita izotopu cesia bola v niektorých prípadoch zaznamenaná až do hĺbky 50 cm, čo potvrdzuje výraznú akumuláciu pôdných častíc pretransportovaných vplyvom vodnej erózie po svahu. Plošné výmery jednotlivých kategórií erodovanosti boli vygenerované aplikovaním erózneho predikčného modelu Univerzálnej rovnice straty pôdnej hmoty – USLE (Wischmeier, Smith, 1978).

Negatívny vplyv vodnej erózie (nezohľadňuje sa aktuálny rastlinný pokryv) sa potenciálne prejavuje na viac ako 52 % celkovej výmery poľnohospodárskej pôdy SR (Tab. 1). Pri zohľadnení aktuálneho rastlinného pokryvu (aktuálna erózia) plošná výmera vodnej erózie (kategórie erodovanosti stredná až extrémna) poklesne na necelých 15 % celkovej výmery



poľnohospodárskej pôdy. Uvedené výmery boli vygenerované na základe aktualizovaného modelu USLE. Boli použité nové vypočítané hodnoty R-faktora.

Tab. 1 Výmery kategórií potenciálnej vodnej erózie

Pôda evidovaná v registri LPIS	Potenciálna erózia		Aktuálna erózia	
	Výmera ha	% z PP	Výmera ha	% z PP
Kategórie erodovanosti (strata pôdy)				
Žiadna, alebo nízka (0 – 4 t/ha/rok)	921 166	47,76	1 653 283	85,72
Stredná (4 – 10 t/ha/rok)	178 089	9,23	139 476	7,23
Vysoká (10 – 30 t/ha/rok)	222 871	11,56	95 389	4,95
Extrémna (viac ako 30 t/ha/rok)	606 611	31,45	40 589	2,10
Spolu	1 928 737	100,00	1 928 737	100,00

Poľnohospodárska pôda potenciálne ohrozená procesmi vodnej erózie predstavuje 52,24 % z aktuálnej výmery poľnohospodárskej pôdy Slovenska, čo v plošnom vyjadrení činí 1 007 571 ha. Dlhodobý alibistický prístup k riešeniu problematiky vodnej erózie poľnohospodársky využívaných pôd v erózne senzitivnej krajine na Slovensku vedie k degradácii ich úrodnotvorných parametrov. Takto dochádza k významnému znižovaniu produkčnej schopnosti pôdy, a preto jej parametre treba neustále monitorovať.

Kompakcia pôdy: Zhutňovaním pôdy dochádza k tesnému uloženiu agregátov (štruktúrne zhutnenie) alebo až k ich deštrukcii (textúrne zhutnenie), a tým k zníženiu celkovej pórovitosti, hlavne makropórov. To má za následok obmedzenie rozvoja koreňov rastlín (vyšší odpor pôdy), ako aj výmeny pôdneho vzduchu a zásobenosti rastlín pôdnymi živinami.

Pôvod kompaktie pôd na jednej strane súvisí s vlastnosťami pôdy podmienenými ich genézou (textúra – hlavne vysoký obsah ílu, obsah pôdnej organickej hmoty) – primárna kompakcia. Na druhej strane sa často vyskytuje v súvislosti s činnosťou človeka a intenzifikáciou rastlinnej výroby (druh použitej mechanizácie a technológie pestovania, dodržiavanie optimálnych podmienok ich použitia, najmä vlhkosti pôdy v čase výkonu agrotechnických operácií) – sekundárna kompakcia. Kompakcia pôdy sa stanovuje na základe nameraných hodnôt redukovanej objemovej hmotnosti ako hlavného indikátora v kontexte s jej kritickými hodnotami pre jednotlivé pôdne druhy (zrnitosti). Riziko kompaktie (vyjadrené %) vypočítané ako percentuálny podiel zhutnených lokalít v rámci hlavných pôdnych typov a druhov vyjadruje ich náchylnosť na zhutnenie. V prípade ornice je najviac plošne zastúpená kategória rizika kompaktie 21 – 40 % (63,0 % výmery ornej pôdy), v podornici kategória 41 – 60 % (53,2 % výmery ornej pôdy) (Tab. 2).

Pri väčšine sledovaných pôd je pozorovaný negatívny trend vývoja objemovej hmotnosti, najmä od 3. odberového cyklu (2002). Pozitívny vývoj je zaznamenaný v ornici ťažkých a stredne ťažkých černoze, príp. ťažkých fluvizemí a čiernic.

Tab. 2 Plošné zastúpenie orných pôd SR v rámci jednotlivých kategórií rizika kompaktie pôd v poslednom odberovom cykle (2013)

Kategórie rizika kompaktie pôdy (%)	% z výmery orných pôd	
	Ornica	Podornica
< 20	19,3	13,0
21 - 40	63,0	6,8
41 - 60	15,6	53,2
61 - 80	2,1	13,0
> 80	0,0	13,9



Pôdna organická hmota (POH): Množstvo pôdneho organického uhlíka (POC) je podmienené genézou pôd, avšak na orných pôdach, predovšetkým v orníčovom horizonte, je jeho obsah ovplyvnený intenzívnym poľnohospodárskym využívaním. Preto koncentrácia POC býva na orných pôdach v porovnaní s prírodnými pôdami značne nižšia. Priemerné hodnoty POC sa v orných pôdach Slovenska pohybujú v intervale 1 – 2,5 % (Kobza et al. 2020), čo v prepočte na humus (prepočítavací koeficient 1,724) predstavuje mierne až dobre humózne pôdy. Najnižšie hodnoty POC sú charakteristické pre pôdny typ regozemí, najvyššie pre čiernice. V súčasnosti je množstvo POC stabilizované a na väčšine pôdnych typov sa udržuje na úrovni charakteristickej pre daný pôdny typ. Postupný, ale veľmi nepatrný nárast POC pozorujeme na fluvizemiach, černozemiach a pseudoglejoch, na druhej strane na kambizemiach bol zaznamenaný mierny pokles.

Z hľadiska kvality pôdnej organickej hmoty (POH) relatívne stabilná a vyzretá POH bola zistená na pôdnych typoch černozemí a čiernic (vysoké hodnoty C_{HK}/C_{FK}), kde prevládajú stabilnejšie humínové kyseliny (HK). Prevládanie labilnejších fulvokyselín (FK) v štruktúre POH, teda relatívne menej vyzretá POH bola zistená predovšetkým na pôdnych typoch kambizeme a pseudogleje. V priebehu sledovaného obdobia na väčšine pôdnych typov pozorujeme vyrovnané hodnoty tohto parametra, na čierniciach a černozemiach má pomer C_{HK}/C_{FK} značne kolísavý charakter a na kambizemiach pozorujeme postupné zlabilnenie štruktúr POH.

Kontaminácia pôdy: Vývoj kontaminácie pôd po roku 1993 je len veľmi pozvoľný bez výraznejších zmien. Treba však dodať, že tie pôdy, ktoré boli už v minulosti kontaminované, sú kontaminované aj v súčasnosti. To je zásadný rozdiel od ostatných zložiek prírodného prostredia (napr. ovzdušie, voda), kde ich hygienický stav je v súčasnosti už vyhovujúci, t.j. v pôdach nepriaznivý stav kontaminácie pretrváva oveľa dlhšie. Je preto veľmi dôležité znečisťovaniu pôd predchádzať, nakoľko ozdravenie pôd je dlhodobý a finančne nákladný proces, nehovoriac o kvalite rastlinnej produkcie. Treba však zdôrazniť, že výrazne prevládajúca časť našich poľnohospodárskych pôd je hygienicky nezávadná (takmer 99 % poľnohospodárskeho pôdneho fondu). Zostávajúca časť kontaminovaných pôd je viazaná prevažne na oblasti priemyselnej činnosti ako sú napr. staré ekologické záťaže a oblasti vplyvu tzv. geochemických anomálií (najmä niektoré horské a podhorské oblasti prevažne pod extenzívnymi trávnyimi porastami a lesmi).

Na základe doterajších zistení možno konštatovať, že v priebehu doterajšieho monitorovania bol zistený pozitívny trend vo vývoji celkového obsahu As a Cd a negatívny trend v prípade celkového obsahu Co, Cu, Ni a Zn (Kobza a kol., 2019, 2020).

Acidifikácia pôd: V piatom monitorovacom cykle (odberový rok 2013) sme zaznamenali v hĺbke 0 – 10 cm zníženie priemernej hodnoty aktívnej pôdnej reakcie (v porovnaní s rokom 1993) vo všetkých skupinách pôdneho typu kambizemí. Je to veľmi znepokojivý trend, keďže kambizeme sú naše najrozšírenejšie pôdy, avšak z pohľadu stability pôdneho ekosystému patria kambizeme, a to predovšetkým kambizeme kyslé k labilným pôdnym systémom. Trend znižovania hodnôt pôdnej reakcie v skupinách pôd s hodnotou pôdnej reakcie slabo kyslej a kyslej kategórie je nepriaznivý, čo dokazuje aj vysoká miera zápornej korelácie medzi hodnotami pôdnej reakcie a obsahom aktívneho hliníka ($r = -0,84$) (Kobza et al., 2020). Obsah aktívneho hliníka v sledovaných skupinách pôd sa v roku 2013 pohyboval v rozsahu od 0,10 do 620,00 mg.kg⁻¹. Obsah aktívneho hliníka v sledovaných skupinách pôd v roku 2013 bol výrazne nižší v orných pôdach oproti trávnyim porastom, čo je dôsledkom vzťahu medzi kvalitou pôdy a jej využívaním.

Salinizácia a sodifikácia pôd: Salinizácia je proces akumulácie neutrálnych sodných solí v pôde, predovšetkým chloridu sodného (NaCl) a síranu sodného (Na₂SO₄). Indikátorom



procesu salinizácie je jednak celkový obsah rozpustných solí v pôde a jednak merná elektrická vodivosť nasýteného extraktu pôdy (ECE) (Hraško, 1962).

Sodifikácia je proces viazania výmenného sodíka na sorpčný komplex pôd. Tento proces je podmienený prítomnosťou alkalických solí v pôde, predovšetkým uhličitanu sodného (Na_2CO_3), hydrogén uhličitanu sodného (NaHCO_3) a kremičitanu sodného (Na_2SiO_3). Indikátorom procesu sodifikácie je jednak obsah výmenného sodíka v sorpčnom komplexe (ESP) a jednak pôdna reakcia (pH) (Sotáková, 1988, Valla et al., 1983).

Nami doteraz získané poznatky z vývoja vlastností soľných pôd potvrdzujú súčasne prebiehajúce procesy salinizácie a sodifikácie pôd, pričom sa ukazuje, že proces sodifikácie je dominantný. Zároveň nami dosiahnuté výsledky meraní dovoľia konštatovať, že procesy salinizácie a sodifikácie prebiehajú od substrátových horizontov smerom k povrchu pôdy, pričom tento vývoj je zreteľnejší v pôdach so slabým až stredným vývojom soľných pôd.

Z hľadiska rizikovosti vzniku a rozširovania soľných pôd charakterizovaného chemickým zložením podzemných vôd, je takéto riziko najreálnejšie na dolnej časti Žitného ostrova v úseku Zlatná na Ostrove – Komárno. Svedčia o tom vyššie hodnoty elektrickej vodivosti a vysoká mineralizácia podzemných vôd. Na Slovensku evidujeme celkom do 3 tis. ha soľných pôd.

Záver

Z degradačných procesov na Slovensku sa najvypuklejšie prejavuje fyzikálna degradácia pôd – hlavne erózia, ako aj kompakcia pôd. Potvrdzujú to aj výsledky profilovej distribúcie rádioaktívneho izotopu ^{137}Cs (recentná erózia), ako aj numerická kalkulácia straty pôdnej hmoty podľa vzorca Univerzálnej rovnice straty pôdy (USLE). Potenciálne sa erózia prejavuje približne na 50 % aktuálnej výmery poľnohospodárskej pôdy SR pri strate pôdy >4 t/ha/rok). Riziko kompakcie je v kyprenej ornici o polovicu nižšie oproti stavu v podornici. Zvyšuje sa v smere od zrnitostne ľahkých piesočnatých pôd k ťažkým ílovitým pôdam.

V súčasnosti sa úroveň pôdneho organického uhlíka (POC) stabilizovala a na väčšine pôdnych typov sa udržuje na úrovni charakteristickej pre konkrétny pôdny typ. Postupný, ale veľmi nepatrný nárast POC pozorujeme na pôdnych typoch fluvizeme, černozeme a pseudogleje, mierny pokles POC na kambizemiach. Z hľadiska kvalitatívnych parametrov pozorujeme mierne zlabilnenie štruktúr pôdnej organickej hmoty (POH), ktoré je zreteľné predovšetkým na kambizemiach (našich najrozšírenejších pôdach) a pseudoglejoch, relatívne stabilná a vyzretá POH bola zistená na černozemiach a čierniciach.

Na základe doterajších zistení kontaminácie pôd možno konštatovať, že v priebehu doterajšieho monitorovania bol zistený pozitívny trend vo vývoji celkového obsahu As a Cd a negatívny trend v prípade celkového obsahu Co, Cu, Ni a Zn.

V rámci acidifikácie zaznamenávame v ornici poľnohospodárskych pôd zníženie priemernej hodnoty aktívnej pôdnej reakcie (v porovnaní s rokom 1993) vo všetkých skupinách pôdneho typu kambizem. Je to veľmi znepokojivý trend, nakoľko kambizeme sú naše najrozšírenejšie pôdy. Tento nepriaznivý acidifikačný trend platí v prípade slabo kyslých a kyslých pôd.

Vývoj soľných procesov je zreteľnejší v pôdach so slabým až stredným vývojom soľných pôd najmä v oblasti južného a juhozápadného Slovenska.

Literatúra

1. HRAŠKO, J. 1962. Rozbory pôd. SVPL Bratislava.
2. KOBZA, J., BARANČIKOVÁ, G., DODOK, R., MAKOVNÍKOVÁ, J., PÁLKA, B., STYK, J., ŠIRÁŇ, M. 2019. Monitoring pôd SR. Súčasný stav a vývoj monitorovaných vlastností pôd ako podklad k ich ochrane a ďalšiemu využívaniu (2013-2017). NPPC-VUPOP Bratislava, 252 s. ISBN 978-80-8163-033-0.
3. KOBZA, J., BARANČIKOVÁ, G., DODOK, R., MAKOVNÍKOVÁ, J., PÁLKA, B., STYK, J., ŠIRÁŇ, M. 2020. Monitoring pôd SR. (pri príležitosti 27. výročia realizácie monitoringu pôd na Slovensku a 60. výročia



- založenia Výskumného ústavu pôdoznanectva a ochrany pôdy). NPPC-VUPOP Bratislava, 49 s. ISBN 978-80-8163-036-1.
4. KOLEKTÍV, 2011. Jednotné pracovné postupy rozborov pôd. VUPOP Bratislava, 2011, 136 s. ISBN 978-80-89128-89-1.
 5. MPRV SR, 2013. Vyhláška č. 59/2013 viažuca sa k zákonu č.220/2004 Z.z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy.
 6. SOTÁKOVÁ, S. 1988. Návod na cvičenia z geológie a pôdoznanectva. Príroda Bratislava.
 7. VALLA, M., KOZÁK, J., DRBAL, J. 1983 Cvičení z půdoznanectví II. SPN Praha.
 8. WISCHMEIER, W.H., SMITH, D.D. 1978. Predicting rainfall erosion losses – Guide to conservation planning, Agricultural Handbook 537, USDA, 1978, 58 pp.

Kontaktná adresa: prof. Ing. Jozef Kobza, CSc., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy, Mládežnícka 36, 974 01 Banská Bystrica, Slovensko.
E-mail: jozef.kobza@nppc.sk



POROVNANIE VYBRANÝCH FYZIKÁLNYCH VLASTNOSTÍ HNEDOZEME OBRÁBANEJ KONVENČNE A BEZORBOVO COMPARISON OF SELECTED SOIL PHYSICAL PROPERTIES OF HAPLIC LUVISOL CULTIVATED CONVENTIONALLY AND PLOUGHLESS

Nora Polláková, Vladimír Šimanský, Martin Juriga, Mária Horvátová

Abstract: In the work selected soil physical properties of Haplic Luvisol cultivated by ploughless system (in three soil pits dug under oil rape) and conventional system (in three soil pits dug under winter wheat) were compared. Results showed soil compaction in both systems from 0.1 m down to the depth. Higher bulk density and lower porosity, mainly macro-porosity was detected in soil cultivated by ploughless system. Minimal air capacity was higher in soil cultivated conventionally. We can state slight more favourable physical properties in soil cultivated conventionally.

Keywords: conventional system, ploughless system, bulk density, macro-porosity, minimal air capacity

Úvod

Obrábanie pôdy spôsobuje značné zmeny v chemických, fyzikálnych a biologických vlastnostiach vrchnej vrstvy pôdy, ale aj celého pôdneho profilu (Kotorová, 2013). Rôzne systémy hospodárenia a spôsoby obrábania majú odlišný vplyv na vlastnosti pôdy. Optimálne fyzikálne vlastnosti pôdy predstavujú jednu z najdôležitejších podmienok zachovania, prípadne zvýšenia jej úrodnosti. Úrodné pôdy sa vyznačujú vodostálosťou pôdnych agregátov, dobrou priepustnosťou ornice a podorničia a tiež optimálnou retenčnou schopnosťou. Orba by mala v celom ornícnom profile zlepšovať fyzikálne vlastnosti, zvyšovať celkovú pórovitosť pôdy a znižovať jej objemovú hmotnosť. Nesprávne použitie orby však zvyšuje utuženie pôdy a znižuje jej odolnosť voči erózii. V porovnaní s klasickou orbou, bezorbovým spracovaním pôdy ostávajú na jej povrchu zvyšky pestovaných plodín, čo zvyšuje obsah organického uhlíka v pôde, stabilitu pôdnych agregátov a následne zlepšuje schopnosť pôdy odolávať erózii a zásobovať rastliny potrebnými živinami (Žák *et al.*, 2011). Každý spôsob obrábania je jedinečný a pôsobí na pôdu odlišne. Najvýznamnejší vplyv má pracovné teleso, ktoré vniká do pôdy (orbová radlica, taniere, radličky).

Cieľom práce bolo porovnať dopad konvenčných a bezorbových technológií obrábania pôdy na vybrané fyzikálne vlastnosti hnedozeme kultizemnej luvizemnej v podmienkach výrobnjej praxe.

Materiál a metódy

Skúmaná oblasť sa geomorfologicky pridružuje k štruktúre centrálno-karpatského pásma, zastúpeného pohorím Považského Inovca. Severná, západná a severovýchodná časť katastrov je tvorená strednými až strmšími svahmi s nadmorskou výškou 300 – 500 m, južná časť miernejšími svahmi s nadmorskou výškou 280 – 300 m. Skúmaná oblasť patrí do klimatického okrsku mierne teplého, mierne vlhkého až vlhkého, rázu vrchovinného. Priemerná ročná teplota v rokoch 1931–1960 bola 9,0 °C, v rokoch 1997–2007 až 10,0 °C. Priemerný ročný úhrn zrážok v rokoch 1901–1950 bol 658 mm a v rokoch 1997–2007 už len 559 mm. Z pôdnych typov sú v oblasti zastúpené: fluvizeme, hnedozeme, pseudogleje, luvizeme, kambizeme, rendziny a regozeme (Kasala, 1970).



Pôdne vlastnosti boli zisťované v apríli 2020 v hnedozemi kultizemnej luvizemnej. Na parcele s minimalizačnou, bezorbovou technológiou spravovanou PPD Prašice bol porast kapusty repkovej pravej, na vedľajšej parcele obrábanej konvenčnou technológiou spravovanou súkromne hospodáriacim roľníkom Ing. Paulenom bol porast pšenice letnej, formy ozimnej.

PPD Prašice už od roku 2000 aplikuje bezorbovú minimalizačnú technológiu. Na podmiatku používajú radlicový podmietač Horsch Terrano (0,05–0,20 m) a tanierový podmietač Lemken Rubin 9 (0,1–0,2 m). Na hlbšie obrábanie používajú radlicové kypriče Horsch Tiger AS a Terrano FM (0,2–0,3 m) a tanierový kyprič Lemken Rubin 12 (0,20–0,35 m). Na prehlbovanie využívajú podrývač STROM Terraland (0,3–0,4 m) a na sejbu radlicové sejačky CO 9 a CO 6 a diskové sejačky Pronto. Samostatne hospodáriaci roľník Ing. Paulen má strojové vybavenie prispôbené malej výmere. Všetky náradia sú so záberom 3 – 4,5 m. Na základné obrábanie používa trojradličný nesenný pluh, na predsejbovú prípravu rotačné brány a radlicový kompaktor, na sejbu pneumatickú sejačku.

Rozdiely vo vlastnostiach pôd obrábaných konvenčnou a bezorbovou minimalizačnou technológiou sme zisťovali v šiestich sondách. Tri boli vykopané na pôde obrábanej bezorbovo a tri na vedľajšej parcele obrábanej konvenčne. Na stanovenie základných fyzikálnych a hydrofyzikálnych vlastností sme z každej sondy odobrali neporušené vzorky pôdy po 0,1 m vrstvách v troch opakovaniach do Kopeckého valčekov až do hĺbky 0,4 m. Na stanovenie zrnitostného zloženia sme odobrali vzorky pôdy po horizontoch.

Základné fyzikálne a hydrofyzikálne vlastnosti sme stanovili v neporušených pôdnych vzorkách podľa štandardných metód uvádzaných Hrivňákovou *et al.* (2011). Zrnitostné zloženie pôdy sme stanovili pipetovacou metódou.

Výsledky a diskusia

Hodnotenie zrnitostného zloženia pôdy je Tab. 1. Z výsledkov vyplýva posun frakcie ílu v procese illimerizácie, a koeficient textúrnej diferenciacie bol vyšší ako 1,2. Pôda bola podľa Novákovho hodnotenia zrnitostne ťažká – ílovito-hlinitá (IH), podľa trojuholníkového diagramu zrnitostne stredná – prachovito-ílovito-hlinitá (ssi).

Tab. 1 Zrnitostné zloženie pôdnych horizontov do hĺbky 0,4 m

Horizont	pôdny druh Novák	Zrnitostné frakcie [%]				Pôdny druh Δ
		piesok 2-0,05 [mm]	prach 0,05-0,002 [mm]	íl <0,002 [mm]	<0,01 [mm]	
Akp	IH	8,6	58,0	33,4	48,9	ssi
Bt	IH	5,4	54,5	40,3	51,4	ssi

Vysvetlivky: IH – ílovito-hlinitá, ssi – prachovito-ílovito-hlinitá

Objemová hmotnosť pôdy (ρ_d) je parameter, ktorý spolu s pórovitosťou a penetrometrickým odporom patria k hlavným ukazovateľom zhutnenia pôdy. Podľa Fulajtára (2006) kritickou pre ílovito-hlinité pôdy je hodnota vyššia ako $1,40 \text{ t.m}^{-3}$. Z výsledkov uvedených v Tab. 2 vyplýva, že pôdy obrábané oboma systémami mali nadlimitné hodnoty objemovej hmotnosti už od hĺbky 0,1 m, teda boli zhutnené. Avšak výrazne vyššími hodnotami objemovej hmotnosti sa vyznačovala pôda obrábaná bezorbovým systémom. Všeobecne, vyššia hodnota ρ_d býva v pôde bezorbových systémov, ale do zberu sa tieto hodnoty vyrovnávajú (čiže klesajú), a tým sa približujú ku konvenčnému spôsobu obrábania pôdy. V pôde ponechanej bez obrábania sa prejavuje v priebehu času tzv. nakyprovací efekt (Hůla *et al.*, 2008).



Tab. 2 Základné fyzikálne a hydrofyzikálne vlastnosti pôdy s bezorbovým a s konvenčným systémom obrábania, v lokalite Veľké Bedzany, na hnedozemi kultizemnej luvizemnej - BPEJ 0248002

Obrábanie	hĺbka	ρ_d	P	P_N	P_S	P_K	V_A	Θ_v
	[m]							
Bezorbové	0,0-0,1	1,39	46,9	12,8	2,5	31,6	13,9	16,4
	0,1-0,2	1,64	37,6	4,9	0,9	31,7	5,3	18,0
	0,2-0,3	1,62	38,2	3,6	1,1	33,5	4,0	17,7
	0,3-0,4	1,59	39,0	4,0	1,2	33,8	4,5	20,1
Konvenčné	0,0-0,1	1,35	48,3	12,6	3,4	32,3	14,0	12,2
	0,1-0,2	1,48	43,0	10,4	1,6	31,0	11,2	13,7
	0,2-0,3	1,54	40,9	7,1	1,6	32,3	7,8	14,4
	0,3-0,4	1,57	39,6	4,5	1,4	33,7	5,1	16,1

Vysvetlivky: ρ_d – objemová hmotnosť redukovaná, P – celková pórovitosť, P_N – objem nekapilárnych pórov, P_S – objem semikapilárnych pórov, P_K – objem kapilárnych pórov, V_A – minimálna vzdušná kapacita, Θ_v – bod vädnutia. Tučným písmom sú zvýraznené čísla, ktoré prekročili kritické hodnoty zhutnenia pôdy.

Aj keď pôdy obrábané oboma systémami už od hĺbky 0,1 m mali prekročené kritické hodnoty pórovitosti pre ílovito-hlinité pôdy $P < 47$ % (Fulajtár, 2006), znova bol zistený nepriaznivejší stav v pôde obrábanej bezorbovo (Tab. 2).

Okrem celkovej pórovitosti, významnú úlohu najmä pre život v pôde zohráva zastúpenie pórov podľa veľkosti. Podľa Bedru *et al.* (1989) je optimálne, ak z celkovej pórovitosti sú nekapilárne póry (P_N) zastúpené 1/3 (prostredníctvom nich dochádza k výmene vzduchu a vsakovaniu vody do pôdy) a 2/3 semikapilárne (P_S) a kapilárne (P_K) v ktorých sa zadržiava a vzlína voda. Je známe, že pri zhutnení pôdy sa redukujú najmä hrubé, nekapilárne póry niekedy v prospech tenkých kapilárnych pórov. Vo vrstve 0,1 – 0,4 m bolo zastúpenie P_N z P v pôde bezorbového systému len 9 – 13 % (čo je veľmi nízka hodnota), v orbovom systéme 11 – 24 %.

Hodnota minimálnej vzdušnej kapacity pôdy (V_A) zhruba zodpovedá objemu pórov nekapilárnych spolu so semikapilárnymi. Fulajtár (2006) uviedol, že ak je hodnota $V_A < 10$ % v orných pôdach a $V_A < 5$ % na trvalých trávnych porastoch, svedčí to o náchylnosti daných pôd na zamokrenie. V pôde bezorbového systému boli prekročené kritické hodnoty minimálnej vzdušnej kapacity už od 0,1 m smerom nadol, a pôde konvenčného systému od 0,2 m. Celkovo, aj hodnoty V_A boli priaznivejšie v pôde obrábanej konvenčne.

Rovnako aj hodnoty bodov vädnutia (Θ_v) boli priaznivejšie v pôde obrábanej konvenčne (orbovo) v porovnaní s pôdou obrábanou bezorbovo (minimalizačne), nakoľko z údajov vyplýva, že rastlina dokáže z oranej pôdy odčerpať viac vody $\Theta_v = 12,2 - 16,1$ % než z pôdy neoranej $\Theta_v = 16,4 - 20,1$ %.

Záver

Skúmaná hnedozem kultizemná luvizemná bola podľa Novákovho hodnotenia zrnitostne ťažká – ílovito-hlinitá; podľa trojuholníkového diagramu zrnitostne stredná – prachovito-ílovito-hlinitá. Pôdy obrábané oboma systémami boli zhutnené už hĺbky od 0,1 m. Vyššia objemová hmotnosť bola zistená v pôde obrábanej bezorbovo. Na druhej strane, vyššia celková pórovitosť, a najmä makro-pórovitosť, a tiež minimálna vzdušná kapacita boli vyššie v pôde obrábanej konvenčne. Celkovo, pôda obrábaná konvenčne mala čiastočne priaznivejšie fyzikálne vlastnosti v porovnaní s pôdou obrábanou bezorbovo.



PodĎakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: „Údajová a vedomostná podpora pre systémy rozhodovania a strategického plánovania v oblasti adaptácie poľnohospodárskej krajiny na klimatické zmeny a minimalizáciu degradácie poľnohospodárskych pôd“ (kód ITMS2014+ 313011W580), spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja, a zároveň publikácia vznikla aj s podporou projektu KEGA č. 013SPU-4/2019.

Literatúra

1. BEDRNA, Z., FULAJTÁR, E., ZRUBEC, F., JURÁNI, B. 1989. Pôdne režimy. Bratislava: Veda, 1989. 224 s.
2. FIALA, K. *et al.* 1999. Závazné metódy rozborov pôd. Čiastkový monitorovací systém – Pôda. Bratislava: VÚPOP, 1999. 142 s.
3. KOTOROVÁ, D. 2013. The development of selected properties of heavy soil at different tillage conditions. In Acta fytotechnica et zootechnica, vol. 16, no. 2, pp. 39–44.
4. FULAJTÁR, E. 2006. Fyzikálne vlastnosti pôd. Bratislava: VÚPOP, 2006. 142 s.
5. HRIVŇÁKOVÁ, K., MAKOVNÍKOVÁ, J., BARANČÍKOVÁ, G., BEZÁK, P., BEZÁKOVÁ, Z., DODOK, R., GREČO, V., CHLPÍK, J., KOBZA, J., LIŠTJAK, M., MALIŠ, J., PÍŠ, V., SCHLOSSEROVÁ, J., SLÁVIK, O., STYK, J., ŠIRÁŇ, M. 2011. Jednotné pracovné postupy rozborov pôd. Bratislava: VÚPOP, 2011. 136 s.
6. HŮLA, J. *et al.* 2008. Minimalizace zpracování půdy. Praha: Profi Press, s.r.o., 2008. 248 s.
7. KASALA, J. 1970. Pôdoznalecký prieskum ČSSR, záverečná správa. Bratislava: VÚPVR. 15 s.
8. ŽÁK, Š., *et al.* 2011. Pestovanie poľných plodín s orbou či bez orby. Nitra: Agrokomplex, 2011. 120 s.

Kontaktné adresy: doc. Ing. Nora Polláková, PhD., doc. Ing. Vladimír Šimanský, PhD., Ing. Martin Juriga, PhD., Ing. Mária Horvátová, Katedra pedológie a geológie, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko. E-mail: nora.pollakova@uniag.sk, vladimir.simansky@uniag.sk, martin.juriga@uniag.sk, maria.horvatova@uniag.sk



ZBER ÚDAJOV PRE MODELOVÚ PREDIKCIU SUCHA NA ZÁHORSKEJ NÍŽINE

DATA COLLECTION FOR MODEL DROUGHT PREDICTION IN THE ZÁHORSKÁ LOWLAND

Igor Sobocký, Rastislav Dodok, Dalibor Kusý

Abstract: Soil moisture monitoring was set up in the Záhorská lowland in order to model the moisture status in areas at risk of drought. The sites were selected with regard to soil texture and groundwater depth. The monitoring database contained measurements of the following attributes: soil moisture, soil water storage and groundwater depths on a monthly basis. The database was processed in the form of graphs. The results of the database are the basis for the solution of drought through model simulations, which may be a prediction of the occurrence of drought in the future.
Keywords: soil moisture, soil profile, soil texture, groundwater level

Úvod

Klimatická zmena a jej riešenie dopadov na poľnohospodárstvo potrebuje databázové výstupy, ktoré sa stávajú nevyhnutným podkladom pre zmierňujúce a adaptačné opatrenia (MŽP, 2019). Na Slovensku vzrástla za posledných 100 rokov priemerná ročná teplota vzduchu o 1,1 °C a ročne úhrny zrážok poklesli v priemere o 5,6 %, miestami, najmä na juhu Slovenska až o 10% (MŽP, 2017). Súčasne bol zaznamenaný pokles relatívnej vlhkosti vzduchu a pokles výšky snehovej pokrývky, čo spôsobuje nedostatočnú zásobenosť pôdy vodou a rastliny tak trpia jej nedostatkom často krát už v ranných štádiách vývoja.

Na Slovensku sme zaznamenali aj výskyt sucha a to nielen lokálneho, ale aj celoplošného. Výrazne sa sucho prejavilo v roku 1989, vtedy malo skôr lokálny charakter, v období rokov 1990 až 1994, v roku 2000 a 2004 sucho už malo celoplošný charakter (Takáč, 2015). Podľa Stratégie adaptácie SR na nepriaznivé dôsledky zmeny klímy cieľom adaptácie je zmierniť nepriaznivé dôsledky zmeny klímy, znížiť zraniteľnosť a zvýšiť adaptívnu schopnosť prírodných a človekom vytvorených systémov voči aktuálnym alebo očakávaným negatívnym dôsledkom zmeny klímy.

Poľnohospodárska výroba je závislá od pôdnych, klimatických, hydrogeologických a topografických podmienok. Pre prípravu akéhokoľvek hospodárenia na pôde je nevyhnutné čo najpresnejšie charakterizovať vodný režim záujmového územia, kde je nutná vlhkosťná diferenciácia pôdnych pomerov. Klimatická zmena spôsobuje nerovnomerne rozdelenie zrážok počas roka. Letné mesiace bývajú spravidla veľmi suché s výskytom privalových dažďov, čo má negatívny dopad najmä na pôdnu štruktúru.

Modelovanie sucha v podmienkach Záhorskej nížiny je špecifický prípad riešenia extrémnej textúry od piesčitej, hlinito-piesčitej po ílovito-hlinitú až ílovitú. Vlhkosťný režim takýchto pôd je diferencovaný a vyžaduje databázové vstupy, ktoré sú hodnoverné a spoľahlivé pre modelové riešenia. Predovšetkým predikcia sucha v podmienkach Záhorskej nížiny je kľúčovou témou. Priestorové a štatistické vyhodnotenie sa zameria na hydropedologické vlastnosti pôdy a celá lokalita bude vyhodnotená indikátorom, ktorým je rozdiel poľnej vodnej kapacity a bodu vädnutia (Fendeková, Poórová, Slivová, eds., 2018).

Materiál a metódy

Záhorská nížina je geomorfologická oblasť Viedenskej kotliny na juhozápade Slovenska. Má veľmi pestrý reliéf, západná a južná časť je prevažne rovinná, smerom na sever a na východ sa



vyskytujú zarovnané pahorkatiny. Na geologickej stavbe Záhorskej nížiny sa podieľajú hlavne sedimenty z obdobia holocénu, t.j. nívne sedimenty a piesčito-hlinité sedimenty a z obdobia pleistocénu reprezentované eolickými formami ako sú viate piesky a pieskové duny, riečnymi formami zastúpené fluviálno-štrkopieskovými terasami. Z obdobia neogénu sú zastúpené hlavne íly, sliene, piesky, štrky, vápence. Tieto tret'ohorné a štvrtohorné útvary môžeme rozčleniť ešte na niekoľko častí a to:

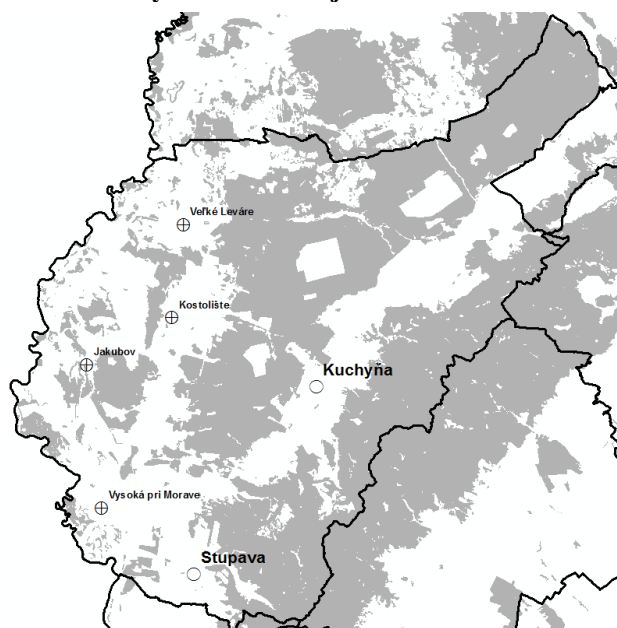
- viate piesky z obdobia würmu a holocénu, v území južne od Malaciek
- fluviálne sedimenty z obdobia risského glaciálu, tvorené zo štrkov a piesčitých štrkov. Vyskytujú sa v okolí Malaciek, Gajár, Malých a Veľkých Levár, Studienky, Plaveckého Štvrtku, Lábu, Zohoru, medzi Suchohradom a Vysokou pri Morave.
- fluviálno-mokrad'ové sedimenty z obdobia holocénu. Zaberajú súvislé plochy južne od Kostolišťa, pozdĺž potoka Malina, až po ústie rieky Moravy.
- fluviálno-nívne sedimenty z obdobia holocénu zastúpené piesčito-hlinitými sedimentami. Zaberajú územie pozdĺž rieky Moravy menšie úseky pozdĺž potoka Malina.
- proluviálne sedimenty sa na úpätí pohoria Malé Karpaty tvorené najmä hlinami a piesčitými štrkami. Tvoria súvislú na úpätí Malých Karpát.

Pedologické pomery tvoria prevažne kambizeme kyslé, regozeme až podzoly prevažne piesočnaté (Societas pedologica slovac 2014), ktoré sa viažu na borovicové lesy a pásma piesčitých dún. V depresiách sa nachádzajú čiernice modálne, čiernice glejové a gleje, ktoré sa vyvinuli na nepriepustných neogénnych sedimentoch. Pozdĺž riečnych nív a terás možno nájsť fluvizeme modálne a fluvizeme glejové. Skúmaný región zaberajú poľnohospodárske plochy, ktoré sa striedajú s rozsiahlymi borovicovými lesmi, viatymi pieskami a vodnými plochami.

V povodí Moravy boli vybrané tieto monitorovacie lokality: Veľké Leváre, Kostolište, Jakubov a Vysoká pri Morave (Obr. 1).

Pre kalibráciu neutrónovej metódy používanej na meranie pôdnej vlhkosti boli údaje pôdnych vzoriek analyzované gravimetrickým stanovením pôdnej vlhkosti. Pre analýzu hydrofyzikálnych vlastností pôdy sa odobrali vzorky porušenej a neporušenej pôdy. Hodnotené monitorovacie obdobie bolo 2017 – 2020. Počas vegetačného obdobia bol aplikovaný odberový interval 14 dní a mimo vegetačného obdobia bol monitorovací interval mesačný.

Obrázok 1 Monitorovacie lokality na Záhorskej nížine.





Výsledky s diskusia

Monitorovanie pôdnej vlhkosti bolo zriadené na Záhorskej nížine s cieľom modelovať vlhkosť v oblastiach ohrozených suchom. V povodí rieky Moravy boli vybrané tieto monitorovacie lokality: Veľké Leváre, Kostolište, Jakubov a Vysoká pri Morave. Monitorovacia odberové miesta boli vybrané s ohľadom na pôdnu textúru a hĺbku hladiny podzemnej vody.

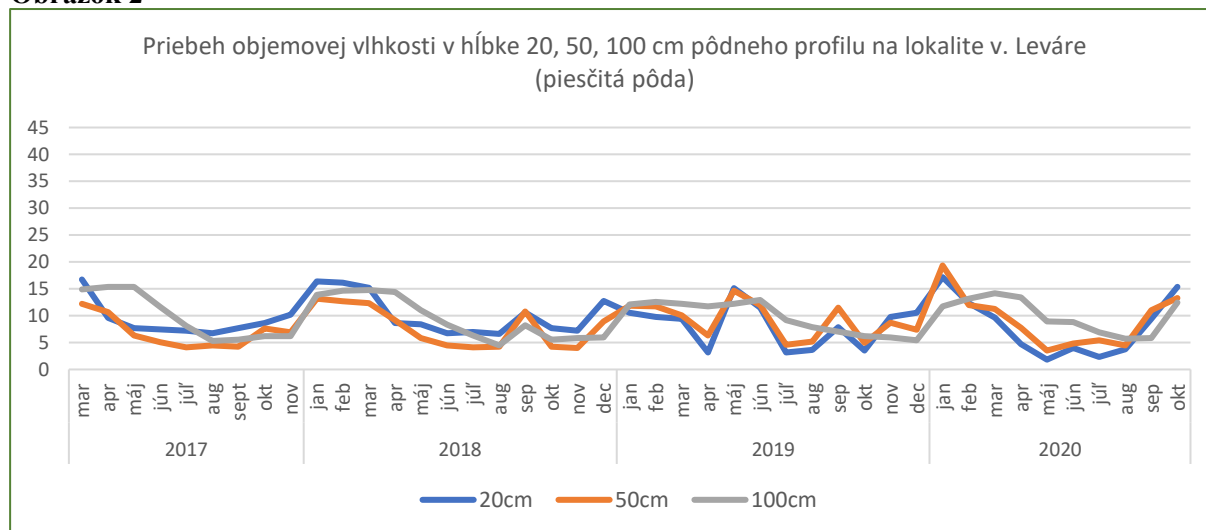
Ich morfológická a pedologická charakteristika bola hodnotená podľa nomenklatúry a klasifikačného zatriedenia v zmysle Morfogenetického klasifikačného systému pôd SR (MKSP 2014) (Societas pedologica slovacica 2014):

1. Veľké Leváre, piesčité pôda, regozem kultizemná
2. Kostolište, hlinito-piesčité pôda, čiernica kultizemná
3. Jakubov, piesočnato-hlinitá pôda, čiernica kultizemná glejová
4. Vysoká pri Morave, hlinitá pôda, fluvizem kultizemná glejová.

Ako podporný materiál boli použité geopriestorové údaje bonitovaných pôdno-ekologických jednotiek (Džatko, Sobocká et al., 2009). Meranie pôdnej vlhkosti a hĺbok podzemnej vody sa uskutočňovalo v intervale každých 0,10 m od hladiny podzemnej vody. Na meranie vlhkosti bola použitá neutrónová metóda, ktorá využíva rýchle neutróny z Am-Be (zdroj ponorený do pôdy). Tu sa zrážajú s jadrami atómov s nízkou hmotnosťou (vodík v pôdnej vode), ktoré spôsobujú spomalenie a stratu energie. Takto vzniknutý mrak spomalených neutrónov a jeho hustota sú priamo úmerné obsahu vody v pôde a merateľné ako počet impulzov za sekundu na plazme displej zariadenia. Z týchto impulzov je možné vypočítať vlhkosť pôdy v objemových percentách (obj. %).

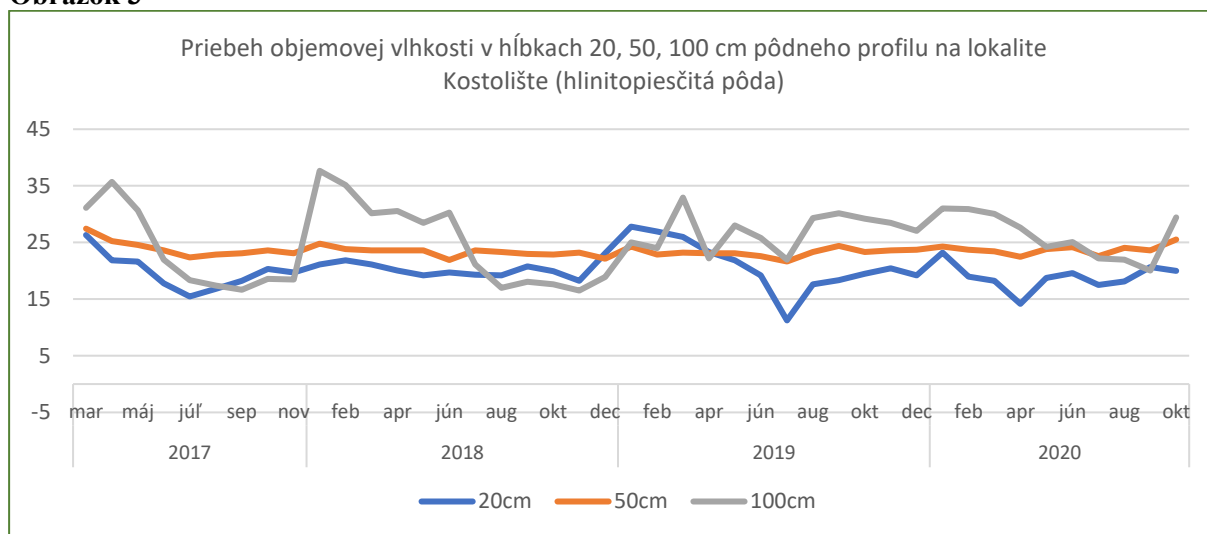
Na Obr. 2, 3, 4 a 5 sú prezentované priebehy objemovej vlhkosti merané v hĺbkach 20, 50, a 100 cm pôdneho profilu na monitorovacích lokalitách.

Obrázok 2

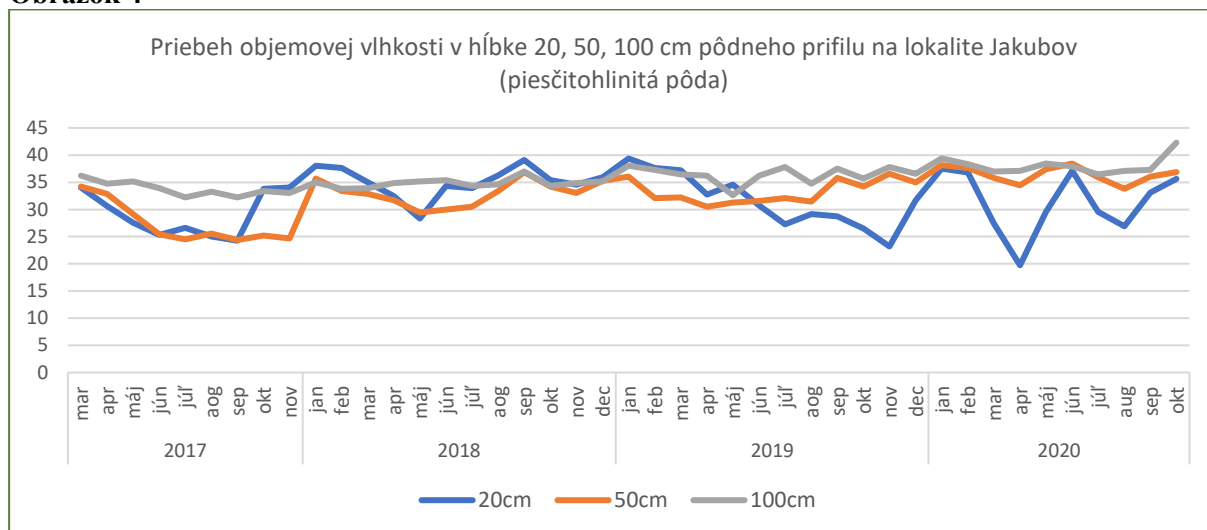




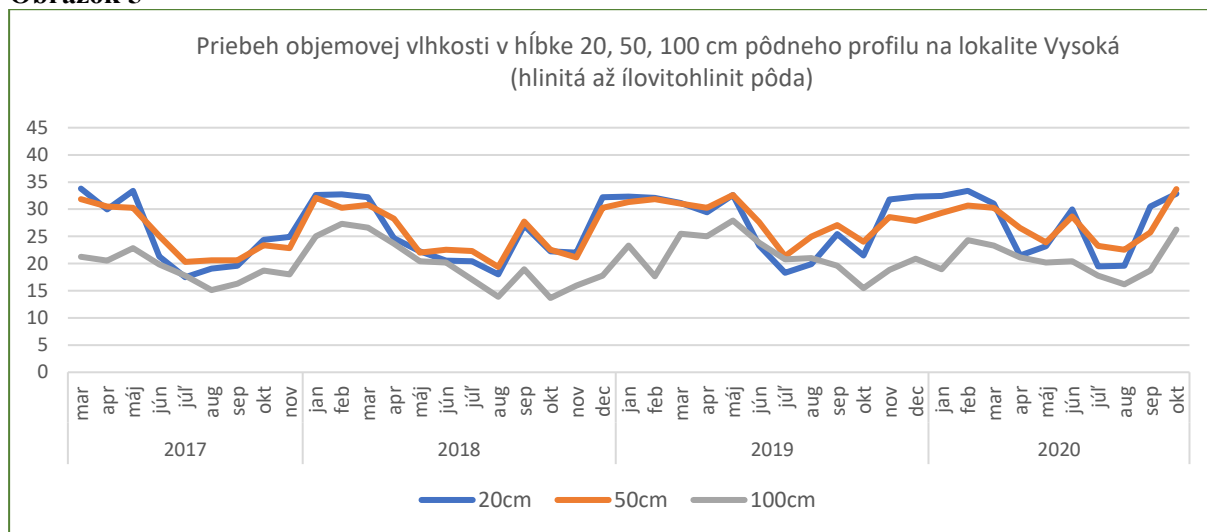
Obrázok 3



Obrázok 4



Obrázok 5





Krivky priebehu vlhkosti pôd budú vyhodnotené vzhľadom na viaceré indikátory sucha a stanú sa podkladovou databázou pre modelové simulovanie sucha z hľadiska predikcie vlhkosťných pomerov v Záhorskej nížine v najbližších desaťročiach.

Pre monitoring sa zaznamenávali aj pestované plodiny, napr. na monitorovacích staniách sa v roku 2019 pestovali tieto plodiny: Veľké Leváre - ozimná pšenica, Kostolište – kukurica, Jakubov - jarný jačmeň a na jeseň repka, Vysoká pri Morave - ozimná pšenica.

Záver

Namerané výsledky budú použité na spracovanie geopriestorovej databázy meranej v rokoch 2009 - 2014 a budú porovnané s meraniami, ktoré sa začali v roku 2017 a budú dokončené v roku 2020. Na základe výsledkov meraní budú navrhnuté viaceré opatrenia pre zmiernenie či elimináciu sucha v poľnohospodárskej krajine.

PodĎakovanie: Túto prácu podporila Slovenská agentúra pre výskum a vývoj na základe zmluvy č. APVV-15-0489 „Analýza sucha multikriteriálnymi štatistickými metódami a zberom údajov z hľadiska preventívnych štruktúr v krajine“.

Literatúra

1. DŽATKO M., SOBOCKÁ et al. 2009. *Príručka pre používanie máp pôdnoekologických jednotiek. Inovovaná príručka pre bonitáciu a hodnotenie poľnohospodárskych pôd Slovenska*. VUPOP, Bratislava, 2009, 102 s. ISBN 978-80-89128-55-6
2. FENDEKOVÁ, M., POÓROVÁ J. SLIVOVÁ V. (eds.) 2018. *Hydrologické sucho na Slovensku a prognóza jeho vývoja*. UK Bratislava, 300 s. ISBN 978-80-223-4510-1.
3. MŽP, 2017. *Stratégia adaptácie Slovenskej republiky na nepriaznivé dôsledky zmeny klímy – aktualizácia*. Dostupné na <https://www.minzp.sk/files/odbor-politiky-zmeny-klimy/strategia-adaptacie-sr-nepriaznive-dosledky-zmeny-klimy-aktualizacia.pdf>.
4. SOCIETAS PEDOLOGICA SLOVACA 2014. *Morfogenetický klasifikačný systém pôd Slovenska. Bazálna referenčná taxonómia*. Bratislava: Výskumný ústav pôdoznectva a ochrany pôdy, 76s. ISBN 80-85361-70-1
5. TAKÁČ, J. 2015. *Sucho v poľnohospodárskej krajine*. Bratislava: Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav pôdoznectva a ochrany pôdy, 69 s., ISBN 978-80-8163-012-5

Kontaktná adresa: RNDr. Igor Sobocký, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav pôdoznectva a ochrany pôdy, Trenčianska 55, 821 09 Bratislava, Slovenská republika.
E-mail: igor.sobocky@nppc.sk



DLHODOBÝ VPLYV ROZDIELNEJ AGROTECHNIKY NA VYBRANÉ PARAMETRE PÔDY

LONG-TERM EFFECTS OF DIFFERENT TILLAGE ON SELECTED SOIL PARAMETERS

Božena Šoltysová, Martin Danilovič

Abstract: Changes in selected soil indicators were monitored in medium-heavy Gleyic Fluvisols with different tillage (conventional tillage, reduced tillage, no-tillage) in 2009 – 2018. The development of selected soil parameters in the time series was evaluated by trend analysis. The linear trend of the development of soil organic carbon in no-tillage indicated its annual increase of 0.037 g kg^{-1} (0.17 t ha^{-1}), its preservation in reduced tillage and its decrease in conventional tillage. From the trend analysis was found decrease values of soil reaction and the maintenance of the total nitrogen content in the soil.

Keywords: Gleyic Fluvisols, tillage, trend analysis, organic carbon, total nitrogen, soil reaction

Úvod

Významnou alternatívou, na Slovensku typických konvenčných technológií prípravy pôdy spojených s orbou, sú pôdoochranné technológie. Pri týchto technológiách dochádza k minimálnemu narušeniu povrchovej vrstvy pôdy a teda aj k poklesu uvoľňovania uhlíka z pôdy. Najradikálnejšou, ale energeticky najmenej náročnou technológiou je priama sejba do neoranej pôdy. Konverzia z klasickej agrotechiky na agrotechniku bez orby zároveň zvyšuje i zásobu uhlíka v pôde (Tian *et al.*, 2016).

Súčasný stav kvality poľnohospodárskej pôdy je nielen výsledkom prirodzeného vývoja, ale aj produktom činnosti človeka. V súvislosti s udržaním kvality pôdy a jej úrodnosti je potrebné sledovať aj zmeny pôdnej reakcie a v prípade potreby realizovať nápravné opatrenia (Vigovskis *et al.*, 2016).

Objektívnejší pohľad na hodnotenie vývoja určitej pôdnej vlastnosti vplyvom realizovaného hospodárenia poskytujú viacročné časové rady. Časový rad predstavuje množinu hodnôt posudzovaného parametra, ktorá je usporiadaná v čase (Chajdiak, 2005).

Cieľom práce bolo poukázať na zmeny vybraných chemických vlastností stredne ťažkej fluvizeme glejovej v dlhšom časovom rade.

Materiál a metódy

Pri rozdielnej agrotechnike sa v rokoch 2009 – 2018 v ornici stredne ťažkej fluvizeme glejovej sledovali zmeny vybraných pôdných parametrov. Poľný pokus bol založený NPPC – VÚA Michalovce na experimentálnom pracovisku v Milhostove, ktoré sa nachádza v nadmorskej výške 101 m, v klimatickom regióne T3. Na hodnotenej parcele bola pôda stredne ťažká, hlinitá, s priemerným obsahom ílovitých častíc (častice $< 0,01 \text{ mm}$) 38,1 %.

V pokusoch boli sledované tri rozdielne spôsoby obrábania pôdy: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika, PS – priama sejba do neobrábananej pôdy. Pokusy boli založené v trojnásobnom opakovaní v prirodzených podmienkach bez závlahy a boli usporiadané blokovou metódou s náhodným usporiadaním variantov. Veľkosť každého variantu bola 276 m^2 (6 m x 46 m).

Sled pestovaných plodín bol v rokoch 2009 – 2018 nasledovný: jačmeň siaty jarný (2009) – sója fazuľová (2010) – pšenica letná forma ozimná (2011) – kukurica siata na zrno



(2012) – jačmeň siaty jarný (2013) – sója fazuľová (2014) – pšenica letná forma ozimná (2015) – kukurica siata na zrno (2016) – jačmeň siaty jarný (2017) – sója fazuľová (2018). Pestované plodiny na všetkých troch variantoch obrábania boli hnojené NPK hnojivami.

Každoročne po zbere plodín boli odoberané pôdne z hĺbky 0 – 0,3 m. V pôdných vzorkách bol stanovený pôdny organický uhlík podľa Ľurina, celkový dusík podľa Kjeldahla a výmenná pôdna reakcia potenciometricky (Hraško *et al.*, 1962; Hrivňáková, Makovníková *et al.*, 2011).

Vývoj vybraných parametrov pôdy v časovom rade bol posúdený trendovou analýzou. Použil sa lineárny trend, pri ktorom koeficienty boli odhadnuté lineárnou rovnicou $y = a \cdot x + b$ (Chajdiak, 2005), na základe ktorej sa dá predpokladať hlavný trend vývoja vybraných charakteristík pôdy. Sledoval sa trend vývoja organického uhlíka, celkového dusíka a výmennej pôdnej reakcie v 10-ročnom časovom rade. Časové rady boli zobrazené spojnicovými grafmi. Vzájomné vzťahy medzi pôdnymi parametrami boli zhodnotené korelačnou analýzou.

Výsledky a diskusia

Posudzovaný 10-ročný sled plodín je z 4/5 tvorený plodinami (pšenica, jačmeň, sója) s indiferentným vplyvom na ročné straty uhlíka z pôdy ($4,27 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ pre fluvizeme glejové – stredne produkčné pôdy) a 1/5 predstavuje kukurica, ktorá je z pohľadu strát uhlíka z pôdy agresívnou plodinou. Ročné straty uhlíka z pôdy sú pri kukurici $4,70 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Pestované plodiny a ich vedľajšie úrody, vrátane koreňov, sú jediným zdrojom uhlíka. Pri jačmeni i sóji platí, že v daných pôdno-klimatických podmienkach nedokážu vyprodukovať dostatočné množstvo organického materiálu na pokrytie ročných strát uhlíka z pôdy. Podobne aj pri pšenici je zabezpečenie vyrovnanej bilancie uhlíka skôr ojedinelé, pretože dosiahnutie vyrovnanej bilancie uhlíka pri pšenici ozimnej je limitované úrodou zrna $5,8 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, čo je v daných pôdno-klimatických podmienkach skôr ojedinelé. Kladnú bilanciu uhlíka v existujúcich podmienkach zabezpečuje len kukurica, a to pri úrode $7,8 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$.

V desaťročnom časovom období sa obsah pôdneho organického uhlíka vyskytoval v rozpätí $15,54 \pm 1,65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ až $16,84 \pm 1,30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Tab. 1). Po prepočte organického uhlíka na humus bolo zistené, že monitorovaná stredne ťažká fluvizem glejová bola stredne až dobre humózna. Trend vývoja obsahov pôdneho organického uhlíka (Obr. 1) bol pre konvenčnú agrotechniku vyjadrený lineárnou rovnicou $y = -0,0499x + 15,777$, pre redukovanú agrotechniku $y = -0,0035x + 16,645$ a pre priamu sejbu $y = 0,037x + 15,919$. Z desaťročného vývoja obsahov pôdneho organického uhlíka vyplýva trend jeho zvýšenia pri priamej sejbe. Lineárny trend poukazuje na ročné zvýšenie obsahu pôdneho organického uhlíka o $0,037 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, čo v prepočte na obsah organického uhlíka v ornici do 0,3 m predstavuje nárast o $0,17 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. Naznačený trend indikuje možnosť sekvestrácie uhlíka po konverzii z klasickej agrotechniky na spracovanie pôdy bez orby (Álvaro-Fuentes a Paustian, 2011).

Lineárny trend vývoja pôdneho organického uhlíka pri redukovanej agrotechnike, vyjadrený lineárnou rovnicou, poukázal na udržanie jeho obsahu v pôde. Trend vývoja organického uhlíka pri konvenčnej agrotechnike vypovedá o jeho ročnom poklese o $0,05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($0,23 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$).

Tab. 1 Zmeny pôdneho organického uhlíka a pôdnej reakcie pri rozdielnej agrotechnike

Rok	Pôdny organický uhlík [$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$]			Výmenná pôdna reakcia pH/KCl		
	KA	RA	PS	KA	RA	PS
2009	15,60±0,73	16,81±0,57	16,01±0,66	6,59±0,09	6,41±0,24	6,48±0,11
2010	16,14±0,45	17,15±0,09	16,31±0,41	6,45±0,18	6,29±0,03	6,34±0,16
2011	15,56±0,73	16,56±0,18	16,05±0,76	6,26±0,07	6,20±0,17	6,18±0,05
2012	15,73±0,33	16,70±0,17	16,21±0,96	6,43±0,14	6,48±0,16	6,43±0,09
2013	15,20±0,99	16,06±0,33	15,48±0,65	6,62±0,13	6,71±0,18	6,66±0,02

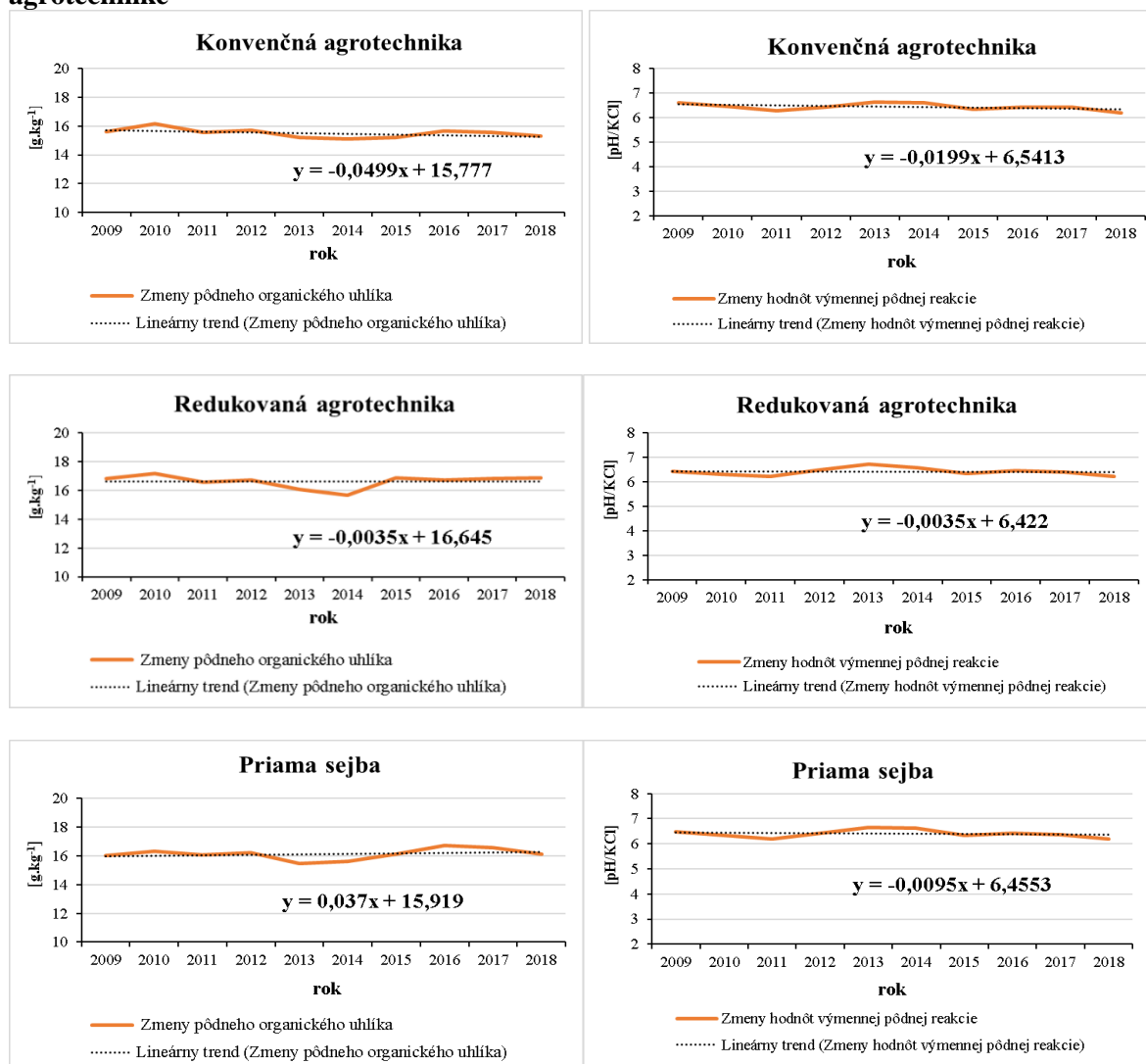


Tab. 1 Pokračovanie tabuľky

2014	15,12±0,37	15,68±0,18	15,64±0,35	6,60±0,05	6,58±0,06	6,63±0,02
2015	15,19±0,36	16,85±0,20	16,10±0,43	6,33±0,03	6,33±0,04	6,34±0,05
2016	15,67±1,03	16,72±1,16	16,71±1,02	6,43±0,18	6,44±0,08	6,42±0,21
2017	15,54±1,65	16,84±1,30	16,58±1,33	6,42±0,06	6,39±0,11	6,36±0,33
2018	15,28±0,47	16,89±0,59	16,13±1,22	6,19±0,07	6,20±0,05	6,19±0,09

kde: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika, PS – priama sejba

Obrázok 1 Trend vývoja pôdneho organického uhlíka a pôdnej reakcie pri rozdielnej agrotechnike



Jedným z dôležitých parametrov kvality pôdy je pôdna reakcia. Vyššia kyslosť pôdy znižuje rozpustnosť mnohých látok niekedy až pod životné minimum rastlín a preto je potrebné sledovať zmeny pôdnej reakcie a pri jej negatívnych zmenách realizovať vápnenie pôdy (Joris *et al.*, 2016).

Pri diferencovanom obrábaní pôdy sa hodnoty výmennej pôdnej reakcie vyskytovali v rozmedzí 6,20±0,17 až 6,71±0,18 a podľa kritérií hodnotenia (Vyhláška MPRV SR č. 151/2016 Z. z.) bola pôdna reakcia slabokyslá až neutrálna. Trend vývoja výmennej pôdnej reakcie v desaťročnom období bol vyjadrený lineárnou rovnicou $y = -0,0199x + 6,5413$ pre KA, $y = -0,0035x + 6,422$ pre RA a $y = -0,0095x + 6,4553$ pre PS (Obr. 1). Vývoj výmennej pôdnej reakcie pri rozdielnom obrábaní fluvizeme glejovej poukázal na mierny pokles jej hodnôt.



Obsah celkového dusíka v pôde súvisí s obsahom pôdneho organického uhlíka. Pri diferencovanej agrotechnike bola medzi organickým uhlíkom a celkovým dusíkom v pôde zistená význačná kladná závislosť ($r = 0,63$, $n = 30$). Signifikantné lineárne korelácie medzi organickým uhlíkom a celkovým dusíkom v orničnom horizonte s hodnotou korelačného koeficienta $r = 0,76$ zaznamenali Zaujec a Kobza (2002) a $r = 0,94$ zistili Růžek et al. (2009). Zmeny celkového dusíka pri rozdielnej agrotechnike sú uvedené v tabuľke 2. Z uvedených desaťročných zmien celkového dusíka boli vytvorené trendové čiary. Trend vývoja celkového dusíka pre KA bol vyjadrený lineárnou rovnicou $y = -1,0303x + 1623,9$, pre RA $y = -0,0909x + 1755,4$ a pre PS $y = 1,1394x + 1656,5$.

Tab. 2 Zmeny celkového dusíka [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$] pri rozdielnej agrotechnike

Rok	KA	RA	PS	Rok	KA	RA	PS
2009	1623±21	1727±111	1613±57	2014	1597±42	1697±62	1623±47
2010	1660±46	1813±9	1663±41	2015	1573±70	1733±120	1640±59
2011	1667±105	1797±87	1720±91	2016	1527±15	1698±141	1596±29
2012	1600±73	1760±50	1690±170	2017	1602±129	1759±141	1642±156
2013	1597±21	1730±14	1697±88	2018	1736±87	1835±164	1744±85

kde: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika, PS – priama sejba

Záver

Trendová analýza poskytuje objektívnejší pohľad na hodnotenie vývoja parametrov pôdy. Po konverzii z konvenčnej agrotechniky na obrábanie bez orby dochádza k sekvestracii uhlíka v pôde. Lineárny trend vývoja pôdneho organického uhlíka pri priamej sejbe poukázal na jeho ročné zvýšenie o $0,037 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, čo v prepočte na obsah organického uhlíka v ornici do 0,3 m predstavuje nárast o $0,17 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Trend vývoja pôdneho organického uhlíka pri redukovanej agrotechnike poukázal na udržanie jeho obsahu a pri konvenčnej agrotechnike na jeho mierny pokles. Z trendu vývoja výmennej pôdnej reakcie pri diferencovanom obrábaní pôdy bol zistený pokles jej hodnôt a z vývoja obsahu celkového dusíka v pôde udržanie ich obsahov.

PodĎakovanie: Táto práca bola financovaná Ministerstvom poľnohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky v rámci riešenia rezortného projektu výskumu a vývoja (2016 – 2018) s názvom „Agroekosystémy zohľadňujúce faktory prostredia v zmenených pôdno-klimatických podmienkach“.

Literatúra

- ÁLVARO-FUENTES, J. – PAUSTIAN, K. 2011. Potential soil carbon sequestration in a semiarid Mediterranean agroecosystem under climate change: quantifying management and climate effect. In: *Plant Soil Till. Res.*, 2011, no. 338, pp. 261-272.
- HRAŠKO, J. et al. 1962. Rozbory pôd. 1. vyd. Bratislava : SVPL, 1962. 342 s.
- HRIVŇÁKOVÁ, K. – MAKOVNÍKOVÁ, J. et al. 2011. Jednotné pracovné postupy rozborov pôd. 1. vyd. Bratislava: VÚPOP, 2011. 136 s. ISBN 978-80-89128-89-1
- CHAJDIÁK, J. 2005. Štatistické úlohy a ich riešenie v Exceli. Bratislava: Statis, 2005. 268 s. ISBN 80-85659-39-5
- JORIS, H.A.W. – CAIRES, E.F. – SCHARR, D.A. – BINI, A.R. – HALISKI, A. 2016. Liming in the conversion from degraded pastureland to a no-till cropping system in Southern Brazil. In: *Soil Till. Res.*, vol. 162, 2016, pp. 68-77.
- TIAN, S. – NING, T. – WANG, Y. – LIU, Z. – LI, G. – LI, Z. – LAL, R. 2016. Crop yield and soil carbon responses to tillage method changes in North China. In *Soil Till. Res.*, vol. 163, 2016, pp. 207-213.
- RŮŽEK, L. – RŮŽKOVÁ, M. – VOŘÍŠEK, K. – KUBÁT, J. – FRIEDLOVÁ, M. – MIKANOVÁ, O. 2009. Chemical and microbiological characterization of Cambisols, Luvisols and Stagnosols. In: *Plant Soil Environ.*, vol. 55, 2009, no. 6, pp. 231-237.
- VIGOVSKIS, J. – JERMUSS, A. – SVARTA, A. – SARKANBARDE, D. 2016. The changes of soil acidity in long-term fertilizer experiments. In: *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 103, 2016, no. 2, pp. 129-134.
- VYHLÁŠKA MPRV SR č. 151/2016 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o agrochemickom skúšaní pôd a o skladovaní a používaní hnojív.



10. ZAUJEC, A. – KOBZA, J. 2002. The content and quality of soil organic matter in key monitoring sites observing by soil monitoring system of the Slovak republic. In: *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, vol. 48, 2002, no. 9, pp. 492-499.

Kontaktné adresy: Ing. Božena Šoltysová, PhD., Ing. Martin Danilovič, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav agroekológie Michalovce, Špitálska 1273, 071 01 Michalovce, Slovensko. E-mail: bozena.soltysova@nppc.sk, martin.danilovic@nppc.sk

Názov publikácie: Recenzovaný zborník vedeckých prác Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri Slovenskej akadémii vied v Bratislave

Editori: Marcinčák Slavomír, Semjon Boris, Golian Jozef

Autori: Kolektív autorov

Vydavateľ: GARMOND Nitra

Rok vydania: 2020

Náklad: 60 ks

Návrh obálky: Boris Semjon

Počet strán: 262 strán

Vydanie: prvé

Neprešlo redakčnou úpravou vo vydavateľstve.

ISBN 978-80-89703-83-8



ISBN 978-80-89703-83-8