

4

2009



Vedecký časopis pre potravinárstvo

číslo

www.potravinarstvo.com

ročník 3
číslo 4
október 2009

potravinárstvo 4 (3)
ISSN 1338-0230 (tlačená verzia)
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)

Potravinárstvo

Vedecký časopis pre potravinárstvo

Šéfredaktor:

Ing. Peter Zajác, PhD.
SPU Nitra

Zástupca šéf redaktora:

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

Redaktori:

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

Predseda redakčnej rady:

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

Redakčná rada

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

Potravinárstvo

Scientific journal of food science

Editor:

Peter Zajác
SUA Nitra

Deputy of Editor:

Jozef Golian
SUA Nitra

Sub-Editor:

Radoslav Židek,
Jozef Čapla,
SUA Nitra

Chairman, Editorial Board:

Jozef Golian,
SUA Nitra

Editorial Board:

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

• **Potravinárstvo**® • **Ročník:** 3, č. 4/2009 • **Vedecký časopis pre potravinárstvo** • **Scientific journal of food science** • **Vydavateľ:** Ing. Peter Zajác, HACCP Consulting. Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce. Vydavateľ úzko spolupracuje s Katedrou hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre • **Nakladateľ:** Združenie HACCP Consulting. Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **Periodicita:** vychádza 4x do roka • **Internetová stránka časopisu:** www.potravinarstvo.com • **Adresa redakcie:** Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **E-mail:** info@potravinarstvo.com • **Tel.:** +421908164361, +421904138562 • **Jazyková úprava:** Publikované články neprešli jazykovou úpravou • **Grafická úprava:** Flame-studio Nitra • **Tlač:** SPU Nitra • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **Náklad:** 150 ks • **Miesto vydania:** Nitra • **Právne informácie a autorské práva:** Za obsah jednotlivých článkov zodpovedajú autori. Za obsah inzerátov zodpovedajú inzerenti • Časopis je excerptovaný do medzinárodného systému AGRIS FAO.

Všetky práva vyhradené, © 2009 Potravinárstvo®
Evidenčné číslo Ministerstva kultúry SR: 3771/09
ISSN 1338-0230 (tlačaná verzia)
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)



Katedra hygieny a bezpečnosti
potravín



AUTENTIFIKAČNÉ PARAMETRE VHODNÉ NA ODHLAĽOVANIE FALŠOVANIA OVOCNÝCH NÁPOJOV

AUTHENTICATION PARAMETERS SUITABLE FOR DETECTING COUNTERFEIT OF FRUIT DRINKS

Lubomír Belej, Jozef Golian, Alica Bobková

ABSTRACT

Fruit juice adulteration presents an economic and regulatory problem. The most common forms of adulteration include simple dilution and blending of inexpensive and synthetically produced juices into the more expensive ones. Adulteration is best shown by detecting a foreign component that is characteristic of a specific adulterant. The quality of a determination of authenticity is clearly linked to number and types of tests performed. Adulterations of fruit juices or concentrates can usually be detected by the combined use of different analytical methods.

Keywords: fruit juice, adulteration, authentication, spectrometry

ÚVOD

Za falšovanie nealkoholických nápojov a koncentrátov na ich prípravu sa považuje, ak nápoje a koncentráty na ich prípravu neobsahujú uvedený podiel ovocnej zložky alebo zeleninovej zložky, ak sa v označení uvádzajú akékoľvek nepravdivé údaje, ak sa ovocná šťava, zeleninová šťava alebo ich zmesi získavajú extrakciou výliskov alebo opätovným lisovaním výliskov zaliatych vodou **Potravinový kódex (2004)**.

Z ovocných štiav alebo ich koncentrátov, ako aj ďalších surovín (voda, minerálna voda, cukor, ovocné prísady, med, CO₂ a i.) sa vyrábajú aj ovocné nápoje, u ktorých obsah ovocnej sušiny v prepočte na použité množstvo ovocnej šťavy činí najmenej jednu štvrtinu hmotnostného podielu stanoveného pre nektáre. Limonády sa vyrábajú z nápojových koncentrátov a vody a sú sytené oxidom uhličitým. Koncentráty sa môžu použiť aj na ochucovanie minerálnych vôd (**Hammond, 1996**).

Ovocnou šťavou podľa **Potravinového kódexu (2004)** nazývame fermentovateľný alebo nefermentovateľný výrobok získaný z jedného druhu ovocia alebo viacerých druhov ovocia, ktoré je zdravé a zrelé, čerstvé alebo konzervované chladom, s charakteristickou farbou, vôňou a chuťou typickou pre šťavu ovocia z ktorej pochádza, arómu, dreň a bunky zo šťavy oddelené počas spracovania možno vrátiť do tej istej šťavy.

Z ovocných štiav alebo ich koncentrátov, ako aj ďalších surovín (voda, minerálna voda, cukor, ovocné prísady, med, CO₂ a i.) sa vyrábajú aj ovocné nápoje, u ktorých obsah ovocnej sušiny v prepočte na použité množstvo ovocnej šťavy činí najmenej jednu štvrtinu hmotnostného podielu stanoveného pre nektáre. Limonády sa vyrábajú z nápojových koncentrátov a vody a sú sytené oxidom uhličitým. Koncentráty sa môžu použiť aj na ochucovanie minerálnych vôd (**Hammond, 1996**).

Falšovanie tzv. 100% ovocných štiav všeobecne zahŕňa prídavok, vody, cukru, silíc, kyselín, farbív a ďalších lacnejších surovín náhradou za drahšiu prírodnú šťavu. Falšovanie tejto komodity zahŕňa takisto vydávanie lacnejších surovín za drahšie z významných oblastí alebo vybraných odrôd. Najväčší objem ovocných nápojov tvoria produkty z citrusov, hlavne z pomarančov. Preto je aj najviac prípadov falšovanie spojených s pomarančovými nápojmi (www.szpi.gov.cz)

DETEKCIA AUTENTICITY PODĽA ARÓMY A CHUŤOVÝCH ZLOŽIEK

Autentifikácia ovocných štiav podľa profilu chuti a vône vychádza z prieskumu a stanovenia najmä prchavých látok, ktoré sú typické pre každú potravinu. Pre jablčnú šťavu sa ako charakteristické autentické aromatické zložky uvádzajú estery kyseliny (E)-2-okténovej (10 µg.kg⁻¹), (Z)-decénovej (230 µg.kg⁻¹) a (E,Z)-2,4-dekadiénovej (280 µg.kg⁻¹) (**Singhal et al., 1997**).

Prítomnosť diacetylu signalizuje parciálne sfermentovanie ovocných štiav baktériami tvoriacimi kyseliny. Diacetyl v koncentrácii nad 1 ppm spôsobuje vôňu po kyslomliečnych výrobkoch. Acetylmetylkarbinol je tiež fermentačný produkt, ale bez zápachu. Furfural vzniká v dôsledku degradácie askorbovej kyseliny a nárast jeho koncentrácie je v úzkej korelácii so vznikom nežiaducich vonných látok v ovocných šťavách, ktoré sa skladujú nevhodne pri vyšších teplotách (nad 27°C) (**Thing, Rouseff 1996**).

Rudnitskaya et al., (2001) použili elektronický jazyk založený na sade 29 kompenzačných senzorov rozličných druhov na spoznávanie pomarančových a jablkových štiav a ovocných nápojov. Systém je založený na rozlišovaní medzi šťavami vyrobenými z koncentrátov a čerstvo vytlačených prírodných štiav. Ďalej bol elektronický jazyk použitý na monitorovanie riedenia štiav vodou a cukorným roztokom. Pričom sa dá určiť už 1%-ný prídavok vody do ovocnej šťavy.

DETEKCIA AUTENTICITY STANOVENÍM SACHARÓZY A CUKROVÝCH ZLOŽIEK

Dôležitou surovinou používanou pri výrobe nealkoholických nápojov je sacharóza. V menšej miere sa používa glukóza, škrobový sirup, inertný sirup a fruktóza. Okrem týchto sacharidov majú pre výrobu diétnych nápojov význam aj náhradné sladidlá. Náhradné sladidlá sú prídavné látky, ktoré sa používajú na dodanie sladkej chuti potravinám alebo ako stolové sladidlá (**Čopíková, 2006**).

Karbohydráty predstavujú asi 98 % rozpustených látok v ovocných šťavách. Okrem hlavných cukrov (glukóza, fruktóza, sacharóza), ktoré sa bežne v ovocných šťavách kontrolujú, sú ako markery vhodné aj neobvyčajné sacharidy, najmä di-, tri- alebo tetrasacharidy, ktoré sa tvoria počas výroby sirupov najmä pôsobením kyselín alebo enzýmov. Markerom na detekciu prídavku

fruktózového kukuričného sirupu do ovocných štiav je izomaltóza (**Prodolliet, Hischenhuber, 1997**).

Ako ďalší marker signalizujúci prídavok nepôvodných sacharidov do štiav uvádza **Hamonnd (1996)** deutérium. Sacharidy z rôznych zdrojov majú totiž rozdielny pomer D/H. Tento pomer sa dá merať izotopickou hmotnostnou spektrometriou. Na meranie je však potrebné použiť vodíky pevne viazané na sacharidy. V molekule

Tabuľka 1 Obsah deutéria [ppm]v etanloch z rôznych zdrojov

Zdroj	D ₁ *	D ₂ *	D (priemer)
trstinový cukor	112	127,7	124,2
kukuričný škrob	111	122,9	122,8
repný cukor	92,7	124,1	125,3
zemiakový škrob	97,2	127,1	113,2
syntetický etanol	126,8	144	135,4
ovocie	97,2	125,2	
citrusová šťava	104		

*D₁ deutérium na -CH₃ skupine etanolu

*D₂ deutérium na -CH₂- skupine etanolu

sacharidov sú dva typy vodíkov, jeden je súčasťou hydroxylovej skupiny, druhý sa pevne viaže na uhlík. Na meranie treba použiť vodíky pevne viazané na uhlíku, lebo disociujúce vodíky na -OH skupine cukrov sa vymieňajú s vodíkmi disociovanaj vody. Disociované vodíky cukrov sa pred meraním odstránia buď esterifikáciou s kyselinou dusičnou, alebo sa prevažná časť odstráni fermentáciou cukrov na etanol. Tu však čiastočne dochádza k zabudovaniu disociovaných H do etanolu, čím sa čiastočne skreslí konečný výsledok. Najmenej sa vodík zabuduje do -CH₃ skupiny etanolu, preto sa na identifikáciu využíva najmä výsledok stanovenia deutéria na tejto skupine.

Obsah deutéria v etanloch z rôznych zdrojov uvádza tabuľka 1 (**Hammond, 1996**).

Metódu možno využiť na detekciu prídavku sacharózy do citrusových štiav, z tabuľky však vidieť, že ak sa použije správny pomer repného a trstinového cukru, nemožno prídavok tejto zmesi potom detegovať. Treba použiť potom radšej techniku s ¹³C izotopom. Metóda nie je vhodná ani pre šťavy z ovocia pochádzajúceho z chladnejších klimatických podmienok, napr. jablká. Podobne použitie zmesných sladidiel pri „dorábaní“ štiav úplne skomplikuje možnosti identifikácie (**Hammond, 1996**).

AUTENTIFIKÁCIA OVOCNÝCH ŠTIAV PODĽA ORGANICKÝCH KYSELÍN

Celková acidita: Tento parameter vo vzťahu k celkovému obsahu sacharidov (Brix) je indikátorom stavu zrelosti ovocia, z ktorého sa pripravujú ovocné šťavy. Určitým spôsobom tento pomer charakterizuje aj geografický pôvod ovocnej šťavy, napr. pomer Brix/celková acidita 6 až 8 je typický pre pomarančovú šťavu z Grécka a máva hodnotu okolo 10 pre Taliansko (**Hofsommer, 1995**).

Kyselina citrónová: Zisťovanie len samotného celkového obsahu kyseliny citrónovej neposkytuje dostatočnú informáciu o stave kvality ovocných štiav z hľadiska autentického. Dôležitejší je pomer tejto kyseliny k izocitrónovej kyseline. V Európe v pomarančových šťavách veľmi zriedkavo presahuje tento pomer hodnotu

130, v Maroku a Izraeli vyšší ako 100 a v pomarančových šťavách z Brazílie sa táto hodnota pohybuje medzi 90 a 130 (**Hofsommer, 1995**).

Po riedení pravých štiav a ich dosládzaní a dokyslovaní komerčnou kyselinou citrónovou dochádza k poklesu obsahu kyseliny D-izocitrónovej, pretože táto prírodná kyselina nie je obsiahnutá v synteticky vyrobenej kyseline. Súčasne dochádza k výraznému nárastu pomeru

uvedených kyselín. Kyselina D-izocitrónová sa pomerne veľmi spoľahlivo dá stanoviť enzymatickou metódou (test by Boehringer Mannheim). Pre jednotlivé citrusové šťavy sú pomery kyseliny citrónovej a izocitrónovej nasledujúce: pomarančová šťava - 120 až 258, grapefruitová 57 až 169, mandarínková 119 až 140 a citrónová 176 až 258 (**Thing, Rouseff 1993**).

Saavedra, Garcia a Brabas (2000) na stanovenie organických kyselín v ovocných šťavách použili kapilárnu elektroforézu s UV detekciou 200 nm. Separovali ňou kyselinu citrónovú, kyselinu vínnu, kyselinu jablčnú

a kyselinu šťaveľovú pričom rozsah kyseliny šťaveľovej a kyseliny vínnej bol 10-200 µg/ml a kyseliny citrónovej a jablčnej 30-250 µg/ml.

AUTENTIFIKÁCIA OVOCNÝCH ŠTIAV PODĽA AMINOKYSELINOVÉHO ZLOŽENIA

Obsah voľných aminokyselín sa vyjadruje pomocou formolového čísla, ktoré súčasne slúži ako dôležitý charakteristický ukazovateľ riedenia ovocných štiav. Toto číslo vyjadruje sumu všetkých voľných aminokyselín a amónnych iónov (mmol/l) okrem prolínu po vynásobení faktorom F, ktorý je pre pomarančovú šťavu 1,2 (± 0,08), grapefruitovú šťavu 1,08 (± 0,05), citrónovú 0,99 (± 0,09) a pre jablkovú šťavu 0,93 (± 0,10). (**Thing, Rouseff 1996**).

Štúdia **Balda a Glowackého (2001)**, využíva kvapalinovú chromatografiu na určenie rozličných druhov glutationu a cysteínu v ovocných džúsoch. Metóda je založená na transformácii thiolu v reakcii s ultrafialovým špecifickým určujúcim reagentom 2-chloro-1-methylquinolinium tetrafluorboritanom (CMQT) na stabilizáciu derivátu a separáciu a kvantifikáciu pomocou kvapalinovej chromatografie

Z 21 voľných aminokyselín, ktoré sa vyskytujú v ovocných šťavách je 8 aminokyselín dominantných a podieľajú sa až 90 - 95 % na celkovom obsahu aminokyselín. Sú to prolín, kyselina asparágová, serín, asparagín, kyselina glutámová, alanín, kyselina γ-aminomaslová a arginín (**Nagy et al., 1988**).

AUTENTIFIKÁCIA OVOCNÝCH ŠTIAV POMOCOU SPEKTROFOTOMETRICKÝCH METÓD

Infračervená spektrofotometria sa pri autentifikačných procesoch začala uplatňovať najmä po zavedení FTIR spektrometrov, ktoré umožňujú veľmi rýchle merania spektier. IČ spektrá poskytujú informácie o vibráciách polárnych funkčných skupín, čo umožňuje rýchlu screeningovú identifikáciu akoby na základe „odtlačkov prstov“ (**Wilson, 1994**).

Pomocou FTIR meraní v NIR oblasti ($11000 - 4200 \text{ cm}^{-1}$) a pomocou reflektanej sondy na svetlovodivom kabele boli autentifikované 100 % pomarančové šťavy. Získané spektrá po úprave boli použité na analýzu údajov pomocou algoritmu PCA (Principal Component Analysis). PCA je projekčnou metódou, ktorá vizualizuje údaje obsiahnuté v matici údajov a umožňuje vyselektovať vzorky výrazne odlišné od štandardných výrobkov (Cuhra, Tenkl, 1996).

Vardin et al. (2008) použili FTIR spektroskopiu k detekcii falšovania koncentráty z granatového jablka s hroznovým koncentrátom. FTIR spektroskopie bola použitá 1, na rozlišovanie vzoriek koncentráty granatového jablka a koncentráty z hrozna 2 a klasifikovať prídavok 2-14% hroznovej šťavy v čistom koncentráte z granatového jablka

Stanovenie uvedených komponent týmito technikami je v dobrej zhode s klasickými analytickými metódami. Infračervená spektrofotometria v NIR oblasti sa obvyčajne využíva ako reflexná technika na autentifikáciu vysušených ovocných štiav pri $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 45 min. vo forme tabletky (Hammond, 1996).

Touto technikou sa podarilo rozlíšiť niekoľko ovocných štiav podľa druhu, krajiny pôvodu a ročníka výroby, ako aj zistiť určité technologické operácie vykonané so šťavami a prídavky nepovolených prídavných látok (Scotter, Legrand, 1994).

Kelly a Downey (2005), použili FTIR spektroskopiu na detekciu falšovania vzoriek jablčných štiav. Porovnávali súbor 224 autentických jablčných vzoriek s 480 falšovanými. Falšovanie prebiehalo prídávaním invertovaného trstinového sirupu, sacharózy z cukrovej repy, fruktozového kukuričného sirupu a syntetického roztoku fruktózy, glukózy a sacharózy. Falšovanie bolo vykonané na jednotlivých jablčných vzorkách na úrovni 10, 20, 30 a 40%. Spektrálne údaje boli komprimované pomocou analýzy hlavných komponentov. Táto metóda sa ukazuje ako rýchla technika na detekciu rôznych prídavkov do jablčnej šťavy.

Analýzou fluorescenčného profilu možno detegovať prídavky do pomarančovej šťavy: okolo 20 % sekundárneho extraktu, 2 % grapefruitovej šťavy, 0,5 % citrónovej šťavy a dokonca 0,1 % prídavok limetovej šťavy (druh malých a veľmi kyslých citrónov) (Lee et al., 1995)

ZÁVER

Nebezpečenstvo vzniku ochorení konzumáciou falšovaných nápojov je v súčasnom období veľmi aktuálne aj z hľadiska rôznorodosti ponúkaného sortimentu. Preto je potrebné sledovať nové trendy a metódy stanovujúce nežiaduce látky v týchto nápojoch.

LITERATÚRA

BALD, E., GLOWACKI, R. 2001. 2-Chloro-1-methylquinolinium tetrafluoroborate as an effective and thiol specific UV Tagging reagent for liquid chromatography. In *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 24, 2001, s. 1323-1339

CUHRA, P., TENKL, L. 1996. CZPI Praha a NICODOM, REP. NICOLET INSTRUMENT, Praha, Firemná literatúra pre využitie infračerveného spektrofotometra FTIR NICOLET Protégé 460 na autentifikáciu 100% pomarančových štiav, 1996.

ČOPIKOVÁ, J., LAPČIKOVÁ, O., UHER, M., MOROVCOVÁ, J., DRAŠÁR, P. 2006. Cukerná nesacharosová sladidla a príbuzné látky. In *Chemické listy* (100) 2006, p.778

HAMMOND, D. A. 1996. Authenticity of fruit juices, jams and preserves, In Ashurst, P. R., Dennis, M. J., Food Authentication, Blackie Academic & Professional, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 1996, s. 15 – 60.

HOFSSOMMER, H. J. 1995. Analytical methodologies of fruit juice adulteration detection as practised in Europe, In: NAGY, S. – WADE, R.L., Methods to detect adulteration of fruit juice beverages, Agscience, Inc., Auburndale, 1995, 336 – 355.

KELEY, J. F. D., DOWNEY, G. 2005. Detection of Sugar Adulterants in Apple Juice Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005 4,53(9). s 3281-6

LEE, K. Y., MYERS, T., WADE, R. L. 1995. Application of high performance thin layer chromatography for the detection of orange juice adulteration, In: NAGY, S., WADE, R.L., Methods to detect adulteration of fruit juice beverages, Agscience, Inc., Auburndale, 1995, s. 167 – 181.

NAGY, S., ATTAWAY, J. A., RHODES, M. E. 1988. Adulteration of fruit juice beverages, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, 1988, 563 p.

PRODOLLIET, J., HISCHENHUBER, C. 1997. Application of carbohydrate chromatography to detect food adulteration, In: Proceedings of Euro food Chem IX, V1, Swiss Society of food and Environmental Chemistry, Interlaken, 1997, s. 175 – 192.

RUDNITSKAYA, A., LEGIN, A., MAKARYCHEV-MIKHAILOV, S., GORYACHEVA, O., VLASOV, Y. 2001. Quality monitoring of fruit juices using an Electronic Tongue. In: *Analytical Sciences* 17, 2001, p. 309

SAAVEDRA, L., GARCIA, A., BARBAS, C. 2000. Development and validation of a capillary electrophoresis method for direct measurement of isocitric, citric, tartaric and malic acids as adulteration marks in orange juice. In *Journal of Chromatography* 881(1-2), 2000, p. 395-401

SCOTTER, C. N. G., LEGRAND, A. 1994. NIR spectroscopy as a screening technique for fruit juice verification, In: Report on SGF-Syposium „Progress in the authenticity – assurance for fruit juices, Parma, 1994, s. 253 – 270.

SINGHAL, R. K., KULKARNI, P. R., REGE, D. V. 1997. Handbook of indices of food quality and authenticity, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 1997, 561p.

THING, S. V., ROUSEFF, R. L. 1993. Detection of adulteration in citrus juices, In: Citrus fruits and their products, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1993, s. 197 – 212.

THING, S. V., ROUSEFF, R. L. 1996. Citrus fruits and their products, Analysis and technology, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1996, 293

VARDIN, H., TAY, A., OZEN, B., MAUER, L. 2008. Authentication of pomegranate juice concentrate using FTIR spectroscopy and chemometrics. In *Food Chemistry*, Volume 108, Issue 2, 2008, p. 742-748.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 21. Júna 2004 č. 1882/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca ovocné šťavy a niektoré podobné výrobky určené na ľudskú spotrebu.

WILSON, R. 1994. Rapid authentication of fruit purées by mid range-infrared spectroscopy, Paper presented as part of a Comett seminar held in London, November 1994. Dostupné na internete: <http://www.szpi.gov.cz>

Kontaktná adresa:

Ing. Lubomír Belej, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU Nitra, Tr. A. Hlinku, 949 01 Nitra, E-mail: lubomirbelej@azet.sk

VPLYV PRÍDAVKU BIOLOGICKY AKTÍVNYCH LÁTOK DO KRÉMNEJ ZMESI NOSNÍK NA OBSAH CHOLESTEROLU VO VAJCI

INFLUENCE OF ADDITION OF BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS ON EGG CHOLESTEROL CONTENT

Čuboň Juraj, Prívarva Štefan, Haščík Peter, Arpašová Henrieta, Kačániová Miroslava, Schneidgenová Monika, Vagačová Tatiana

ABSTRACT

The cholesterol contained in yolk is controversial as it is related to the risk of cardiovascular diseases. As enrichment is performed based only on natural transformation of the substances from the feed to eggs through the hen, such eggs are positively accepted by consumers. The aim of this study was to evaluate the addition of biological active compounds such as selenium, tocopherol and linoleic acid to hens feed on egg yolk cholesterol content. We observed statistically significant differences ($P \leq 0.05$ to $P \leq 0.01$) in egg weight between control (64.29 g) and group with addition of linoleic acid (62.00 g) and between control and group with addition of selenium (62.33 g). We did not observe any significant differences ($P \geq 0.05$) in yolk weights. We observed significant differences ($P \leq 0.05$ to $P \leq 0.001$) in cholesterol content between control group (17.73 mg.g⁻¹ yolk) and group with selenium (18.52 mg.g⁻¹ yolk), between groups with linoleic acid (18.23 mg.g⁻¹ yolk) and tocopherol (17.12 mg.g⁻¹ yolk) and between groups with selenium and tocopherol.

Keywords: egg yolk, selenium, tocopherol, linoleic acid, egg quality

ÚVOD

Vajcia sú výborným, lacným a málo kalorickým zdrojom vysokokvalitných bielkovín a tukov ako sú fosfolipidy a nenasýtené mastné kyseliny (Seuss-Baum, 2005). Okrem toho obsahujú ďalšie významné zložky ako je riboflavín (15% RDI), selén (17% RDI) a vitamín K (31% RDI) (Anonym, 1989). Vajcia tiež obsahujú kyselinu folovú, vitamíny A, B, D, E a železo (Burrington, 2000), ďalej cholí, ktorý je potrebný pre ranný vývoj mozgu. Vajcia sú dobrým zdrojom luteínu a zeaxantínu, ktoré sa spájajú s poklesom vzniku vekom spôsobenej makulárnej degenerácie, ktorá je hlavnou príčinou slepoty (Hasler, 2000).

Ako prvá časť vajca sa vyvíja žĺtok, okolo ktorého sa formuje bielok v dvoch vrstvách - hustý, želatinózny, ktorý obklopuje žĺtok a riedky bielok. Ďalej sa formujú dve pod škrupinové blany, ktoré chránia obsah vajca pred bakteriálnou kontamináciou a nakoniec sa tvorí škrupina. Celý proces trvá približne 20-24 hodín (Davis and Reeves, 2002).

Bielok predstavuje 58 % hmotnosti celého vajca. Bielok sa skladá z 88 % vody a z 9% bielkovín, ktoré sú hlavnou zložkou vaječného bielka, ďalej z karbohydrátov (0,5 – 0,6%), ktoré sú zastúpené buď ako voľné (hlavne glukóza)

alebo viazané na bielkoviny a z minerálov. Obsah tuku v bielku je v porovnaní s obsahom v žĺtku zanedbateľný (Powrie a Nakai, 1986; Davis a Reeves, 2002). Bielkoviny vaječného bielka sa pre svoje jedinečné vlastnosti (šľahateľnosť, tepelná koagulácia a adhezívne väzby) využívajú v potravinárskom priemysle (Davis a Reeves, 2002).

Žĺtok predstavuje približne 31% z celkovej hmotnosti vajca. Žĺtok je tvorený z 51% vody, 30,5% tukov, 16% bielkovín a minerálov. Tučky sú hlavnou zložkou vaječného žĺtka. Medzi najvýznamnejšie sa zaraďujú triglyceridy, fosfolipidy, cholesterol, cerebrozidy. Z mastných kyselín sú najviac zastúpené kyselina olejová, kyselina palmitová, kyselina linolová a kyselina steárová (Davis a Reeves, 2002).

Zložením krmnej dávky nosníc je väčšinou nemožné ovplyvniť zmeny v obsahu celkových bielkovín a aminokyselín vajca. Ale pomocou rôznych doplnkov v krmných dávkach nosníc je relatívne ľahké ovplyvňovať obsah tukov, mastných kyselín (Meluzzi et al., 2000) a minerálnych látok (Surai, 2002a; Yaroshenko et al., 2003).

Vajcia majú význam v potravinárskom priemysle a to hlavne pre ich špecifické vlastnosti ako tepelná koagulácia

Tabuľka 1 Chemické zloženie slepačích vajec (g.vajce⁻¹) podľa Sungino et al. (1997)

Sledovaný ukazovateľ	Voda	Bielkoviny	Jednoduché cukry	Oligosacharidy	Tuky	Minerálne látky
Vaječný žĺtok	9,1	3,1	0,1	0,1	5,8	0,3
Vaječný bielok	28,9	3,5	0,1	0,2	0,0	0,2
Vaječná škrupina a podškrup. blany	0,1	0,4	–	–	–	5,9
Spolu	38,1	7,0	0,2	0,3	5,8	6,4

alebo tuhnutie bielka, šľahateľnosť bielka a emulgačné vlastnosti žltkových fosfolipidov a lipoproteínov (**Oloyede a Ikuelogbon, 2004**).

Vitamín E a selén sú kľúčové komponenty v antioxidantnom systéme, ktorým redukujú oxidáciu lipidov (**Meluzzi et al., 2000; Surai, 2000**).

Príjem cholesterolu, ktorý je obsiahnutý vo vaječnom žltku je spájaný so zvyšovaním hladiny sérového cholesterolu a rizikom vzniku kardiovaskulárnych ochorení, aj keď viaceré štúdie dokladujú, že nie priamo cholesterol je zodpovedný za vznik aterosklerózy, ale jeho oxidačné formy (**Trziszka, 2000; Simčíč et al., 2009**).

Cholesterol a jeho estery sa nachádzajú len vo vaječnom žltku, kde formujú emulziu lipoproteínov s nízkou hustotou (LDL), lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou (VLDL) a lipoproteínov s vysokou hustotou (HDL). HDL tvoria asi 8 % dehydrovaného žltka. Tieto lipoproteíny známe ako vitellogeníny majú podobné vlastnosti a kvalitu ako sérové lipoproteíny cicavcov. Syntetizujú sa v pečeni a vylučujú sa do krvi odkiaľ sú vychytávané cieľovými bunkami (oocytmi) (**Vorlová et al. 2001**). Priemerný obsah cholesterolu v jednom vajíci je 213 mg (**Vorlová et al. 2001**). Obsah cholesterolu vo vajciach môže byť ovplyvnený genetickými faktormi, výživou, intenzitou znášky a vekom nosíc (**Vorlová et al. 2001**).

Selén je súčasťou mnohých selenoproteínov, medzi najvýznamnejšie sa zahŕňa glutathion peroxidáza, ktorej hlavná funkcia spočíva v antioxidantnej ochrane buniek (**Arthur, 1997; Allan et al. 1999**). Vajcia, obohatované na princípe prirodzenej transformácie zložiek z krmiva cez nosnicu do vajec, sú dobre akceptované spotrebiteľom (**Trziszka et al. 2005**). Prvý dôkaz, že selén môže byť aj esenciálnym prvkom zahŕňa objavenie, že pôsobí preventívne proti nekroze pečene potkanov (**Schwartz a Foltz, 1957**) a exudatívnej diatéze kurčiat (**Patterson et al., 1957**). V priebehu ďalších rokov sa ukázalo, že selén je súčasťou dôležitých enzymatických systémov a jeho nízka hladina v organizme môže prispieť k vzniku niektorých závažných ochorení u zvierat a aj u ľudí (**Van Vleet, 1980**). Selén je potrebný aj pre bunkovú aj pre humorálnu imunitu. Jeho deficit spôsobuje pokles imunologických funkcií, ktorý je spojený s poklesom IgG a IgM protilátok. Selén zvyšuje aj aktivitu NK-buniek (**Hoffman a McConnell, 1987**). Jeho nedostatok je spojený aj s reprodukčnými problémami (štrukturálne abnormality spermií, zníženie motility). Selén teda zvyšuje plodnosť, znižuje riziko výskytu kardiovaskulárnych ochorení, rakoviny a pomáha regulovať mediátory zápalu pri astme (**Brown a Arthur, 2001**).

Významná je schopnosť organického selénu (selenometionínu), ktorý sa nevyužil na syntézu selenoproteínov, zabudovať sa do bielkovín svalov, pečene, erytrocytov a podobne. Nahrádza tu metionín. Tým sa vytvára metabolická rezerva selénu pre budúce stresy, ochorenia a tiež pre prenos selénu cez selenometionín na mláďatá v reprodukčnom období (**Jacques, 2001**). Naproti tomu seleničitan ako anorganická forma, ktorý nebol spotrebovaný pri syntéze selenoproteínov sa nedokáže zabudovať do depotných bielkovín. Prebytok anorganického selénu sa rýchlo vylučuje močom (**Boltžárová et al. 2001**). Je dokázaný aj jeho synergický účinok s vitamínom E (**Surai, 2002b**). Selén sa do kŕmnej dávky pridáva buď vo forme

anorganickej alebo organickej. Selén ako antioxidant zhoršuje kvalitu vajec a **Wakebe (1999)** poukázal na skutočnosť, že prídavok organického selénu do kŕmnej dávky nosíc mal vplyv na výrazný pokles Haughových jednotiek skladovaných vajec.

Vitamín E je spoločný názov pre skupinu látok, pozostávajúcich zo zmesi 8 derivátov. Obsahuje α , β , γ , δ -tokoferol a α , β , γ , δ -tokotrienol (**Ďuráčková, 1998; Weber a Antipatis, 2001**). Vitamín E ovplyvňuje v živočíšnom tele rozličné tkanivá a vykazuje antioxidantnú aktivitu v rôznych metabolických systémoch (**Smith et al., 1996**).

Prítomnosť vitamínu E v organizme nosíc je dôležitá pre udržanie optimálneho zdravotného stavu. Jeho hladina v krvi je dôležitým ukazovateľom zvlášť z aspektu prevencie chorôb (exudatívna diatéza, edémová choroba, malabsorpčný syndróm, nekrotická dermatitída) ako aj včasného zákroku, blokujúceho objavenie sa klinických príznakov porúch metabolického komplexu a tým vlastne porúch zdravia (**Kušev et al., 2000**). Ukladá sa do bunkových a vnútrobunkových membrán a zabezpečuje tu ochranu proti peroxidáciám fosfolipidov (**Weber a Antipatis, 2001**). Prebytočný (neresorbovaný) vitamín E sa vylučuje fekáliami. Z tkanív je najvyšší obsah vitamínu E v tukovom tkanive (80 – 90%), ďalej v pečeni a vo svaloch. Hlavná funkcia vitamínu E je jeho antioxidantná schopnosť, pomocou ktorej zastavuje reťazové reakcie (**Ďuráčková, 1998**). Vitamín E je rozpustný v tukoch, pevne sa usadí v bunkových membránach a v LDL lipoproteínoch. Jeho molekuly nesú hydroxylovú skupinu, z ktorej sa môže ľahko odštiepiť atóm vodíka. Tým sa ale molekula vitamínu E sama stáva voľným radikálom (**Youngson, 1995**). Takto vzniknutý tokoferolový radikál je menej reaktívny a pôsobí ako „chain-breaking“ antioxidant.

Ďalšou dôležitou látkou pre výživu hospodárskych zvierat, ale ja človeka je kyselina linolová, ktorá je nenasýtená mastná kyselina vyskytujúca sa vo zvýšenej miere predovšetkým u prežúvavcov. Kyselina linolová patrí medzi omega-6 mastné kyseliny, ktoré priaznivo ovplyvňujú hladinu cholesterolu v krvi a tým priaznivo pôsobia na znižovanie výskytu srdcovo-cievnych ochorení. Kyselina linolová vplýva hlavne na tukový metabolizmus a redukuje tvorbu podkožného a abdominálneho tuku, čím sa zvyšuje rast svalovej hmoty.

Cieľom nášho experimentu bolo zistiť vplyv prídavku vitamínu E, selénu a kyseliny linolovej prídavaných do kŕmnej zmesi HYD-010 NORM TYP v rôznych dávkach na základné parametre vajca, t.j. hmotnosť vajca a žltka. Zároveň sme zisťovali vplyv aplikovaných biologicky aktívnych látok do kŕmnej zmesi aj na obsah cholesterolu vo vaječnom žltku u nosivého hybridu sliepok Isa Brown.

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme ako materiál použili vajcia nosivého hybridu sliepok Isa Brown. Pokus bol rozdelený do troch pokusných a kontrolnej skupiny. Nosnice počas odchovu boli kŕmené štandardne vyrábanou kompletnou kŕmnu zmesou pre úžitkové nosnice HYD-010 NORM TYP v sypekovej forme systémom *ad libitum*. Kontrolná skupina bola bez prídavku biologicky aktívnych látok a v pokusných skupinách sme pridávali biologicky aktívne látky nasledovne :

1. pokusná skupina - organický selén (prípravok Sel-Plex, Alltech) v množstve 0,3 mg · kg⁻¹ kŕmnej zmesi,
2. pokusná skupina – vitamín E (α-tokoferol) (IVAX, Farmacia, Česká republika) , prípravok Combinal E v množstve 20 mg.kg⁻¹ kŕmnej zmesi,
3. pokusná skupina – kyselina linolová (Sigma Aldrich) v množstve 40 g.kg⁻¹ kŕmnej zmesi.

Tabuľka 2 Hmotnosť vajec (g), hmotnosť žĺtka (g) a obsah cholesterolu (mg · g⁻¹ žĺtka) nosivého hybridu Isa Brown

Skupina	Ukazovateľ	Hmotnosť vajca	Hmotnosť žĺtka	Obsah cholesterolu
K	\bar{x}	64,29	17,18	17,73
	s	3,60	0,81	2,07
	s _x	0,51	0,12	0,29
	v(%)	5,60	4,73	11,70
P1	\bar{x}	62,00	17,14	18,23
	s	4,73	0,88	1,99
	s _x	0,67	0,12	0,28
	v(%)	7,62	5,14	10,89
P2	\bar{x}	62,33	16,86	18,52
	s	5,62	1,51	1,30
	s _x	0,79	0,79	0,18
	v(%)	7,02	8,97	7,02
P3	\bar{x}	64,66	17,33	17,12
	s	3,13	1,95	0,61
	s _x	0,44	0,28	0,09
	v(%)	4,85	11,25	3,56
F test		+	-	+
t-test		K:P1 ⁺⁺ ; K:P2 ⁺ ; P1:P3 ⁺⁺ ; P2:P3 ⁺		K:P2 ⁺ ; P1:P3 ⁺⁺⁺ ; P2:P3 ⁺⁺⁺

Poznámka: n = 10; P<0,05⁺, P<0,01⁺⁺, P<0,001⁺⁺⁺

V experimente sme sledovali hmotnosť vajca a hmotnosť žĺtka pomocou analytických váh typu Sartorius s presnosťou na 0,01 g. Obsah cholesterolu vo vaječnom žĺtku sme stanovili BIO-LA testom (fi Lachema, Česká republika) pomocou cholesteroxidázy a následným spektrofotometrickým stanovením pri vlnovej dĺžke 498 nm. Obsah cholesterolu vo vaječnom žĺtku v mg · g⁻¹ žĺtka sme určili podľa vzťahu:

$$\text{Cholesterol (mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ žĺtka)} = 7,996274 \cdot \text{extinkcia vzorky} / \text{návažka (g)} / \text{extinkcia štandardu}$$

Získané výsledky nášho experimentu sme matematicky a štatisticky vyhodnotili v programe STATGRAPHICS, kde sme sledovali základné štatistické charakteristiky (x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, s_x - štandardná chyba priemeru, v% - variačný koeficient). Pre stanovenie preukaznosti rozdielov medzi sledovanými skupinami sme testovali rozdiely v jednotlivých znakoch s použitím F-testu a Studentovho t-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 2 je znázornená hmotnosť vajec, hmotnosť žĺtka a obsah cholesterolu v jednotlivých sledovaných skupinách experimentu.

Na základe dosiahnutých výsledkov sme zistili štatisticky preukazné rozdiely v hmotnosti vajec (P<0,01) medzi kontrolnou (K) (64,29 g) a prvou pokusnou skupinou (P1) (62,00 g), medzi skupinou K (P<0,05) a druhou pokusnou skupinou (P2) (62,33 g), medzi skupinou P1 (P<0,01) a treťou pokusnou skupinou (P3) (64,66 g) a medzi skupinami P2 a P3 (P<0,05). Pri vyhodnotení hmotnosti žĺtka sa medzi skupinami nezistili zásadné štatistické rozdiely (P<0,05). V obsahu cholesterolu sme štatisticky preukazné rozdiely zistili pri porovnaní skupín K (17,73 mg.g⁻¹ žĺtka) a P2 (18,52 mg.g⁻¹ žĺtka) (P<0,05), P1 (18,23 mg.g⁻¹ žĺtka) a P3 (17,12 mg.g⁻¹ žĺtka) (P<0,001) a P2 s P3 (P<0,001).

Simčič et al. (2009) zistili u rovnakého hybridu pri klieťkovej technológii chovu priemernú hmotnosť vajca 63,5 g, čo korešponduje s výsledkami nášho experimentu, kde sa dosiahli hodnoty od 62,0 g (skupina P1) až po 64,66 g (skupina P3).

Hmotnosť žĺtka podľa **Simčiča et al. (2009)** bola na úrovni 15,9 g, t.j. nižšia ako sme zistili v našom experimente vo všetkých sledovaných skupinách, pričom najvyššia (17,33 g) sa dosiahla v skupine vyživovanej s doplnkom kyseliny linolovej a najnižšia (16,86 g) v skupine s prídavkom vitamínu E.

Obsah cholesterolu v 1 g žĺtka bol podľa **Simčiča et al. (2009)** u nosivého hybridu sliepok Isa Brown 11,4 ± 0,4 mg, čo je jednoznačne nižšia hodnota

ako sme dosiahli v sledovaných skupinách nášho experimentu, kde najvyšší obsah cholesterolu 18,52 mg.g⁻¹ žĺtka bol v skupine s prídavkom vitamínu E (P2) a najnižší (17,12 mg.g⁻¹) v skupine s prídavkom kyseliny linolovej (P3). **Zemková et al. (2007)** zistili podobne ako **Simčič et al. (2009)** nižší obsah cholesterolu vo vaječnom žĺtku u nosivého hybridu Isa Brown od 11,2 mg do 16,1 mg.g⁻¹ žĺtka pri porovnaní s hodnotami nášho experimentu (17,12 mg – skupina P3 až 18,52 mg – skupina P2).

Taktiež **Basmacioglu a Ergul (2005)** zistili nižší obsah cholesterolu od 188,8 až 203,2 mg na vajce v závislosti od spôsobu chovu., čo zodpovedá 13,36 až 13,72 mg.g⁻¹ žĺtka, čo je v konečnom dôsledku opäť nižšia hodnota pri porovnaní s hodnotami dosiahnutými vo všetkých sledovaných skupinách nášho experimentu.

ZÁVER

V sledovanom experimente sme vyhodnocovali vplyv prídavku biologicky účinných látok vo forme selénu, vitamínu E a kyseliny linolovej cez kŕmnu zmes vo výžive nosivého hybridu sliepok Isa Brown na základné parametre

vajca, t.j. hmotnosť vajca, žĺtka a zároveň sme zisťovali ich vplyv aj na obsah cholesterolu vo vaječnom žĺtku.

Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme skonštatovať a odporučiť ako vhodný doplnok vo forme biologicky aktívnej látky kyselinu linolovú vo výžive nosníc, ktorá mala najpozitívnejší vplyv na dosahovanú hmotnosť vajca, ako aj žĺtka. Zároveň aplikácia kyseliny linolovej do krmnej zmesi HYD-010 NORM TYP u nosivého hybridu Isa Brown ovplyvnila pozitívne aj zníženie obsahu cholesterolu v žĺtku, čo môže byť dôležité predovšetkým pre samotného konzumenta.

Aplikácia vitamínu E, resp. selénu v našom experimente sa neosvedčila, nakoľko svojím účinkom znížila tak hmotnosť vajca ako aj žĺtka a v konečnom dôsledku negatívne zvýšila obsah nežiaduceho cholesterolu vo vaječnom obsahu.

Naše výsledky potvrdzujú skutočnosť, že je nutné aj naďalej stále preverovať a hľadať nové možné alternatívy chovu, resp. výživy hydiny, vrátane nami preverovaných sliepok nosivého hybridu Isa Brown. Taktiež je nutné sledovať a preverovať aj ich konečný produkt konzumovaný človekom, t.j. slepačie vajcia a to predovšetkým z hľadiska nutričného zloženia a technologickej kvality, čo je dôležité predovšetkým z hľadiska zaraďovania týchto produktov do potravinového reťazca človeka bez možného zvýšeného rizika rôznych ochorení.

LITERATÚRA

- ALLAN, C. B., LACOURCIERE, G. M., STADTMAN, T. C. 1999. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu. Rev. Nutr.* 1999, vol. 19, pp 1–16.
- ANONYM. 1989. United States Department of Agriculture Nutrition Information Service: Handbook No. 8, Supplement.
- ARTHUR, J. R. 1997. Selenium biochemistry and function. In Trace Elements in Man and Animals-9, Proceedings of the 9th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals. P. W. F. Fisher, M. R. L'Abbe, K. A. Cockell, and R. S. Gibson, ed. NRC Research Press, Ottawa, Canada, pp. 1-5.
- BASMACIOGLU, H., ERGÜL, M. 2005. Research on the Factors Affecting Cholesterol Content and Some Other Characteristics of Eggs in Laying Hens. The effects of genotype and rearing system. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 2005, vol. 29, pp. 157 – 164.
- BOLTIŽAROVÁ, K., FAIX, Š., LENG, E. 2001. Vplyv intravenózneho infúzie seleničitanu sodného na renálnu exkréciu selénu u oviec, In Zborník *abstraktov XIX. Dni živočíšnej fyziológie, Košice, 27. – 28. 9. 2001*, s. 64.
- BROWN, K. M., ARTHUR, J. R. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: review, *Public Health Nutr.* vol. 4, 2001, pp. 593 – 599.
- BURRINGTON, K. J. 2000. Nutritional and beneficial ingredients. *Food Product Design* 38 p.
- DAVIS, C., REEVES, R. 2002 High value opportunities from the chicken egg, *Rural Industries Research and Development Corporation*. p. 1-13.
- ĐURÁČKOVÁ, Z. 1998. Definícia, rozdelenie a biologický význam voľných radikálov a antioxidantov *Voľné radikály a antioxidanty v medicíne I. Đuráčková, Z. (Ed.)*, Bratislava: Slovak Academic Press, 1998, s. 217 – 223.
- HASLER C. M. 2000. The changing face of functional foods. *Journal of the American College of Nutrition* , vol. 19,2000, no. 5, p. 499-506.
- HOFFMAN, J. L., Mc CONNELL, K. P. 1987. Peroxidate-oxidized adenosine inhibits the formation of dimethylselenide and trimethylselenonium ion in mice treated with selenite. *Arch. Biochem. Biophys.* vol. 254, 1987, p. 534 – 540.
- JACQUES, K. A. 2001. Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. In: LYONS, T. P. – JACQUES, K. A. (Ed.): *Science and Technology in the Feed Industry, Proceeding of Alltech's 17th Annual symposium*, Nottingham: University Press, 2001, p. 319 – 348.
- KUŠEV, J., ŠÁLLY, J., KOZÁK, M., BOBÁKOVÁ, Z., PÁLENÍK, E., JANTOŠOVIČ, J. 2000. Vplyv vitamínu E na akostné zatriedenie brojlerových kurčiat. *Hygiena alimentorum XXI, Vysoké Tatry*, 2000, s. 113 – 115.
- MELUZZI, A., SIRRI, F., MANFREDA, G., TALLARICO, N. FRANCHINI, A. 2000. Effects of vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long-chain fatty acids. *Poult. Sci.* vol. 79, 2000, pp. 539–545.
- OLOYEDE, O. I., IKUELOGBON, A. O. 2004. Cholesterol content and functional properties of products fractionated from egg yolk. In *Biochemistry* vol.16 2004, no. 1, p. 43-48.
- PATTERSON, E. L., MILSTREY, R., STOKSTAD, E. R. 1957. Effect of selenium in preventing exudative diathesis in chicks. In *Poc. Soc. Exp. Biol. Med.* , vol. 95, 1957, p. 617.
- POWRIE, W. D., NAKAI, S. 1986. In: *Egg Science and Technology*. Stadelman WJ and Cotterill OJ (Eds.) MacMillan, London.
- SEUSS-BAUM, I. 2005. Nutritional evolution of egg components. *XIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products Doorwerth. Netherlands*. necrotic liver degeneration. In: *J. Amer. Chem. Soc.* vol. 79, 1957, s. 3292.
- SMITH, G. C., MORGAN, J. B., SOFOS, J. N., TATUM, J. D. 1996. Supplemental vitamin E in beef cattle diets to improve shelf-life of beef. In *Anim. Feed. Sci. Technol.*, vol. 59, 1996, p. 207 – 214
- SIMČIČ, M., STIBIJL, V., HOLCMAN, A. 2009. The cholesterol content of eggs produced by the Slovenian autochthonous Styrian breed. In *Food Chem.*, vol. 114, 2009, p. 1– 4.
- SUNGINO, H., NITODA, T., JUNEJA, L. R. 1997. General chemical composition of hen eggs. In *Hen eggs: Their basic and applied science*. Yammamoti T, Juneja LR, Hatta H and Kim M (Eds). CRC Press.
- SURAI, P. F. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. In *Br. Poult. Sci.*, vol. 41, 2000, p. 235–243.
- SURAI, P. F. 2002a. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. In *World's Poult. Sci. J.*, vol. 58, 2002, p. 333–347.
- SURAI, P. F. 2002b. Selenium in poultry nutrition. 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World's Poult. Sci. J.*, vol. 58, 2002, p. 431-450.
- TRZISZKA, T., DOBRZAŃSKI, Z., DRYMEL, W., KAŹMIERSKA, M. 2005. Egg design – new formulation by enrichment of PUFAs using natural substances. *XIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products Doorwerth, The Netherlands*, <dostupné na internete: <http://www.animalscience.com/uploads/additionalFiles/QualityOfPoultryMeat/53.pdf>>.
- TRZISZKA T. 2000. Przetwórstwo jaj, *Jajczarstwo, nauka, technologia, praktyka*. Wydawnictwo AR we Wrocławiu, s. 291-401.

Van VLEET, J. F. 1980. Current knowledge of selenium, vitamin E deficiency in domestic animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* vol. 176, 1980, p. 321 – 325.

VORLOVÁ, E., SIEGLOVÁ, E., KARPÍŠKOVÁ, R., KOPŘIVA, V. 2001. Cholesterol content in eggs during the laying period, *Acta Veterinaria, Brno*, vol. 70, 2001, p. 387–390

WAKEBE, M. 1999. Organic selenium and egg freshness. Feed for meat chickens and feed for laying hens. Japanese Patent Office, Application Heisei 8-179629. Patent 10-23864. Assignee: Fujisawa Chemical Company.

WEBER, G. M., ANTIPATIS, CH. 2001. Pork meat quality and dietary vitamin E. *Second International virtual conference on Pork Quality*, 2001.

YAROSHENKO, F. O., DVORSKA, J. E., SURAI, P. F., SPARKS, N. H. C. 2003. Selenium-enriched eggs as a source of selenium for human consumption. In *Applied*

Biotechnology, Food Science and Policy, vol. 1, 2003, p 13–23.

YOUNGSON, R. 1995. Antioxidanty – cesta ke zdraví. In *Jota*, Brno, s. 8 – 10.

ZEMKOVÁ, L., SIMEONOVÁ, J., LICHOVNÍKOVÁ, M., SOMERLÍKOVÁ, K. 2007. The effects of housing systems and age of hens on the weight and cholesterol concentration of the eggs, In *Czech J. Anim. Sci.*, vol. 52, 2007, p 110–115.

Pod'akovanie:

Práca vznikla s podporou grantu VEGA 1/4438/07.

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Juraj Čuboň, CSc., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, FBP SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: juraj.cubon@uniag.sk

OBSAH KONTAMINANTOV VO SVALOVINE A VYBRANÝCH VNÚTORNÝCH ORGÁNOCH DIVIAČEJ ZVERI V POĽOVNEJ OBLASTI JXXXIII TRÍBEČ

THE CONTAMINANT COMPARISON IN THE MUSCLE AND SELECTED VISCERA OF WILD BOAR IN THE TRÍBEČ JXXXIII GAME AREA

Milan Dobiaš, Jozef Gašparík, Jozef Bujko, Jozef Venglarčík

ABSTRACT

The aim of this experiment was to determine the extent of contamination by contaminants in the body of the wild boar and to summarize certain risks, which impact negatively on the food chain as well as human health. To be able to evaluate the risks associated with the occurrence of heavy metals, it was necessary to focus on the path of entry and the means of contamination. Study was focused on selected parameters (contamination by selected toxic elements) of wild boar venison (*Sus scrofa*). As biological material we have used following parts of the body: kidney, liver, back femoral muscle.

The biological material was obtained from a hunting area Tribeč (Topoľčianky) during the hunting period 2007 - 2008. The determination of toxic elements has been performed at the Department of Chemistry of the Slovak University of Agriculture, where samples were decomposed by microwave method, and then using AAS (atomic absorption spectrometry), level of heavy metals has been determined.

Mineralized sample was transferred into the AAS automatic feeder, from which is dosed under the program set into the AAS graphics cuvette. Here the signal induced by heavy metals is measured and evaluated using the analytical line to obtain the actual value of the heavy metal concentration in the sample. Average values of some heavy metals in study exceeded limits set by the Codex Alimentarius.

Keywords: wild boar, toxic substance, mercury, cadmium, lead

ÚVOD

Mäso je súčasťou výživy človeka najmenej dva milióny rokov. Najskôr ho získaval ako lovec, neskôr ako chovateľ zvierat. Konzumácia mäsa mu umožnila prežiť v jeho dlhodobom vývoji a neskôr, nie je tomu až tak dávno, sa stala predpokladom jeho prosperity a zdravia. Treba však zdôrazniť, že mäso ako potravinu vo výžive má svoje opodstatnenie, pravda, ak sa konzumujú kvalitné druhy a v množstve zodpovedajúcom životnému štýlu a zdravotnému stavu človeka. Niet sporu o tom, že divina je naším najvýznamnejším poľovníckym produktom. Mäso z diviny sa považuje za biologicky hodnotnejšiu potravinu ako mäso jatočných zvierat.

Podľa **Steinhausera et al. (2000)** definujú mäso ako prične pruhovanú svalovinu z tiel teplokrvných jatočných zvierat, vrátane nedeliteľných súčastí svalových partií ako sú väzivové časti svalov, povrchový a intramuskulárny tuk, cievy, miazgové uzliny, nervy, kosti a v niektorých prípadoch aj obarená koža.

Divinou sa nazývajú požívateľné časti pernatej i srstnatej úžitkovej poľovnej zveri. Získava sa lovom, ktorý je

časovo obmedzený len na určité ročné obdobie s prihliadnutím na príslušný druh, pohlavie prípadne i vekovú kategóriu.

Človek je pri zabezpečovaní svojich zdrojov výživy v mnohorakých vzťahoch so svojím prostredím. Každý faktor zavedený do produkcie potravín, ktorý má vzťah k prostrediu, pôsobí spätne na človeka pri konzumovaní potravín. Podľa **Potravinového kódexu (1996)** sa za cudzorodé látky považujú látky prídavné, technologicky pomocné látky a kontaminanty, ktoré nie sú pre určitý druh potraviny charakteristické a nie sú jej prirodzenou súčasťou.

Obsah rôznych toxických ako aj rizikových prvkov sa v potravinovom reťazci vyskytuje čoraz viac. Je dôležité sledovať vstupy týchto prvkov do životného prostredia a zároveň treba sledovať aj cielené vstupy do poľnohospodárstva, ako hlavného producenta zdrojov potravy pre človeka. Jedná sa najmä o vstupy zlepšujúce vlastnosti pôd (priemyselné i prirodzené hnojivá) a rôzne ochranné prostriedky pri pestovaní rastlín a chove zvierat (**Toman et al. 2000**). Ľudskou činnosťou v oblastiach

Tabuľka 1 Zastúpenie a identifikácia analyzovaných jedincov diviaka lesného (*Sus scrofa*)

Poradové číslo	Vek	Pohlavie	Hmotnosť	Dátum ulovenia	Miesto lovu	Číslo vzorky
1.	1	samec	15 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	4
2.	1	samec	15 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	2
3.	1	samec	15 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	10
4.	2	samica	35 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	16
5.	2	samica	50 kg	12.12.2008	Tríbeč, stanovisko	1
6.	2	samica	50 kg	12.12.2008	Tríbeč, stanovisko	2
7.	3	samica	65 kg	27.11.2008	Tríbeč, stanovisko	17
8.	3	samica	60 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	12
9.	3	samica	70 kg	12.12.2008	Tríbeč, stanovisko	3
10.	4	samica	70 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	9
11.	4	samica	70 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	3
12.	4	samec	60 kg	12.12.2008	Tríbeč, stanovisko	4
13.	5	samica	80 kg	1.11.2008	Tríbeč, stanovisko	1
14.	5	samec	142 kg	28.11.2007	Tríbeč, stanovisko	4
15.	5	samica	80 kg	12.12.2008	Tríbeč, stanovisko	5

s vysoko rozvinutým priemyslom dochádza k znečisťovaniu prostredia v spádových oblastiach rôznych elektrární, chemických závodov ako aj v okolí veľkých miest s rozvinutou dopravou. Citlivým indikátorom zaťaženia životného prostredia sú zvieratá žijúce v tomto prostredí (Rajzák, Juriš, 1999). Ak niektoré biologicky nezastupiteľné mikroelementy prekročia určitú koncentráciu, stávajú sa z nich toxické prvky (Tomáš, 2000; Vollmannová et al. 2003). Ťažké kovy predstavujú najzávažnejšiu rizikovú skupinu v životnom prostredí. Zaradujú sa medzi nedegradovateľné kontaminanty, ktoré sa môžu podľa Tóth, et al. (2005) líšiť rozdielnym zdrojom pôvodu, vlastnosťami ako aj pôsobením na živé organizmy. Massányi et al. (1999) konštatujú, že ťažké kovy obsiahnuté v potrave človek ani zvieratá nedokážu svojimi zmyslami rozoznať. Takisto nedokážu zaznamenať ani vyššie koncentrácie týchto látok, preto sa im nedokážu priamo a bezprostredne brániť. Obsah ťažkých kovov v potravinách živočíšneho pôvodu predstavuje riziko pre zdravie konzumentov. Platné limity kontaminantov boli upravené v 2. časti a 3. hlave Potravinového kódexu SR a platia od 1. apríla 2003. V súlade s Európskou legislatívou došlo k úprave viacerých limitov, najmä k ich spresneniu. Doterajšie skúsenosti s monitorovaním, najmä kadmia, olova a ortuti, poukazujú na neustálu potrebu vyšetovania väčšieho počtu vzoriek a spresňovania analytických metód.

MATERIÁL A METODIKA

V našom pokuse sme použili ako materiál diviaka lesného (*Sus scrofa*) oboch pohlaví. V zimnom období počas obdobia lovu danej zveri v období rokov 2007 - 2008 bol uskutočnený odstrel diviaka lesného (*Sus scrofa*) v počte 15 ks, pričom jednotlivé zastúpenie podľa pohlavia a veku je uvedené v tabuľke 1. v podmienkach poľovnej oblasti JXXXIII Tríbeč. Jedince boli po odstrele dovezené na stanovisko, kde boli označené a vyvrhnuté. Po vyvrhnutí sme odobrali vzorky, ktorých veľkosť sa pohybovala od 10 – 15 gramov. Odobraté vzorky sme pred stanovením toxických prvkov zmrazili a uchovávali pri mraziarskych teplotách (cca -18°C). Samotné stanovenie

obsahu toxických prvkov bolo vykonané na katedre chémie Slovenskej poľnohospodárskej univerzity, kde sa vzorky najskôr rozložili mikrovlnnou metódou a následne sa pomocou metódy AAS (Atómová absorpčná spektrofotometria) stanovil obsah ťažkých kovov. Pred samotným stanovením kontaminácie diviny vybranými toxickými prvkami sme museli vzorku najprv rozložiť mikrovlnnou metódou.

Z jednotlivých častí (oblička, pečeň, sval) sme si spravili navážku 1g, ktorá sa vložila do tuby. K navážke sme pridali 5 ml koncentrovanej kyseliny dusičnej (HNO₃) a 5 ml destilovanej vody. Takto zriedená navážka v tube sa vložila do mikrovlnnej piecky Mars Xpress V. CEM (MATTHEWS, USA), v ktorej prebiehal mikrovlnný rozklad. Po vychladení sme vzorku prefiltrovali cez filtračný papier do určitého objemu a filtrát pretiekol do 50 ml odmernej banky, do ktorého sme ešte pridali destilovanú vodu až po riziku.

Na skúšanie ťažkých kovov vo vzorkách bol použitý atómový absorpčný spektrofotometer variant AAS – 875 (VARIAN, AUSTRALIA) v spojení s grafitovou kyvetou GTA – 95 a podávačom vzoriek. Zmineralizovaná vzorka sa preniesla do automatického podávača AAS, z ktorého sa dávkovala podľa nastaveného programu do grafiovej kyvety AAS. Tu sa odmeral vzniknutý signál ťažkých kovov a tento sa vyhodnotil pomocou analytickej čiary na získanie skutočnej hodnoty koncentrácie ťažkých kovov vo vzorke.

Na výpočet sme použili štatistický program SAS 9.3.1, kde sme vypočítali základné variačno-štatistické parametre. Analyzovaný súbor a obsah ťažkých kovov (Hg, Cd, Pb, Zn, Cu, Co) sme hodnotili ako celok spolu, podľa pohlavia (samce a samice) a podľa vekových skupín (1.-2. ročné ako mladšie, 3.-5. ročné ako staršie).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základné variačno-štatistické charakteristiky jednotlivých obsahov kontaminantov (Hg, Cd, Pb, Zn, Cu, Co) vo svalovine, pečeni a obličkách u diviacej zveri oboch pohlaví spolu sú uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2 Variačno-štatistické parametre hodnotenia obsahu kontaminantov vo svalovine, pečeni a obličkách diviacej zveri [mg.kg⁻¹]

ukazovateľ	kontaminanty	n	\bar{x}	s	v (%)	min.	max.
svalovina	Hg	15	0,0090	0,0048	53,2753	0,0022	0,0191
	Cd	7	0,0495	0,0632	127,7621	0,0085	0,1870
	Pb	15	4,0233	6,9155	171,8865	0,1923	27,6405
	Zn	15	12,4865	2,3293	18,6546	9,5071	18,6042
	Cu	15	1,5040	0,4847	32,2288	1,0108	2,7562
	Co	13	0,1716	0,0972	56,6273	0,0842	0,3937
pečeň	Hg	15	0,0249	0,0116	46,5084	0,0102	0,0471
	Cd	15	0,5541	0,3252	58,6839	0,1126	1,2208
	Pb	15	1,7749	0,7844	44,1967	0,5809	3,0945
	Zn	15	39,1470	13,1144	33,5005	18,1646	61,4305
	Cu	15	4,1675	1,3230	31,7454	1,5162	6,2930
	Co	15	0,1415	0,1961	138,5258	0,0345	0,8169
obličky	Hg	15	6,8880	4,6653	67,7312	1,0887	13,9191
	Cd	14	1,1098	0,7139	64,3309	0,1923	2,7077
	Pb	15	28,0055	8,1301	29,0304	16,9665	41,4816
	Zn	15	5,6799	2,6021	45,8120	2,6830	13,0076
	Cu	15	5,6799	2,6021	45,8120	2,6830	13,0076
	Co	15	0,5358	0,1873	34,9499	0,0842	0,7875

Na základe variačno-štatistických parametrov môžeme konštatovať, že najvyššia priemerná hodnota bola zistená vo svalovine pri obsahu zinku (Zn) 12,4865 mg.kg⁻¹, kde hodnoty sa pohybovali v rozmedzí 9,5071 - 18,6042 mg.kg⁻¹ a v pečeni 39,1470 mg.kg⁻¹ pri variabilite 33,5 %. Najvyššia variabilita vo svalovine bola zistená pri obsahu olova (Pb), kde v = 171,89 % (0,1923 až 27,6405 mg.kg⁻¹) a v pečeni pri obsahu kobaltu (Co), kde v = 138,53 % (0,0345 až 0,8169 mg.kg⁻¹).

V obličkách sme zistili najvyššiu priemernú hodnotu pri obsahu olova (Pb) 28,0055 mg.kg⁻¹ pričom variabilita sa pohybovala v rozmedzí ± 8,1301 smerodajnej odchýlky. Najvyššiu variabilitu sme zistili pri obsahu ortuti (Hg), ktorá predstavovala v relatívnej hodnote 67,7% v rozmedzí 1,0887 až 13,9191 mg.kg⁻¹. Najnižší obsah z hodnotených kontaminantov u diviacej zveri obidvoch pohlaví spolu (samce a samice) bol zistený pri obsahu ortuti (Hg) 0,009 ± 0,0048 mg.kg⁻¹ vo svalovine a 0,0249 ± 0,0116 mg.kg⁻¹ v pečeni, čo korešponduje s najvyššími prípustnými hodnotami ako je uvedené v **Potravinovom kódexe (2006)** kde pre obsah jednotlivých kontaminantov ako je pre obsah olova (Pb) 1,0 mg.kg⁻¹, obsah kadmia (Cd) 0,1mg.kg⁻¹ pre svalovinu a obsah ortuti (Hg) 0,1 mg.kg⁻¹ pre vnútornosti u diviny.

V tabuľke 3 uvádzame priemerné hodnoty obsahu kontaminantov vo svalovine, pečeni a obličkách u diviacej zveri podľa pohlavia. Na základe výsledkov sme zistili, že vo svalovine bol najvyšší obsah zinku (Zn) u obidvoch pohlaví u samcov (♂) 12,9447 ± 3,4111mg.kg⁻¹ a u samíc (♀) 12,2574 ± 1,7589 mg.kg⁻¹, pričom riziko škodlivých účinkov nadmerného obsahu zinku je malé ako uvádzajú rôzni autori. Najvyššia variabilita výskytu hodnotených kontaminantov vo svalovine bola pri obsahu olova (Pb), kde sme zistili u samcov (♂) v = 165,2 % (1,53 až 27,641 mg.kg⁻¹) a u samíc (♀) v = 109,6 % (0,1923 až 9,2715 mg.kg⁻¹).

Pri hodnotení obsahu kontaminantov v pečeni sme zistili podobne ako vo svalovine najvyšší obsah zinku (Zn) u obidvoch pohlaví u samcov (♂) 51,5806 ± 11,8030 a u samíc (♀) 32,9302 ± 8,7631. Najvyššia variabilita výskytu hodnotených ťažkých kovov v pečeni bola zistená u samcov (♂) pri obsahu kadmia (Cd), kde sme zistili v = 55,32 % (0,1126 až 0,4791 mg.kg⁻¹) a u samíc (♀) pri obsahu olova (Pb) v = 51,34 % (0,5809 až 3,0945 mg.kg⁻¹). Podobnú tendenciu ako predchádzajúce hodnotenia obsahu kontaminantov sme zistili aj v obličkách. Najvyšší obsah kontaminantov u obidvoch pohlaví sme zistili pri obsahu zinku (Zn), u samcov (♂) 21,4676 mg.kg⁻¹ pri variabilite 14,9661% a u samíc (♀) v = 31,27 % pri variabilite v = 25,3 %. Najvyššiu variabilitu výskytu hodnotených kontaminantov v obličkách sme zistili u samcov (♂) pri obsahu olova (Pb) v = 62,5768 % (0,34 - 1,97mg.kg⁻¹) a u samíc (♀) pri obsahu ortuti (Hg) v = 124,1 % (0,0495 - 0,8169 mg.kg⁻¹).

Hodnotenie obsahu ťažkých kovov v svalovine, pečeni a obličkách u diviacej zveri podľa vekových skupín 1. veková skupina - mladšie jedince (1.-2. ročné) a 2. veková skupina - staršie jedince (3.-5. ročné) sú uvedené v tabuľke 4. Podľa našich výsledkov pri hodnotení obsahu ťažkých kovov sme zistili vo svalovine najvyšší pri obsahu zinku (Zn) u mladších jedincov 13,1274 mg.kg⁻¹ v rozmedzí 9,77 - 18,6 mg.kg⁻¹ a u starších jedincov 12,0593 mg.kg⁻¹ v rozmedzí 9,51 - 13,99 mg.kg⁻¹. Podobná tendencia bola zistená aj pri obsahu zinku (Zn) v pečeni a v obličkách, pričom hodnoty boli vyššie u mladších jedincov v pečeni (39,5363 ± 11,3803 mg.kg⁻¹), v obličkách (31,3041 ± 8,6548 mg.kg⁻¹) a u starších jedincov v pečeni (38,8874 ± 14,8272 mg.kg⁻¹), v obličkách (25,8064 ± 7,4334 mg.kg⁻¹). Najvyššia variabilita výskytu hodnotených kontaminantov vo vekových skupinách bola zistená vo svalovine pri obsahu olova (Pb) u mladších jedincov v = 153,34 % a u starších jedincov v = 123,9 %. Naproti tomu najvyššia variabilita

Tabuľka 3 Variačno-štatistické parametre hodnotenia obsahu kontaminantov vo svalovine, pečeni a obličkách diviacej zveri podľa pohlavia [mg.kg⁻¹]

ukazovateľ	pohlavie	kontaminanty	n	\bar{x}	s	v (%)	min.	max.
svalovina	♂	Hg	5	0,0102	0,0063	61,3291	0,0022	0,0191
		Cd	3	0,0774	0,0960	124,0908	0,0085	0,1870
		Pb	5	6,9926	11,5518	165,1995	1,5300	27,6405
		Zn	5	12,9447	3,4111	26,3510	9,5071	18,6042
		Cu	5	1,7221	0,6176	35,8609	1,2201	2,7562
		Co	4	0,2363	0,1318	55,7739	0,0939	0,3937
	♀	Hg	10	0,0084	0,0041	49,2342	0,0038	0,0151
		Cd	4	0,0285	0,0219	76,6038	0,0096	0,0476
		Pb	10	2,5386	2,7817	109,5730	0,1923	9,2715
		Zn	10	12,2574	1,7589	14,3496	9,5727	14,5939
		Cu	10	1,3949	0,3954	28,3436	1,0108	2,1760
		Co	9	0,1429	0,0681	47,6514	0,0842	0,2838
pečeň	♂	Hg	5	0,0217	0,0103	47,4536	0,0129	0,0395
		Cd	5	0,2730	0,1510	55,3181	0,1126	0,4791
		Pb	5	1,7138	0,4624	26,9785	1,1900	2,1939
		Zn	5	51,5806	11,8030	22,8827	36,1256	61,4305
		Cu	5	3,6440	1,1581	31,7813	2,4133	5,0202
		Co	3	0,1120	0,0297	26,5289	0,0939	0,1463
	♀	Hg	10	0,0265	0,0124	46,7215	0,0102	0,0471
		Cd	10	0,6946	0,2975	42,8230	0,2862	1,2208
		Pb	10	1,8054	0,9269	51,3388	0,5809	3,0945
		Zn	10	32,9302	8,7631	26,6111	18,1646	44,7833
		Cu	10	4,4292	1,3777	31,1058	1,5162	6,2930
		Co	7	0,2000	0,1105	55,2375	0,0842	0,3947
obličky	♂	Hg	5	0,0532	0,0198	37,2052	0,0345	0,0776
		Cd	5	1,7151	0,5390	31,4249	1,0887	2,2327
		Pb	5	0,9737	0,6093	62,5768	0,3400	1,9687
		Zn	5	21,4676	3,2129	14,9661	16,9665	24,4119
		Cu	5	4,5967	1,9194	41,7552	2,6830	7,3948
		Co	5	0,6594	0,1082	16,4095	0,5631	0,7875
	♀	Hg	10	0,1857	0,2305	124,1001	0,0495	0,8169
		Cd	10	9,4744	3,3806	35,6815	4,6084	13,9191
		Pb	9	1,1853	0,7903	66,6748	0,1923	2,7077
		Zn	10	31,2744	7,9128	25,3012	19,0161	41,4816
		Cu	10	6,2214	2,8138	45,2270	2,8382	13,0076
		Co	10	0,4740	0,1914	40,3696	0,0842	0,6777

bola zistená v pečeni v=65,08 % aj obličkách v= 84,17 % pri obsahu kadmia (Cd) u mladších jedincov, v pečeni v=59,63 % pri obsahu kobaltu (Co) a obličkách v=61,76 % pri obsahu olova (Pb) u starších jedincov.

Naše výsledky sú podobné s hodnotami, ktoré sú uvedené v **Potravinovom kódexe (1996, 2006)** a ako uvádzajú **Rajzák, Juriš, (1999), Toman et al. (2000), Tomáš, (2000), Vollmannová et al. (2003)**.

ZÁVER

Na základe výsledkov môžeme konštatovať, že najvyššia priemerná hodnota za celý hodnotený súbor bola zistená vo svalovine, v pečeni pri obsahu zinku (Zn) a v obličkách pri obsahu olova (Pb). Pri hodnotení obsahu kontaminantov vo svalovine, pečeni a obličkách u diviacej

zveri podľa pohlavia sme zistili, že vo svalovine, v pečeni a v obličkách bol najvyšší obsah zinku (Zn) u oboch pohlaví. Podľa vekových skupín vo svalovine sme zistili najvyššie zastúpenie pri obsahu zinku (Zn). Podobná tendencia bola aj v pečeni a v obličkách, pričom tam boli zistené vyššie priemerné hodnoty oproti obsahu ako bolo zistené vo svalovine.

LITERATÚRA

- MASSÁNYI, P., TOMAN, R., UHRÍN, V. 1999. Distribution of cadmium in selected organs of rabbits after an acute and chronic administration. In: *Ital. J. Food Sci.*, 1999, no. 3, p. 311-316.
- TOMAN, R., MASSÁNYI, P., DUCSAY, L., GOLIAN, J. 2000. Ťažké kovy v krmovinách a potravinách. In: Rizikové

Tabuľka 4 Variačno-štatistické parametre hodnotenia obsahu kontaminantov vo svalovine, pečeni a obličkách diviacej zveri podľa vekových skupín [mg.kg⁻¹]

ukazovateľ	vekové skupiny	kontaminanty	n	\bar{x}	s	v (%)	min.	max.
svalovina	1	Hg	6	0,0130	0,0037	28,7352	0,0086	0,0191
		Cd	3	0,0810	0,0938	115,8045	0,0085	0,1870
		Pb	6	6,7490	10,3486	153,3358	1,1897	27,6405
		Zn	6	13,1274	3,1685	24,1367	9,7669	18,6042
		Cu	6	1,5571	0,6554	42,0899	1,0108	2,7562
	2	Co	6	0,1662	0,1172	70,4950	0,0842	0,3937
		Hg	9	0,0064	0,0034	54,2033	0,0022	0,0131
		Cd	4	0,0258	0,0192	74,4168	0,0096	0,0473
		Pb	9	2,2062	2,7335	123,9032	0,1923	9,2715
		Zn	9	12,0593	1,6452	13,6429	9,5071	13,9904
pečeň	1	Cu	9	1,4686	0,3731	25,4038	1,0574	2,1760
		Co	7	0,1763	0,0860	48,7887	0,0891	0,2875
		Hg	6	0,0245	0,0097	39,7160	0,0116	0,0395
		Cd	6	0,3660	0,2382	65,0765	0,1126	0,7773
		Pb	6	2,0175	0,7453	36,9440	1,1900	3,0945
	2	Zn	6	39,5363	11,3803	28,7844	22,7426	57,5436
		Cu	6	3,9920	1,3788	34,5382	1,5162	5,1252
		Co	4	0,1325	0,0523	39,4862	0,0842	0,1934
		Hg	9	0,0252	0,0132	52,6046	0,0102	0,0471
		Cd	9	0,6794	0,3246	47,7703	0,2560	1,2208
obličky	1	Pb	9	1,6131	0,8100	50,2113	0,5809	2,9606
		Zn	9	38,8874	14,8272	38,1284	18,1646	61,4305
		Cu	9	4,2845	1,3551	31,6290	2,4133	6,2930
		Co	6	0,2010	0,1199	59,6280	0,0891	0,3947
		Hg	6	0,1180	0,0896	75,8659	0,0345	0,2294
	2	Cd	6	5,8665	4,9378	84,1691	1,0887	10,9058
		Pb	6	1,3064	0,8657	66,2682	0,3400	2,7077
		Zn	6	31,3041	8,6548	27,6474	22,9000	41,4816
		Cu	6	7,2189	3,0024	41,5902	4,7249	13,0076
		Co	6	0,5143	0,2342	45,5401	0,0842	0,7875
2	Hg	9	0,1572	0,2482	157,8410	0,0495	0,8169	
	Cd	9	7,5690	4,6418	61,3265	2,1866	13,9191	
	Pb	8	0,9623	0,5944	61,7634	0,1923	2,1711	
	Zn	9	25,8064	7,4334	28,8045	16,9665	38,8993	
	Cu	9	4,6538	1,8039	38,7610	2,6830	8,1157	
		Co	9	0,5502	0,1628	29,5933	0,1918	0,7666

faktory potravinového reťazca človeka. Vedecká monografia. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 2000. s. 23 - 36, ISBN 80-7137-796-1.

POTRAVINOVÝ KÓDEX. 1996, 2006. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 15. marca 2004 č. 608/3/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty v potravinách. Príloha č. 2 k desiatej hlave druhej časti potravinového kódexu. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 11. septembra 2006 č. 18558/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty

v potravinách. Najvyššie prípustné množstvo kontaminantov v potravinách platné v Slovenskej republike.

RAJZÁK, P., JURIŠ, P. 1999. Výskyt cudzorodých látok vo vzorkách poľovnej zveri a rýb v Košickom kraji za roky 1995-1998. In: Hygiena alimentorum XX: Vývoj a perspektívy v hygiene a technológii potravín, Košice: ŠVS, 1999, s. 206-209, ISBN 80-7148-036-3.

STEINHAUSER, L. 2000. Produkce masa. Brno: Last, 2000, s. 464. ISBN 80-900260-7-9.

TOMÁŠ, J. 2000. Stopové prvky v životnom prostredí. In: Cudzorodé látky v životnom prostredí: Zborník referátov z III. medzinárodnej konferencie, Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 2000. s. 10-18, ISBN 80-7137-745-7.

TÓTH, T., POSPÍŠIL, L., PARILÁKOVÁ, K., MUSILOVÁ, J., BYSTRICKÁ, J. 2005. Distribúcia ťažkých kovov v pôdach aplikáciou substrátu po výrobe biokalu. In: *ChemZi*, 2005, č. 1, s. 108-109.

VOLLMANNOVÁ, A., TÓTH, T., TOMÁŠ, J., JOMOVÁ, K. 2003. The affection of intake of some micronutrients by grain of bean grown on extremely acid soil. In: *Chemické listy*, roč. 1997, 2003, č. 8, s. 801.

Pod'akovanie:

Práca bola realizovaná v rámci projektu MŠ SR VEGA 1/0074/08.

Kontaktná adresa:

Ing. Milan Dobias Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, KHMHZ, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel.: 037 6414745, E-mail: milan.dobias@uniag.sk

KVALITA MLIKA A JEHO ZLOŽENIE VO VZŤAHU K METABOLICKÝM OCHORENIAM DOJNÍC PROSTREDNÍCTVOM METABOLICKÉHO PROFILOVÉHO TESTU**THE QUALITY OF COW MILK AND ITS COMPOSITION IN RELATIONSHIP TO METABOLIC DISORDERS OF DAIRY COWS PERFORMED BY METABOLIC PROFILE TEST**

Terézia Filipejová, Jaroslav Kováčik

ABSTRACT

The aim of our study was to determine selected biochemical parameters in the blood, urine and milk of dairy cows and their evaluation in metabolic profile test. Fifteen dairy cows from selected agricultural farms were divided into three groups as follow: group I - 3-4 weeks after calving (the beginning of lactation), group II - 3-4 months after calving (the middle of lactation), and group III - 2-3 weeks before calving (the dry period). Concentrations of selected biochemical parameters in the blood (aspartate aminotransferase - AST, urea, total proteins - TP, glucose, and cholesterol), urine (calcium - Ca, phosphorus - P, urea and pH), and milk (fats, proteins, lactose, Somatic Cell Count, urea, milk freezing point) were measured. Total protein concentration in blood ($71,40 \pm 4,98 \text{ g.l}^{-1}$) was significantly lower at the beginning of lactation ($p < 0,05$) in comparison with the middle of lactation ($87,60 \pm 6,54 \text{ g.l}^{-1}$). However, concentration of AST ($1,85 \pm 0,48 \text{ } \mu\text{kat.l}^{-1}$) was significantly higher ($p < 0,01$) at the beginning of lactation than in the dry period ($1,07 \pm 0,23 \text{ } \mu\text{kat.l}^{-1}$). Concentration of cholesterol ($3,54 \pm 0,73 \text{ mmol.l}^{-1}$) in the middle of lactation was significantly higher ($p < 0,01$) than those at the beginning of lactation ($1,92 \pm 0,49 \text{ mmol.l}^{-1}$). The highest statistic significant difference ($p < 0,001$) was measured in glucose ($3,97 \pm 0,19 \text{ mmol.l}^{-1}$) in dairy cows in the middle of lactation in comparison with dairy cows at the beginning of lactation ($2,84 \pm 0,51 \text{ mmol.l}^{-1}$). Concerning indicators of urine, lower statistic significant difference ($p < 0,05$) was measured in pH in dairy cows at the beginning of lactation ($7,92 \pm 0,44 \text{ logmolc}$) and in the middle of lactation ($8,43 \pm 0,05 \text{ logmolc}$) but also at the beginning of lactation ($7,92 \pm 0,44 \text{ logmolc}$) in comparison with dry period ($8,54 \pm 0,06 \text{ logmolc}$). Based on the analysis of other biochemical indicators, another statistically difference ($p < 0,05$) was detected in milk for lactose in the dairy cows at the beginning of lactation ($4,70 \pm 0,06 \text{ g.100g}^{-1}$) in the middle of lactation ($4,95 \pm 0,14 \text{ g.100g}^{-1}$). Some other symptoms leading to sub-clinical diseases, besides worsening the technological quality of the cow milk, were found.

Keywords: milk quality, metabolic disorders, biochemical indicator, dairy cows

ÚVOD

Mlieko a mliečne výrobky majú vo výžive ľudí a zvierat, najmä rastúcich organizmov, prvoradý význam. Mlieko je jedna z biologicky najhodnotnejších potravín pre výživu človeka a ochranu zdravia. Kvalita mlieka ako suroviny je ovplyvnená celým radom faktorov, ktoré často pôsobia vo vzájomnej interakcii a vzájomne sa ovplyvňujú. Základnou požiadavkou na kvalitu je, aby mlieko ako surovina spĺňala základné hygienicko-zdravotné limity a nepredstavovala pre konzumenta zdravotné riziko, aby mlieko spĺňalo základné výživové parametre a malo nezmenené technologické vlastnosti, umožňujúce jeho spracovanie na kvalitné mliečne výrobky. Z toho vyplýva, že kvalita mlieka ako suroviny je veľmi široký pojem, ktorý v sebe zahŕňa súbor výživových, zdravotných, zoohygienických, technologických, ekonomických a estetických požiadaviek (Foltýs a Mojto, 2000).

Zdravotné problémy, ktoré sa u dojnic vyskytujú a súvisia s mliečnou produkciou, patria medzi tzv. produkčné choroby, ktoré sú dôsledkom nerovnováhy príjmu a výdaja živín potrebných k zabezpečeniu produkcie a reprodukcie.

Produkčné choroby majú veľmi často subklinický priebeh, prebiehajú veľmi dlhú dobu a keď sú diagnostikované na základe klinických príznakov, je organizmus veľmi často výrazne poškodený. Významným etiologickým faktorom produkčných chorôb sú nedostatky vo výžive (Salagová et al. 2001; Matejíček, 2003). Ordway et al. (2002) uvádzajú, že zvýšené kŕmenie fermentovateľných sacharidov v období pred otelením môže zvýšiť dojivosť a znížiť metabolické poruchy zvýšením energetického príjmu. Negatívna energetická bilancia vyvoláva mnoho orgánových ochorení, čo vedie k razantnému zníženiu produkcie mlieka o 40–60 % i k významným zmenám v jeho zložení. Výrazne klesá obsah mliečného proteínu a čiastočne i obsah laktózy, vyvíja sa tzv. syndróm zníženej beztukovej sušiny mlieka, na prechodnú dobu stúpa obsah mliečného tuku, ktorý potom s postupom času zase klesá. Zvyšuje sa koncentrácia močoviny a počet somatických buniek v mlieku (Matejíček, 2006).

Výskyt metabolických porúch a infekčných ochorení počas začiatku laktácie je vyšší ako v ďalších periódach a tieto poruchy majú negatívny účinok na mliečnu produkciu

(Fourichon et al. 1999). Dochádza k poruche homeostázy, k zníženej mliečnej úžitkovosti, zhoršeniu parametrov mlieka, k poruchám plodnosti. Faktory, ktoré ovplyvňujú zloženie mlieka vrátane chovu sú genetického významu, ale vplýva aj číslo laktácie, štádium laktácie a tepelný stres (Hutjens, 2006). Rôznymi vplyvmi a účinkami na zloženie mlieka, dojivosť a dôležitosť možných zmien v procese technológie aj výberom indikátorov na produkčné choroby sa zaoberali Janů et al. (2007).

Pre zisťovanie subklinických foriem produkčných chorôb dojníc je vypracovaný systém preventívnej diagnostiky, tzv. metabolický profilový test (Matejíček, 2003), ktorý je založený na analytickom stanovení koncentrácie diagnosticky významných metabolitov telových tekutín (krv, moč, mlieko) (Beseda, 1990).

Cieľom práce bolo zistiť hladiny vybraných ukazovateľov vnútorného prostredia dojníc v krvnom sére, moči a v mlieku dojníc a zhodnotiť ich význam v metabolickom profilovom teste.

MATERIÁL A METODIKA

Na metabolický profilový test bolo vo vybranom poľnohospodárskom podniku vyšetrených 15 dojníc, rozdelených do 3 skupín. Skupina I.: 3-4 mesiace po otelení (stred laktácie), skupina II.: 3-4 týždne po otelení (začiatok laktácie), skupina III.: 2-3 týždne pred otelením (zasušené). Biologickým materiálom bola krv, moč a mlieko. Krv na získanie séra sme odobrali do 2 hodín po rannom kŕmení punkciou *vena jugularis* priamo do centrifugačných skúmaviek. Krvné sérum sa získalo centrifugáciou zrazenej krvi pri 3 500 otáčkach. min⁻¹ počas 30 minút. V krvi dojníc sme stanovovali nasledovné ukazovatele: aspartátaminotransferázu (AST), močovinu, celkové bielkoviny (CB), glukózu (GLU), a cholesterol (CHOL). Moč sa odoberal kateterizáciou do vzorkovníc s objemom 100 cm³, ktoré boli uložené v chlade do 5 °C. V moči sme stanovovali tieto ukazovatele: vápnik, fosfor,

močovinu a pH. Vzorky mlieka sa po odobratí vychladili na 6 °C a pri tejto teplote sa uchovávali až do stanovenia sledovaných ukazovateľov. V mlieku dojníc sme stanovovali nasledovné ukazovatele: obsah tuku, bielkovín, a laktózy: infračerveným analyzátorom Milkoscan FT 120 od firmy FOSS Electric s detektorom DID, stanovenie počtu somatických buniek - prístrojom Somacount 150 od firmy Bentley Instruments na princípe prietokovej cytometrie podľa STN EN ISO 13366-1:2008, teplota tuhnutia mlieka - termistorovým kryoskopickým prístrojom - Cryostar od firmy Funke Gerber podľa normy ISO 5764:2002 Milk – Determination of freezing point, močovina bola stanovená - fotokolorimetricky s Ehrlichovým činidlom, vlnová dĺžka 530 nm. Vzorky krvi a moču boli analyzované v biochemickom laboratóriu G-lab v Nitre, vzorky mlieka v Slovenskom centre poľnohospodárskeho výskumu v Nitre. Dosiahnuté výsledky analýz boli spracované variačno - štatistickými metódami štatistického programu Statgraphics. Vypočítaný bol minimum, maximum, aritmetický priemer, smerodajná odchýlka a variačný koeficient.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z hľadiska hodnotenia vnútorného prostredia sa za najdostupnejší a relatívne najspohľadlivejší spôsob posúdenia látkového metabolizmu považuje stanovenie adekvátnych biochemicko-fyziologických parametrov biologických tekutín (krv, moč, mlieko). Správna interpretácia biochemických ukazovateľov predstavuje objektívnu metódu hodnotenia vnútorného prostredia vo vzťahu k chovateľskému prostrediu, výžive a fyziologickému stavu na jednej strane a na strane druhej umožňuje hodnotiť vzťah a vplyv vnútorného prostredia ku kvalite živočíšnych produktov (Kováčik et al. 2004). V dôsledku pôsobenia regulačných mechanizmov má krv relatívne stále zloženie, čo podporuje priebeh biochemických a fyziologických procesov na optimálnej úrovni.

V pokuse sme hodnotili vybrané biochemické ukazovatele v krvi. Štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,05$) bol zistený pri celkových bielkovinách medzi skupinou dojníc v strede laktácie ($87,60 \pm 6,54$ g.l⁻¹) a na začiatku laktácie ($71,40 \pm 4,98$ g.l⁻¹). Podľa Brenta a Todda (2003) a Herdta (2000) normálne koncentrácie celkových bielkovín sú v rozmedzí 67 - 87 g.l⁻¹. Štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,01$) bol zistený pri AST medzi skupinou dojníc na začiatku laktácie ($1,85 \pm 0,48$ μ kat.l⁻¹) so skupinou zasušených dojníc ($1,07 \pm 0,23$ μ kat.l⁻¹). Aktivita AST je indikátorom poškodenia svaloviny a je zvýšená u dojníc, ktoré trpia syndromom ul'ahnutia (Pavlata et al., 2008). Zvýšená aktivita AST sa zaznamenáva pri akútnych hepatitídach, dystrofiách, steatóze pečeni, myokarditíde, nutričnej svalovej dystrofii,

Tabuľka 1 Koncentrácia AST, močoviny, celkových bielkovín, glukózy, cholesterolu v krvnej plazme dojníc v období začiatku laktácie, v strede laktácie a v období zasušenia

	Ukazovateľ	Minimum	Maximum	x	s	vk
ZL	AST (μ kat.l ⁻¹)	1,44	2,44	1,85**	0,48	25,74
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	2,47	6,03	3,88	1,37	35,40
	CB (g.l ⁻¹)	68,00	80,00	71,40	4,98	6,97
	GLU (mmol.l ⁻¹)	2,22	3,37	2,84	0,51	18,01
	CHOL (mmol.l ⁻¹)	1,40	2,60	1,92	0,49	25,36
SL	AST (μ kat.l ⁻¹)	0,98	1,25	1,17	0,11	9,29
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	1,97	6,47	3,61	1,69	46,75
	CB (g.l ⁻¹)	82,00	98,00	87,60*	6,54	7,47
	GLU (mmol.l ⁻¹)	3,68	4,15	3,97***	0,19	4,91
	CHOL (mmol.l ⁻¹)	2,80	4,40	3,54**	0,73	20,72
Z	AST (μ kat.l ⁻¹)	0,88	1,40	1,07	0,23	21,77
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	3,77	5,43	4,56	0,74	16,25
	CB (g.l ⁻¹)	66,00	93,00	81,20	11,48	14,13
	GLU (mmol.l ⁻¹)	3,70	4,30	3,86	0,25	6,60
	CHOL (mmol.l ⁻¹)	1,90	2,90	2,58	0,40	15,36

ZL – začiatok laktácie, SL – stred laktácie, Z – zasušené dojnice, x – aritmetický priemer, s – smerodajná odchýlka, vk – variačný koeficient, AST – aspartátaminotransferáza, CB – celkové bielkoviny, GLU – glukóza, CHOL – cholesterol, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tabuľka 2 Koncentrácia vápnika, fosforu, močoviny a pH v moči dojnic v období začiatku laktácie, v strede laktácie a v období zasušenia

	Ukazovateľ	Minimum	Maximum	x	s	vk
ZL	Ca (mmol.l ⁻¹)	0,48	3,11	1,51	1,10	73,06
	P (mmol.l ⁻¹)	0,25	0,60	0,37	0,14	37,30
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	187,00	435,00	271,00	107,17	39,55
	pH (logmolc)	7,30	8,38	7,92*	0,44	5,61
SL	Ca (mmol.l ⁻¹)	0,41	1,51	0,90	0,43	47,98
	P (mmol.l ⁻¹)	0,30	5,82	1,49	2,43	162,69
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	202,00	327,00	251,60	51,44	20,44
	pH (logmolc)	8,36	8,48	8,43	0,05	0,54
Z	Ca (mmol.l ⁻¹)	0,35	2,76	1,32	1,08	81,67
	P (mmol.l ⁻¹)	0,26	0,43	0,34	0,07	21,34
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	257,00	401,00	303,75	65,99	21,72
	pH (logmolc)	8,46	8,61	8,54	0,06	0,73

ZL – začiatok laktácie, SL – stred laktácie, x - priemer, s – smerodajná odchýlka, vk – variačný koeficient, Z – zasušené dojnice, Ca – vápnik, P – fosfor, * p < 0,05

nefróze (Kováč et al. 2001). Ďalší štatisticky preukazný rozdiel (p<0,01) bol zistený pri cholesterole medzi skupinou v strede laktácie (3,54±0,73 mmol.l⁻¹) a na začiatku laktácie (1,92±0,49 mmol.l⁻¹). Zvýšený cholesterol v laktácii spolu s intenzívnou steroidnou syntézou bol zaznamenaný vo viacerých štúdiách (Bösö et al., 2000; Pysera and Opalka, 2000). Podľa Brenta a Todda (2003) a Herdta (2000) normálne koncentrácie cholesterolu sú v rozmedzí 2,3 – 6,0 mmol.l⁻¹ a koncentrácie glukózy 2,6 – 4,9 mmol.l⁻¹.

Dôležitým ukazovateľom energetického metabolizmu je glukóza, ktorá je esenciálny metabolit pre mliečnu produkciu, nervový systém a rozvoj plodu. Je považovaná za indikátor energetického stavu v laktácii alebo neskorootelených zvierat (Carlem, 2005; Lukáč et al. 2005). Je známe, že vysokoprodukčné dojnice vyžadujú veľké množstvo glukózy hlavne na syntézu laktózy a syntézu mliečneho tuku a taktiež nervového systému (Tóth a Schmidt, 2004). Najvyšší štatisticky preukazný

rozdiel (p<0,001) bol pri glukóze medzi skupinou dojnic v strede laktácie (3,97±0,19 mmol.l⁻¹) a na začiatku laktácie (2,84±0,51 mmol.l⁻¹). Pri tvorbe mlieka sa z krvi utilizuje približne 80 % glukózy (denná spotreba glukózy u dojnice produkujúcej 25 – 30 l mlieka denne je asi 2500 g), aminokyselín a mastných kyselín (Kudrna, 1998). Intenzita tvorby mliečneho sekrétu je podmienená dokonalým zásobovaním mliečnej žľazy krvou s dostatočným obsahom živín. Na 1 liter mlieka musí pretiecť mliečnou žľazou asi 500 l krvi (Boisgard et al., 2001). Obsah glukózy, aminokyselín, mastných kyselín, minerálnych látok a vitamínov v krvi je preto stanovená úrovňou výživy, fermentačnými procesmi v

predžalúdku, úrovňou resorpcie živín, funkčným stavom pečene a neurohumorálnymi regulačnými mechanizmami (Ilek, 1994; Boisgard et al., 2001; Jelínek, 2003).

Mnohé štúdie dokazujú, že výživový kationovo-anionový rozdiel (výživová disbalancia) ovplyvňuje močové pH laktujúcich dojnic. Existuje vzťah medzi bachorovou acidózou a močovým pH (Cowles a Murphy, 2008). Chan et al. (2006) uvádzajú, že močové pH je dobrý indikátor k monitorovaniu implementácie z dietetických solí a kationovo-anionová disbalancia v krvi sa tiež zisťuje. Štatisticky preukazný rozdiel (p<0,05) bol zistený pri pH medzi skupinou dojnic na začiatku laktácie (7,92±0,44 logmolc) a v strede laktácie (8,43±0,05 logmolc) aj medzi skupinou dojnic na začiatku laktácie a zasušenými dojnicami (8,54±0,06 logmolc).

Zloženie mlieka reaguje relatívne citlivo na množstvo a kvalitu kŕmnej dávky a na zdravotný stav dojnic. Trend sledovania zloženia mlieka (mliečny profilový test) možno

Tabuľka 3 Koncentrácia obsahu tuku, bielkovín, laktózy, sušiny, PSB, močoviny, TTM v mlieku dojnic v období začiatku laktácie, v strede laktácie a v období zasušenia

	Ukazovateľ	Minimum	Maximum	x	s	vk	Limit STN 570529
ZL	Tuk (g.100g ⁻¹)	1,32	2,68	2,10	0,70	33,40	3,30
	Bielkoviny (g.100g ⁻¹)	3,64	5,01	4,22	0,71	16,79	2,80
	Laktóza (g.100g ⁻¹)	4,65	4,77	4,70*	0,06	1,37	4,60
	PSB (tis.ml ⁻¹)	17,00	450,00	170,00	242,84	142,84	400,00
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	4,19	47,04	28,22	21,89	77,59	2,50-5,00
	TTM (-m.°C)	516,00	538,00	529,00	11,53	2,18	515,00
SL	Tuk (g.100g ⁻¹)	1,33	2,37	1,58	0,45	28,34	3,30
	Bielkoviny (g.100g ⁻¹)	3,59	3,63	3,61	0,02	0,52	2,80
	Laktóza (g.100g ⁻¹)	4,74	5,09	4,95	0,14	2,86	4,60
	PSB (tis.ml ⁻¹)	2,00	4094,00	858,20	1810,26	210,94	400,00
	Močovina (mmol.l ⁻¹)	25,22	45,37	34,05	9,95	29,24	2,50-5,00
	TTM (-m.°C)	514,00	527,00	521,80	4,97	0,95	515,00

ZL – začiatok laktácie, SL – stred laktácie, x – aritmetický priemer, s – smerodajná odchýlka, vk – variačný koeficient, PSB – počet somatických buniek, TTM – teplota tuhnutia mlieka, STN – Slovenská technická norma, * p < 0,05

pozorovať v poslednom desaťročí najmä v súvislosti s diagnostikou a prevenciou produkčných chorôb (Pechová et al. 2000). Hoci sa problematikou kvality mlieka vplyvom metabolických porúch zaoberali viacerí autori (Kirchnerová et al., 2002, Kološta et al., 2002), problémom vzájomných vzťahov technologických vlastností mlieka a zloženia telových tekutín sa zaoberalo menej autorov (Pažmová, 1992; Kološta, 2004) a preto treba týmto kvalitatívnym zmenám venovať pozornosť v širšom kontexte. Vzťahy medzi zložením krmiva a zložením mlieka nie sú priame, ani jednoduché, a preto nie je možné povedať, že zvýšením jednej zložky (živiny) krmiva je možné dosiahnuť aj relatívne zvýšenie rovnakého komponentu mlieka (Michalcová, 1997). Pri metabolických poruchách súvisiacich s rovnováhou medzi príjmom a výdajom živín a metabolitov dochádza (okrem zníženej produkcie mlieka) aj k zmenám v zložení mlieka, čo vedie následne k zhoršeniu jeho technologických vlastností (Sommer a Foltýs, 2001).

Na základe analýzy ďalších biochemických ukazovateľov štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,05$) bol zistený v mlieku pri laktóze v skupine dojníc na začiatku laktácie ($4,70 \pm 0,06 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) a v strede laktácie ($4,95 \pm 0,14 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). Obsah laktózy v mlieku nepodlieha veľkým výkyvom a kŕmením je jej obsah ťažko ovplyvniteľný (Sommer, 1996). Pokles obsahu laktózy, ktorý je sprevádzaný zvýšeným obsahom somatických buniek (Kováč, 2001), sa dáva do súvislosti najmä so zápalovými procesmi mliečnej žľazy alebo s dlhodobo nevyhovujúcou výživou z dôvodu narušenia metabolizmu dojníc (Gajdúšek, 1993).

ZÁVER

V našom pokuse sme zistili najvyšší štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,001$) pri glukóze medzi skupinou dojníc v strede laktácie a na začiatku laktácie, ďalší štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,01$) bol zistený pri cholesterole medzi skupinou dojníc v strede laktácie a na začiatku laktácie a taktiež štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,01$) bol zistený pri AST medzi skupinou dojníc na začiatku laktácie so skupinou zasušených dojníc. Najnižší štatisticky preukazný rozdiel ($p < 0,05$) bol zistený pri celkových bielkovinách v krvi medzi skupinou dojníc v strede laktácie a na začiatku laktácie.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že poruchy energeticko-dusíkového metabolizmu patria medzi najčastejšie metabolické problémy dojníc ovplyvňujúce aj zloženie a technologickú kvalitu mlieka, je potrebné venovať výberu ukazovateľov a štúdiu ich vzájomných interakcií náležitú pozornosť.

LITERATÚRA

BESEDA, I. 1990. Nové aspekty štúdia metabolických porúch hovädzieho dobytká profilovými testami. Bratislava : SAV. 1990, s. 13. ISBN 80-224-0146-3.
 BÖSÖ, A. R., SAUKKO, T. M., TESFA, A. T., LINDBERG, L. A. 2000. Fat infiltration in liver and activity of lecithin: cholesterol acyltransferase in serum of dry and lactating dairy cows. In: *Research in Veterinary Science*, roč. 68, 2000, s. 169-173.
 BOISGARD, R., CHANAT, E., LAVIALLE, F., PAULOIN, A., OLLIVIER-BOUSQUET M. 2001. Roads

taken by milk proteins in mammary epithelial cells. In *Livestock Production Science*, roč.70, 2001, s. 49-61.

BRENT, H., TODD, D. 2003. Nutritional and metabolic profile testing of dairy cows. University of Guelph. AHL LabNote. 2003, č. 4, s. 1-3.

CARLEM, A. K. 2005. The energy metabolism in dairy cattle at parturition, under field conditions. Szent István University Faculty of Veterinary Science, Budapest, Herd Health and Veterinary Ethology. Diploma thesis, s. 7-8.

COWLES, K. E., MURPHY, M. R. 2008. Urine pH: Potential Diagnostic Criterion for Subacute Ruminant Acidosis (SARA) in Lactating Dairy Cows. In *Illini DairyNet Papers*, 2008, č. 7, s. 28-31.

FOLTÝS, V., MOJTO, J. 2008. Produkty hovädzieho dobytká a ich kvalita. In *Pôdohospodársky poradenský systém*. 2008. [online] Dostupné na internete : <<http://www.agroporadenstvo.sk/zv/hd/chovhd10.htm>>.

FOURICHON, C., SEEGER, H., BAREILLE, N., BEAUDEAU, F. 1999. Effects of disease on milk production in the dairy cow: A review. In *Preventive Veterinary Medicine*, 1999, č. 41, s. 1-35.

GAJDÚŠEK, S. 1993. Rozšírené hodnotenie jakosti syrového mlieka pri nákupe. In *Mlékařské listy – zpravodaj*, 1993. č.20, s.10-12.

HERDT, T. H. 2000. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profiles testing. In *Veterinary Clinical North American Food Animal Practice*, roč. 16, s. 387-403.

HUTJENS, M. F. 2006. Managing milk components. In *Illini DairyNet Papers*, 2006, č. 6, s.1-3.

CHAN, P. S., WEST, J. W., BERNARD, J. K. 2006. Effect of prepartum dietary calcium on intake and serum and urinary mineral concentrations of cows. In *Journal of Dairy Science*, roč. 89, 2006, č. 2, s. 704-713.

ILLEK, J. 1994. Effect of Metabolit on the Composition and Duality of Milk. In *Manipulation of ruminant digestion, workshop in Košice*, 1994.

JANŮ, L., HANUŠ, O., FRELICH, J., MACEK, A., ZAJÍČKOVÁ, I., GENČUROVÁ, V., JEDELSKÁ, R. 2007. Influences of Different Milk Yields of Holstein Cows on Milk Quality Indicators in the Czech Republic, In *Acta Veterinaria, Brno*, 2007, roč. 76, s. 553-561.

JELÍNEK, P. 2003. Sekrece mlieka. In *Fyziologie hospodářských zvířat. MZLU Brno*, 2003, s. 344-348

KIRCHNEROVÁ, K. 2002. Kvalitatívne a technologické vlastnosti mlieka v závislosti od intenzity výživy dojníc počas prípravy na laktáciu. In *Výživa a potraviny pre 3. tisícročie*. Nitra : SPU, 2002, č. 10 s. 403-410.

KOVÁČ, G. et al. 2001. Choroby hovädzieho dobytká. Prešov: M & M, 2001. 874 s. ISBN 80-88950-14-7.

KOVÁČIK, J., KRÁMAROVÁ, M., MASSANYI, P., FABIŠ, M., BUKOVINSKÝ, M. 2004. Močovina v biologických tekutinách dojníc a technologická kvalita mlieka. In *Rizikové faktory potravinového reťazca IV*, Nitra, 2004. s. 128-130

KOLOŠTA, M. 2002. Dynamika močoviny v krvnom sére, moči a mlieku dojníc na pastve. In *Mliekarstvo*, roč. 33, 2002, č.2, s. 39-42.

KOLOŠTA, M. 2004. Vybrané ukazovatele kvality mlieka a vnútorného prostredia dojníc na pastve. Autoreferát dizertačnej práce. Nitra : SPU, 2004. 31s.

KUDRNA, V. 1998. Produkce krmiv a výživa skotu. Agrospoj Praha, 1998, s.131-266.

LUKÁČ, N., BÁRTOS, L., MASSÁNYI, P., BREZINA, B., KRAMÁROVÁ, M., 2005. Vzťah medzi sérovými hladinami antioxidantných vitamínov a imunoglobulínov

neonatalných teliat. In VI. celoslovenský seminár z fyziológie živočíchov 2005. 2005, s. 143-149. ISBN 80-8069-526-1.

MATĚJÍČEK, M. 2003. Využití metabolických testů k hodnocení výživy u skotu In VVS VERMĚROVICE, 2003, č.3, s.2-3. [online] Dostupné na internete : <http://www.vvs.cz/vvs_info/podzim2003.pdf>

MATĚJÍČEK, M. 2006. Poruchy energetického metabolismu. In VVS VERMĚROVICE, 2006. č.1 s.4-5 [online] Dostupné na internete : <http://www.vvs.cz/vvs_info/jaro2006.pdf>

MICHALCOVÁ, A. 1997. Vplyv niektorých faktorov na teplotu tuhnutia mlieka. Doktorandská dizertačná práca. Nitra, 1997, 128 s.

ORDWAY, R. S., ISHLER, V. A., VARGA, G. A. 2002. Effects of sucrose supplementation on dry matter intake, milk yield, and blood metabolites of periparturient Holstein dairy cows. In *Journal of Dairy Science*, 2002, roč. 85, s. 879-888.

PAVLATA, L., PECHOVÁ, A., DVOŘÁK R. 2008. Diferenciální diagnostika syndromu ulehnutí u krav. In *Veterinářství*. 2008, č.58, s. 43-51. ISSN 1214-7648

PAŽMOVÁ, J. 1992. Vplyv výživy dojníc na zloženie a vlastností mlieka. Dizertačná práca. Bratislava, 1992, 178 s.

PECHOVÁ, A., ILLEK, J., PAVLATA, L. 2000. Složení mléka dojníc ve vztahu k metabolickému profilu. In Zdravotní problematika přežvýkavců. Sborník referátů. Brno, 2000, s. 57-66.

PYSERA, B., OPALKA, A. 2000. The Effect of Gestation and Lactation of Dairy Cows on Lipid and Lipoprotein Patterns and Composition in Serum During Winter and Summer Feeding. In *Journal of Animal and Feed Science*, vol. 9, 2000, p. 411-424.

SALAGOVÁ, Z., KRAMÁROVÁ, M., BUDÁČOVÁ, A. 2001. Bioaktívne lipidy v kravskom mlieku a možnosť ich ovplyvnenia: konjugovaná kyselina linolová (CLA). In *Výživa a potraviny pre tretie tisícročie*, Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2001. ISBN 80-7137-847-X. s. 174-177.

TÓTH, T., SCHMIDT, J. 2004. Effect of different chemical treatments on ruminal starch degradability of corn and wheat. In *Acta Agronomica Óváriensis*, roč. 46, č.2, s. 177-185.

SOMMER, A. 1996. Fyziologické prispôsobovanie sa dojníc na nedostatočnú energetickú a bielkovinovú výživu. In *Slovenský chov*, roč.1, 1996, č.1, s.6-7.

SOMMER, A., FOLTÝS, V. 2001. Kvalita mlieka a kyslomliečne výrobky. In Zborník prednášok zo 4. medzinárodného sympózia Kyslomliečne výrobky. Žilina: VÚM, 2001, s.50 – 53.

STN 57 0529: 1999, Surové kravské mlieko na mliekarenské ošetrovanie a spracovanie.

ISO 5764:2002 Mlieko. Stanovenie teploty tuhnutia. Termistorová kryoskopická metóda (referenčná metóda)

STN EN ISO 13366-1:2008 Mlieko. Stanovenie počtu somatických buniek. Časť 1: Mikroskopická metóda (Referenčná metóda)

Kontaktná adresa:

Ing. Terézia Filipejová, Katedra fyziológie živočíchov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel. : +421 37 6414288 e-mail: filipejova@gmail.com

HODNOTENIE KVALITY LESNÝCH A KVETOVÝCH MEDOV Z RÔZNYCH KRAJÍN PÔVODU

QUALITY EVALUATION OF FOREST AND FLORAL HONEY FROM DIFFERENT COUNTRIES

Peter Haščík, Miroslava Kačániová, Juraj Čuboň, Ján Lopata, Michal Mihok, Klára Vavrišinová, Henrieta Arpášová

ABSTRACT

In this experiment control quality of honeydew honey and blossom honey selected indicators from different countries (Slovakia, Czech Republic, Argentine) we observed. Water content of honeydew honey and blossom honey from Czech (CR) and Slovak republic (SR) correspondent with Codex Alimentarius CA SR (2006). Honeydew honey from Argentina has water content 20.33 %, it is at 0.33 % higher as CA SR permissive. Acidity titration of honeydew honey (10.7-29.00 meV.kg⁻¹) and blossom honey correspondent and was significant lower (P<0.001), than permissive CA SR. Electrical conductivity was in honeydew honey from 0.46 mS.cm⁻¹ (Argentina) to 0.72 mS.cm⁻¹ (SR) and in blossom honey was from 0.16 mS.cm⁻¹ (CR) to 0.26 mS.cm⁻¹ (SR) and value correspondent with CA SR. Method of Fiehe we determined break of Argentina honeydew honey and this honey is necessary eliminate from market. We don't determined presence of coliforms bacteria after microbiological analysis. From the point of quality without honey from Argentina we recommend use all honey samples in food chain of human.

Keywords: honey, quality, chemical, physical, microbiological indicator

ÚVOD

Pôvod včely a jej vzácneho produktu medu, nevieme ani archeologickými, ani inými vedeckými výskumami presnejšie stanoviť. Archeologické nálezy skamenelín včely medonosnej z treťohôr dokazujú, že včela žila na našej planéte už pred 15 miliónmi rokmi, teda ešte pred človekom, ktorý sa objavil až v štvrtohorách (Luptáková, 1988).

Zo staroveku sa najstaršie údaje o mede uchovali na papyruse z Luxoru, ktorý obsahoval až 900 receptov a farmaceutických návodov o jeho využití (Čižmárik, 1993) a Crane (2003) vo svojej práci poznamenal, že aj starí Rimanovia, známi svojimi vybranými jedlami pri príprave mäsa používali med.

Med je produkt tvorený včelou medonosnou (Križan, 1975), pričom jeho tvorbu popisuje Čavojský (1981) a Grimm (1983), ktorí zároveň dodávajú, že časť medu

včela spotrebuje na svoje životné funkcie a zvyšok po pridaní vylučkov zo svojej hltanovej žľazy a odparení vody na 20 – 22 % ukladá do buniek plástov. **Potravinový kódex (PK) SR (2006)** definuje med ako zrelú sladkú hmotu, ktorú včely vyrábajú z nektáru, medovice a iných sladkých štiav pozbieraných zo živých rastlinných orgánov tým, že ich obohacujú látkami vlastného tela, uskladňujú v plástoch a nechávajú dozrieť v plástoch.

Medy podľa **Dobrovodu (1986)**, **Luptákovej (1988)**, **Popoviča (2003)**, **Anonymu (2004)**, resp. **Mačičku (2008)** triedime podľa výskytu ich základných zložiek, podľa obdobia znášky, spôsobu získavania, botanického zdroja, farby, resp. technologického spracovania.

Základným materiálom pre získanie medu podľa **Silného (1987)** je nektár pochádzajúci z kvetov a medovica, pričom zloženie sacharidov závisí od botanického pôvodu nektáru, resp. od príslušných producentov medovice. **Lampeitl (1996)** považuje proces vytvárania medu za zložitý, nakoľko prebieha s ovplyvnením ako aj bez ovplyvnenia včiel.

Dôležitou vlastnosťou získavania medu je jeho zrelosť, kedy má med obsah vody znížený na 18 – 21 %. Rýchlosť dozrievania medu závisí aj od sily včelstva, počasia a suroviny, z ktorej bol med vyrobený **Diemerová (1997)**. Vyzretý med získavame z plástov vytočením, odkvapkávaním, resp. lisovaním (**Zeiler, 1985; Rejnič, 1988; Mačička, 1994**).

Kvalitu medu môžeme komplexne posúdiť až po chemickom rozboře, ktorý závisí od rôznych faktorov a môže silne kolísať (**Mayer, 1990**). Med je podľa **White et al. (1962)** zložený z vody (17,2 %), ovocného cukru (38,4 %) a glukózy (30,3 %), obsahuje aj stolový cukor (1,3 %) a iné sacharidy (12 %), minerálne látky (0,169 %) a bielkoviny (169 mg.100g⁻¹). **Rekoš (1993)** dodáva, že v mede sú prítomné všetky prvky Mendelejovej sústavy.

Kvalitu a čiastočne aj pôvod medu môžeme orientačne zhodnotiť na základe fyzikálnych vlastností, ktoré popisujú **Mayer, (1990)**, **Dupal (1995)**, **Mačička (1999)**, **Vorlová, (2002)**, **Veselý (2003)**, **Sudzina et al. (2006)** a i. Štáty Európskej únie (EÚ) doteraz vytvorili celý systém predpisov, ktoré zabezpečujú, aby sa do obchodnej siete dostali výrobky spĺňajúce prísne kritériá a preto aj cieľom nášho experimentu bolo preveriť vybrané ukazovatele kvality kvetových a lesných medov z rôznych krajín pôvodu a porovnať ich kvalitu s **PK SR (2006)**.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente sme ako materiál použili lesný med z troch krajín pôvodu (Argentína, Česká republika, Slovenská

republika) a kvetový med z dvoch krajín pôvodu a to Česká (ČR) a Slovenská republika (SR). Pre analýzu vzoriek na KHSŽP a KMi FBP, SPU Nitra sme použili z každého druhu a pôvodu medu po 5 ks medov získaných z obchodnej siete. Sledovali sme elektrickú vodivosť pomocou prístroja konduktometer, obsah sušiny, resp. vody Ábeho refraktometrom metódou Chatawayovou revidovanú Wedmorom, titračnú kyslosť na základe spotreby roztoku NaOH na neutralizáciu kyselín obsiahnutých v mede titračne a z mikrobiologických ukazovateľov obsah koliformných baktérií a celkový počet mikroorganizmov platňovou zriedňovacou metódou. Pre porušenie medu škrobom a sladovými výťažkami sme použili Fieho metódu.

Získané výsledky z nášho experimentu sme matematicky a štatisticky vyhodnotili v programe SAS, kde sme sledovali základné štatistické charakteristiky (aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, minimum, maximum, koeficient variability).

Pre stanovenie preukaznosti rozdielov medzi sledovanými medmi z rôznych krajín pôvodu, resp. pre porovnanie s hodnotami doporučenými PK SR (2006) sme použili analýzu variancií s následným Scheffeho testom ($P \leq 0,05$ až $P \leq 0,001$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V mede sa podľa **Přídala (2005)** priemerne nachádza 17,2 % vody, pričom množstvo vody závisí od druhu kvetov, z ktorých med pochádza, od sezóny a včelstva (**Kačániová et al., 2006a**). Množstvo vody ovplyvňuje kvalitu medu a za dobrý med sa považuje ten, ktorý nemá viac ako 20 % vody (**Čuboň et al., 2007; PK SR, 2006**).

Vorlová (2002) konštatuje, že celkové množstvo vody má byť maximálne 20 % a obsah sacharidov závisí od zrelosti a pôvodu medu. **Kačániová (2006b)** upozorňuje, že obsah vody v mede tiež závisí od prostredia, a že v oblastiach s vyššou atmosférickou vlhkosťou môže byť obsah vody vyšší.

Bogdanov et al. (2004) zároveň dodávajú, že voda je kvantitatívne druhým najdôležitejším komponentom medu a jej obsah je kritický hlavne pri nesprávnom skladovaní, ktoré je spojené s nežiaducou fermentáciou medu a pre správne uskladnenie odporúčajú med s obsahom vody pod 18 %. **Kačániová (2006b)**, resp. **Vorlová (2002)** konštatujú, že celkový obsah vody v mede závisí aj od mnohých environmentálnych vplyvov.

Čuboň et al. (2007) zároveň konštatujú, že priemerná hodnota obsahu sušiny v mede je na úrovni 82,30 % a hraničné hodnoty sú od 73 do 87,3 %.

Hustota medu sa môže zisťovať vážením známeho objemu medu. Index lomu (koeficient refrakcie) závisí na obsahu vody v mede. Čím je obsah vody vyšší, tým je hodnota indexu lomu nižšia. Med predstavuje prostredie s vysokou koncentráciou sacharidov (okolo 80 %) a nízkym pH (priemerne 3,5 – 4,0). Vysoká koncentrácia cukrov, nízke pH a prítomnosť inhibítorov bráni rastu mikroorganizmov, zatiaľ čo hygroskopická vlastnosť medu

Tabuľka 1 Obsah vody vo vybranom lesnom mede (%)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Lesný med (Argentína) (1)	20,33	0,61	19,80	21,00	3,00	1:2 ⁺⁺⁺
Lesný med (ČR) (2)	18,93	0,23	18,80	19,20	1,22	1:3 ⁺⁺
Lesný med (SR) (3)	18,07	0,42	17,60	18,40	2,30	2:3 ⁺⁺⁺
Norma PK SR (2006) (k)	max. 20 %					1:k ⁺⁺⁺ 2:k ⁺⁺⁺ 3:k ⁺⁺⁺

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, $P \geq 0,05^+$, $P \leq 0,05^+$, $P \leq 0,01^{++}$, $P \leq 0,001^{+++}$

umožňuje prijímať vodu, a tým vytvárať vhodné prostredie pre rast mikrobov (Bogdanov a Martin, 2002).

Výsledky obsahu vody v preverovaných lesných a kvetových medoch sú zobrazené v tabuľkách 1a 2.

Priemerný obsah vody v sledovaných medoch je v priamej závislosti na obsahu sušiny v mede. Najnižší obsah vody pri vyhodnotení lesných medov (18,07 %) a najvyšší obsah sušiny (81,93 %) sme zistili v lesnom mede zo SR a najvyšší obsah vody (20,33 %) s najnižšou sušinou (79,67 %) sme zistili v lesnom mede, ktorého pôvod bol z Argentíny.

Z hľadiska štatistického porovnania lesných medov v oblasti obsahu vody a sušiny sme nezistili preukazné

testovanými kvetovými medmi na obsah vody v porovnaní s normou, resp. porovnaním kvetových medov z rôznych krajín medzi sebou sa nezistili štatisticky významné rozdiely ($P \geq 0,05$).

Nami zistené hodnoty obsahu vody nie sú v súlade s výsledkami Malacalza et al. (2007), Ordóñez et al. (2005), resp. Finolu et al. (2007), ktorí zistili priemerný obsah vody u rôznych druhoch medov na úrovni 16,18 až 18,33 %, čo sú nižšie hodnoty ako boli zistené v nami preverovaných lesných, resp. kvetových medov z Argentíny, ČR a SR. Dôvodom vyššieho obsahu vody nami preverovaných medov, v prvom rade z ČR a SR môžu byť aj rozdielne klimatické podmienky ako v medoch preverovaných vyššie citovanými autormi.

Radikálnym problémom výsledkov nášho experimentu je skutočnosť, že argentínsky lesný med, ktorý je bežne predávaný v potravinovom reťazci pre človeka v rôznych predajniach SR nespĺňa parametre dané PK SR (2006) a nemal by sa pri týchto hodnotách dostať ani na pult pre samotného konzumenta.

Všetky druhy medov sú prirodzene kyslé a hodnota pH sa pohybuje v rozpätí medzi 3,5 a 5,5 v závislosti od prítomnosti organických kyselín, ktoré zodpovedajú za chuť medu a jeho stabilitu voči mikrobiálnemu znečisteniu (Bogdanov et al., 2004). Popek (2002) uvádza nižšie pH (3,67) stanovené u repkových medov. Sudzina (2008) zistil priemernú hodnotu pH u medov na úrovni 4,42, pričom u kvetových 4,27 a u medovicových 4,55. Podobné hodnoty zistili aj Popek (2002), Kraag et al. (2002), Fredes a Montenegro (2006). Disociované organické

kyseliny, ktoré sa v mede nachádzajú spôsobujú jeho špecifickú chuť a vôňu. Pozitívne ovplyvňujú aj tráviaci trakt a samotné trávenie človeka a v konečnom dôsledku pH medu, ktoré má mierne kyslú reakciu. White et al. (1962) v závislosti od druhu medu uvádzajú hodnotu pH od 3,4 do 6,1. V mede boli zistené rôzne organické kyseliny v množstve 0,05 až 0,30 %, ktoré zapríčínajú všeobecnú kyslosť medu, nazývanú titračnú, ktorú sme hodnotili aj v našom

experimente (tabuľka 3 a 4). Na základe dosiahnutých výsledkov v titračnej kyslosti preverovaných lesných medov sme najvyššiu kyslosť dosiahli v lesnom mede zo SR (2,90 mev.100 g⁻¹) a najnižšiu v lesnom mede z ČR (1,07 mev.100 g⁻¹). Všetky hodnoty titračnej kyslosti preverovaných lesných medov vyhovovali PK SR (2006), ktorý stanovuje maximálny obsah kyselín 5 mev.100 g⁻¹.

Z hľadiska štatistického medzi sledovanými druhmi lesných medov ako

Tabuľka 2 Obsah vody vo vybranom kvetovom mede (%)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Kvetový med (SR) (1)	19,33	0,31	19,00	19,60	1,56	1:2 ⁻
Kvetový med (ČR) (2)	19,33	0,12	19,20	19,40	0,60	1:k ⁻
Norma PK SR (2006) (k)	max. 20 %					2:k ⁻

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, $P \geq 0,05^+$, $P \leq 0,05^+$, $P \leq 0,01^{++}$, $P \leq 0,001^{+++}$

rozdiely ($P \geq 0,05$), len pri porovnávaní lesného medu z Argentíny a ČR ku kontrolnej skupine (norma) a medzi lesným medom z ČR a SR.

Hodnoty obsahu vody v lesných medoch zo SR a ČR vyhovovali PK SR (2006), ale tejto požiadavke nevyhovoval lesný med dovážaný z Argentíny, ktorého hodnota bola o 0,33 % vyššia nad povolenú hranicu 20 %.

Obsah vody v kvetovom mede zo SR ako aj z ČR bol 19,33 % a obsah sušiny na úrovni 80,37 %, čo je vyhovujúca hodnota pri porovnaní s PK SR (2006). Medzi

Tabuľka 3 Titračná kyslosť vo vybranom lesnom mede (mev.100 g⁻¹)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Lesný med (Argentína) (1)	2,23	0,39	1,80	2,55	17,39	1:2 ⁺⁺⁺
Lesný med (ČR) (2)	1,07	0,06	1,00	1,10	5,41	1:3 ⁺⁺
Lesný med (SR) (3)	2,90	0,10	2,80	3,00	3,45	2:3 ⁺⁺⁺
Norma PK SR (2006) (k)	max. 50 mev.kg ⁻¹					1:k ⁺⁺⁺
						2:k ⁺⁺⁺
						3:k ⁺⁺⁺

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, $P \geq 0,05^+$, $P \leq 0,05^+$, $P \leq 0,01^{++}$, $P \leq 0,001^{+++}$

Tabuľka 4 Titračná kyslosť vo vybranom kvetovom mede (mev.100 g⁻¹)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Kvetový med (SR) (1)	1,50	0,01	1,50	1,51	0,38	1:2 ⁻
Kvetový med (ČR) (2)	1,30	0,05	1,25	1,35	3,85	1:k ⁺⁺⁺
Norma PK SR (2006) (k)	max. 50 mev. kg ⁻¹					2:k ⁺⁺⁺

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, $P \geq 0,05^+$, $P \leq 0,05^+$, $P \leq 0,01^{++}$, $P \leq 0,001^{+++}$

Tabuľka 5 Elektrická vodivosť vo vybranom lesnom mede (mS.cm⁻¹)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Lesný med (Argentína) (1)	0,46	0,01	0,45	0,46	1,26	1:2 ⁺⁺⁺
Lesný med (ČR) (2)	0,25	0,01	0,24	0,25	2,34	1:3 ⁺⁺⁺
Lesný med (SR) (3)	0,72	0,01	0,72	0,73	0,80	2:3 ⁺⁺⁺
Norma PK SR (2006) (k)	max. 0,8 mS.cm ⁻¹					1:k ⁺⁺⁺
						2:k ⁺⁺⁺
						3:k ⁺⁺⁺

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, P_{≥0,05}⁻, P_{≤0,05}⁺, P_{≤0,01}⁺⁺, P_{≤0,001}⁺⁺⁺

aj pri porovnaní s normou, t.j. PK SR (2006) sa dosiahli štatisticky významné rozdiely (P_{≤0,01} až 0,001).

Na jednej strane z hľadiska nižších hodnôt titračnej kyslosti pri preverovaných lesných medoch môžeme skonštatovať, že tieto medy sú stabilnejšie z pohľadu nižšieho mikrobiálneho znečistenia, ale na druhej strane obsahujú pravdepodobne nižší obsah organických kyselín, ktoré sú zodpovedné za vôňu medu (Bogdanov et al., 2004).

Nižšie hodnoty titračnej kyslosti sme zistili aj u kvetových medov, kde opäť nižšia hodnota (1,30 mev.100 g⁻¹) ako v SR (1,50 mev.100 g⁻¹) sa zistila v kvetovom mede z ČR.

Tabuľka 6 Elektrická vodivosť vo vybranom kvetovom mede (mS.cm⁻¹)

Sledovaný ukazovateľ	x	s	min.	max.	v %	Štatistické porovnanie
Kvetový med (SR) (1)	0,26	0,01	0,26	0,27	2,19	1:2 ⁺⁺⁺
Kvetový med (ČR) (2)	0,16	0,01	0,15	0,17	6,25	1:k ⁺⁺⁺
Norma PK SR (2006) (k)	max. 0,8 mS.cm ⁻¹					2:k ⁺⁺⁺

Poznámka: x - aritmetický priemer, s - smerodajná odchýlka, min. - minimum, max. - maximum, v % - koeficient variability, P_{≥0,05}⁻, P_{≤0,05}⁺, P_{≤0,01}⁺⁺, P_{≤0,001}⁺⁺⁺

Štatistickým porovnaním sledovaných kvetových medov z rôznych krajín (ČR a SR) sa nezistili preukazné rozdiely (P_{≥0,05}), ale pri porovnaní s normou, t.j. PK SR (2006) sledovaných kvetových medov sa zistili štatisticky preukazné rozdiely (P_{≤0,001}), nakoľko PK SR (2006) povoľuje ich obsah v 100 g medu až na úrovni 5 mev.

Lesné ako aj preverované kvetové medy nášho experimentu môžu byť z hľadiska mikrobiálneho znečistenia stabilnejšie, nakoľko obsahujú menšie množstvá organických kyselín z hľadiska vyhodnotenej titračnej kyslosti, ale z hľadiska vône sú menej výrazné ako to vo svojej práci popisujú Bogdanov et al. (2004).

Nami preverované lesné a kvetové medy v titračnej kyslosti mali nižšie hodnoty ako zistil u rôznych typoch medu v Poľsku Dobrovoda (1986), kde boli namerané hodnoty od 3,9 po 5,9 mev.100 g⁻¹ a niektoré medy, vrátane pohánkového prekračovali u poľských medov hranicu obsahu kyselín v mede pri porovnaní s PK SR (2006) o 7 až 17 mev na 100 g medu.

Elektrická vodivosť medu závisí v prvom rade od obsahu minerálnych látok a podľa PK SR (2006) by mala byť jej úroveň maximálne 0,8 mS.cm⁻¹.

Elektrická konduktivita (vodivosť) je parametrom, ktorý sa v mede stanovuje už dlhé obdobie (Vorwohl, 1964) a v súčasnosti je najvyužívanejším parametrom kvality pre

klasifikáciu kvetových medov a nedávno sa zaradila medzi nové štandardy pre med (Codex Alimentarius, European Commission) a nahradila dovtedy používaný parameter obsah popola.

Elektrická konduktivita spolu s pH nám môžu poskytnúť informácie aj o geografickom pôvode medu (Sancho et al., 1992; Bogdanov a Martin, 2002).

Prídal (2005) popisuje normatívne hodnoty elektrickej konduktivity medu na úrovni maximálne 80 mS.m⁻¹ u kvetových medov, minimálnu hodnotu 80 mS.m⁻¹ u medovicových medov a pri zmiešaných typoch medu od 50 po 105 mS.m⁻¹.

Zistené hodnoty elektrickej vodivosti v lesných a kvetových medoch z rôznych krajín pôvodu nášho experimentu sú zobrazené v tabuľkách 5 a 6.

Vyhodnotením elektrickej vodivosti pri lesných medoch sme najvyššiu hodnotu zaznamenali v mede zo SR (0,72 mS.cm⁻¹) a najnižšiu v mede z ČR (0,25 mS.cm⁻¹).

Porovnávaním medzi sledovanými lesnými medmi a s PK SR (2006) v hodnote elektrickej vodivosti sme

zaznamenali preukazné rozdiely (P_{≤0,001}). Výsledky elektrickej vodivosti v lesnom mede zo SR nášho

experimentu sú približne na rovnakej úrovni ako zistil vo svojej práci Suzdina

(2008), ktorý zistil elektrickú vodivosť u medov v priemere 68,73 mS.m⁻¹.

Elektrická vodivosť lesného medu z Argentíny je približne rovnaké ako zistil Sudzina (2008) u kvetového medu

(44,24 mS.m⁻¹). Hodnoty lesného medu z Argentíny ako aj lesného medu z ČR

sú na nižšej úrovni, ale sú v súlade s výsledkami dosiahnutými Fredesom

a Montenegrom (2006), resp. Kraagom et al. (2002).

Nižšie hodnoty elektrickej vodivosti v lesných medoch z Argentíny a ČR naznačujú tendenciu podobne ako pri titračnej kyslosti týchto medov, že tieto medy obsahujú

nižšie množstvo organických kyselín a minerálnych látok ako med, ktorého pôvod je zo SR.

Elektrická vodivosť kvetových medov bola vyššia v mede zo SR (0,26 mS.cm⁻¹) ako v mede z ČR (0,16 mS.cm⁻¹).

Rozdiely medzi testovanými kvetovými medmi sa potvrdili aj štatisticky preukazne (P_{≤0,001}) a taktiež preukazne (P_{≤0,001}) pri porovnaní s PK SR (2006), ktorý

deklaruje maximálnu hodnotu tohto ukazovateľa až na úrovni 0,80 mS.cm⁻¹.

Hodnoty nášho experimentu v oblasti elektrickej vodivosti kvetových medov sú nižšie ako požaduje Prídal (2005),

resp. nižšie ako zistil Sudzina (2008) u kvetových medov, ale podobné s výsledkami Fredesa a Montenegra (2006),

resp. Kraaga et al. (2002).

Nižšie hodnoty elektrickej vodivosti v kvetových medoch zo SR a ČR naznačujú tendenciu podobne ako pri lesných medoch nášho experimentu, že tieto medy obsahujú

nižšie množstvo organických kyselín a minerálnych látok, čo je aj v súlade so zistenými hodnotami titračnej kyslosti týchto

medov, ktorej úroveň bola nižšia.

Tabuľka 7 Mikrobiologická kvalita vybraných druhov lesného a kvetového medu

Charakteristika medu	počet jednotlivých skupín mikroorganizmov (KTJ. g ⁻¹)	
	Koliformné baktérie	Celkový počet mikroorganizmov
Lesný med - Argentína	0,0	90,0
Lesný med – ČR	0,0	217,0
Lesný med – SR	0,0	67,0
Kvetový med - SR	0,0	56,7
Kvetový med – ČR	0,0	367,0

Dôležitou súčasťou zisťovania kvality medu je jeho možné porušenie, resp. falšovanie. Na kontrolu kvality medov skúmaných v našom experimente sme použili Fieheho metódu.

Na základe výsledkov chemických analýz môžeme skonštatovať, že všetky medy, okrem lesného medu z Argentíny vyhovovali požiadavkám na neprítomnosť škrobu, škrobového sirupu, resp. sladových výťažkov.

Nakoľko argentínsky med na základe Fieheho metódy bol označený ako porušený, tento med aj z tohto hľadiska ako aj z hľadiska obsahu vody, ktorá bola vyššia ako povolených 20 % podľa **PK SR (2006)**, by sa vôbec nemal dostať do potravinového reťazca a na základe týchto skutočností nie je vhodný na priamy konzum človekom.

Okrem vybraných fyzikálnych a chemických ukazovateľov sme sledovali v našom experimente aj požiadavky na mikrobiologickú kvalitu medu z pohľadu dodržania **PK SR (2006)**, ktorý požaduje maximálne zastúpenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) na úrovni 10³ KTJ.g⁻¹ a neprítomnosť koliformných baktérií.

Kňazovická et al. (2008) konštatujú, že ak narastie jedna a viac kolónií v oblasti koliformných baktérií, med z tohto pohľadu nevyhovuje **PK SR (2006)**. Výsledky mikrobiologickej kvality preverovaných medov sú zobrazené v tabuľke 7.

Na základe výsledkov lesných a kvetových medov nášho experimentu sme zistili, že sa v nich nenachádzali žiadne koliformné baktérie. Z hľadiska CPM sa najvyššie hodnoty (217,00 a 367,00 KTJ.g⁻¹) dosiahli v lesnom a kvetovom mede z ČR, čo je ale stále v norme pri porovnaní s odporučenými hodnotami **PK SR (2006)**.

Príjemným zistením bola skutočnosť, že najmenšia kontaminácia z hľadiska CPM bola zistená v lesnom (67,0 KTJ.g⁻¹) a kvetovom mede (56,7 KTJ.g⁻¹), ktorých pôvod bol zo SR.

Naše výsledky aj v oblasti sledovania mikrobiologickej kvality medu potvrdzujú názory **Snowdona a Clivera (1996)**, **Piana et al. (1991)**, **Petrovej et al. (2004)**, **Kačániovej et al. (2006a)**, resp. **Tchoumboeva et al. (2007)**, že tak monitoring možných kontaminovaných medov, ale predovšetkým čistota prostredia a vytáčanie len zrelého medu je základom pre jeho správnu mikrobiologickú kvalitu.

ZÁVER

V sledovanom experimente sme vyhodnocovali vybrané fyzikálno-chemické a mikrobiologické ukazovatele lesných a kvetových medov z rôznych krajín pôvodu a na základe získaných výsledkov môžeme skonštatovať, že

med je vysokoenergetická potravina, ktorú odporúčame pre častejšiu konzumáciu v potravinovom reťazci a jedálnom lístku človeka. Z hľadiska hodnotenia obsahu vody, resp. sušiny môžeme skonštatovať, že nami preverované lesné a kvetové medy z ČR a SR vyhovovali požiadavke **PK SR (2006)**, ktorý požaduje maximálny obsah vody na úrovni 20 %. Nevyhovujúci bol len lesný med, ktorého pôvod bol z Argentíny a ktorý na základe vyššieho obsahu vody, t.j. 20,33 % by mal byť vyradený z obchodného reťazca používaného v SR. Z hľadiska titračnej kyslosti sledované druhy lesných a kvetových medov nášho experimentu vyhovovali požiadavkám **PK SR (2006)**, kde je povolená maximálna hodnota

obsahu organických kyselín na úrovni 50 mev.kg⁻¹. Hodnoty elektrickej vodivosti sú v súlade s titračnou kyslosťou v sledovaných a preverovaných vzorkách medu z rôznych krajín pôvodu, kde najvyššia hodnota elektrickej vodivosti sa dosiahla podobne ako v titračnej kyslosti v lesnom mede zo SR a v tomto ukazovateli všetky nami preverované medy vyhovovali požiadavkám **PK SR (2006)**.

Výhodou zvýšenej elektrickej vodivosti v príslušnom mede je skutočnosť, že takýto med obsahuje pre samotného konzumenta vyšší obsah organických kyselín ako aj minerálnych látok, pokiaľ sú ale tieto hodnoty v súlade s **PK SR (2006)** a med nie je iným spôsobom porušený. Na základe využitia Fieheho metódy, ktorou sa sleduje možnosť porušenia medu škrobom, škrobovým sirupom, resp. sladovými výťažkami sme zistili, že lesný argentínsky med bol porušený a to znamená, že bol pravdepodobne falšovaný, čo v konečnom dôsledku znamená, že by mal byť okamžite vyradený z obchodnej siete pre konzumentov. Ostatné preverované medy nášho experimentu na základe Fieheho metódy neboli falšované. Z mikrobiologického hľadiska všetky preverované medy experimentu podľa **PK SR (2006)** vyhovovali požiadavkám na neprítomnosť koliformných baktérií ako aj na CPM. Na základe výsledkov nášho experimentu môžeme skonštatovať, že tak české ako aj slovenské lesné a kvetové medy vyhovovali požiadavkám kvality **PK SR (2006)** a je ich možné používať v obchodnom reťazci na priamu konzumáciu človekom, ale lesný argentínsky med na základe vysokého obsahu vody a pravdepodobného falšovania škrobom, škrobovým sirupom, resp. sladovými výťažkami je nutné okamžite vyradiť z priameho predaja z obchodných siete.

Naše výsledky potvrdzujú skutočnosť, že je nutné monitorovať a preverovať kvalitu medu ako aj ostatných potravín, ktoré sú súčasťou potravinového reťazca človeka na ich kvalitu a konzumentovi v obchodnom reťazci predkladať len kvalitný produkt, ktorý spĺňa všetky kritéria Európskeho spoločenstva ako aj požiadavky legislatívnych noriem schválených SR, a tým zabezpečiť tzv. zdravý produkt bez možnosti ohrozenia zdravia človeka.

LITERATÚRA

- ANONYM, 2004. Filtrieste Honig ist in Deutschland genehmigt. In *Deutsches Bienen Journal*, vol. 50. 2004, no. 2, p. 25.
- BOGDANOV, S., MARTIN, P. 2002. Honey authenticity. In *Mittel. Geb. Lebensmittel. Hyg.*, vol. 93, 2002, p. 232-254.
- BOGDANOV, S., RUOFF, K., PERSANO L. O.2004. Physico-chemical methods for the characterisation of

- unifloral honeys : a review. In *Apidologie*, vol. 35, 2004, p. 4-17.
- CRANE, E. 2003. Bee utilization and their commodity into fighting strife. In *Bee World*, vol. 48, 2003, n. 6, pp. 96-97.
- ČAVOJSKÝ, V. 1981. Včelárstvo. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1981. 122 s.
- ČÍZMÁRIK, J. 1993. Med v medicíne v dávných civilizáciách. In *Včelár*, roč. 67, 1993, č.1, s.7., ISSN 0139-6064.
- ČUBOŇ, J., HAŠČÍK, P., MICHALCOVÁ, A. 2007. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu. Nitra: SPU, 2007. s. 113, ISBN 978-80-8069-891-1.
- DIEMEROVÁ, I. 1997. Úspešné včelárenie. 1. vyd. Bratislava: Kontakt Plus, 1997. s. 34, 71, 72, 73., ISBN 80-88855-08-X.
- DOBROVODA, I. 1986. Včelie produkty a zdravie. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1986. s. 11-55., ISBN 301-04-53.
- DUPAL, L. 1995. Elektrická vodivosť a výkup medu. In *Včelárstvo*, roč. 48, 1995, č. 1, s. 6-7.
- FREDES, C., MONTENEGRO, G. 2006. Heavy metals and other trace elements contents in Chilean honey. In *Cien. Inv. Agr.*, vol. 33, 2006, p. 50-58.
- FINOLA, M. S., LASAGNO, M. C., MARIOLI, J. M. 2007. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. In *Food Chemistry*, vol. 4, 2007, p. 1649-1653.
- GRIMM, G. 1983. Ein Tropfen Nektar. 1. vyd. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 1983, pp.10-12. Lizenznummer 101-175/64/83.
- KAČÁNIOVÁ, M., PAVLIČOVÁ, S., ČUBOŇ, J., HAŠČÍK, P. 2006a. Štúdium mikrobiologickej kvality medu vo vzťahu k primárnym zdrojom znečistenia. In *Včelár*, roč. 80, 2006, č. 6, s. 86-87.
- KAČÁNIOVÁ, M. 2006b. Mikrobiologické, fyzikálno-chemické a antimikrobiálne vlastnosti medu. In: *Biologické aspekty zvyšovania kvality surovín a potravín živočíšneho pôvodu*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2006, s. 85-110., ISBN 80-8069-738-8.
- KŇAZOVICKÁ, V., KAČÁNIOVÁ, M., FIKSELOVÁ, M. et al. 2008. Microbiological quality of honey in relation to heavy metals contents. In: *Bezpečnosť a kontrola potravín : zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie, Nitra, 2.-3. apríl 2008 ; II. diel. - Nitra : SPU, 2008. s. 44-48, ISBN 978-80-552-0027-6.*
- KRAAG, B., HEDTKE, CH., BIENEFELD, K. 2002. Infrared spectroscopy in routine quality analysis of honey. In *Apidologie*, vol. 33, 2002, pp. 327-337.
- KRIŽAN, V. 1975. 1000 otázok a odpovedí zo včelárstva. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1975, s. 257, ISBN 64-013-75.
- LAMPEITL, F. 1996. Chováme včely. 1. vyd. Bratislava: Blesk, 1996, s. 146-152, ISBN 80-33351-X.
- LUPTÁKOVÁ, K. 1988. Med a jeho využitie v domácnosti. 5. vyd. Bratislava: Príroda, 1988, s. 7-23, ISBN 301-04-53.
- MAČIČKA, M. 1994. Posudzovanie medov. In *Včelár*, roč. 68, 1994, č. 6-7, s. 107.
- MAČIČKA, M. 1999. Posudzovanie medov. In *Včelár*, roč. 69, 1999, č. 7-8, s. 107.
- MAČIČKA, M. 2008. Postrehy z praxe pri hodnotení nádob na uskladnenie medu. In *Včelár*, 2008, č. 4, s. 54.
- MALACALZA, N. H., MOUTEIRA, M. C., BALDI, B., LUPANO, C. E. 2007. Characterisation of honey from different regions of the Province of Buenos Aires, Argentine. In *Journal of Apicultural Research*, vol. 46, 2007, pp. 8-14.
- MAYER, M. 1990. Med a jeho chemické vlastnosti. In *Včelár*, roč. 64, 1990, č.4, s. 77.
- ORDÓÑEZ, Y. B. M., GONZALEZ, C. E., ESCOBEDO, R. M. 2005. Physicochemical quality of honey from honeybees *Apis mellifera* produced in the State of Yucatan during different stages of the production process and blossoms. In *Téc. Pec. México*, vol.43, 2005, pp.323-334.
- PETROVÁ, J., TONKOVÁ, M., KAČÁNIOVÁ, M., KMEŤ, V. 2004. Mikrobiologická kvalita medu, In *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe*, Nitra: SPU, 2004, s.383-385, ISBN 80-8069-488-6.
- POPEK, S. 2002. A procedure to identify a honey type. In *Food Chemistry*, vol. 79, 2002, pp. 401-406.
- POPOVIČ, I. 2003. Charakteristika medovicových medov z ihličnanov. In *Včelár*, roč. 77, 2003, č. 10, s. 152 – 153.
- POTRAVINOVÝ KÓDEX V ÚPLNOM ZNENÍ – I., II. a III. ČASŤ. 2006. Aktualizované znenie. Epos: Bratislava, 2006. 736 s. ISBN 80-8057-676-9.
- PRÍDAL, A. 2005. *Včelí produkty*. Brno : MZLU, 2005, 61 s. ISBN 80-7157-711-1.
- PIANA, M. L., PODA, G., CESARONI, D., CUETTI, L., BUCCI, M. A., GOTTI, P. 1991. Research on microbial characteristics of honey samples of Udine province. In *Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment.*, vol. 20, 1991, p. 293-301.
- REJNÍČ, J., SCHUCHMAN, O. 1988. Ovocinárstvo a včelárstvo. 1. vyd. Bratislava: Príroda 1988, s. 213-215. ISBN 064-030-88.
- REKOŠ, J. 1993. Vybrané state zo včelárstva, Nitra: SPU, 1993. s. 69.
- SANCHO, M. T., MUNIATEGUI, S., HUIDOBRO, J. F., SIMAL, J. 1992. Aging of honey. In *J. Agric Food Chem.*, vol. 40, 1992, pp. 134-138.
- SILNÝ, P. 1987. Abeceda včelára. 2. vyd. Bratislava: Príroda 1987, s. 363
- SNOWDON, J. A., CLIVER, D. O. 1996. Microbiology of honey. In *J. of Food Microbiology*, vol. 31, 1996, pp. 1-26.
- SUDZINA, M., KAČÁNIOVÁ, M., SUDZINOVÁ, M., PAVLIČOVÁ, S. 2006. Biodiverzita mikroorganizmov v mede vo vzťahu k fyzikálno-chemickým faktorom. In *Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie: Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe*, Nitra : VES, 2006, s. 368-367. ISBN 80-8069-799-X.
- SUDZINA, M. 2008. Štúdium kvality medu ako možného vektora mikrobiálnej kontaminácie potravinového reťazca. Doktorandská dizertačná práca, Nitra, VES, SPU, 2008, 116 s.
- TCHOUMBOUE, J., AWAH-NDUKUM, J., FONTEH, F. A., DONGOCK, N. D., PINTA, J., MVONDO, Z. A. 2007. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from sudano-guinean zone of West Cameroon. In *African Journal of Biotechnology*, vol. 6, 2007, p. 908-913.
- VESELÝ, V. 2003. *Včelárství*. Praha: Brádza, 2003, s. 231-242, ISBN 80-209-0320-8
- VORLOVÁ, L. 2002. Med – souborná analýza. Brno: VFU, 2002, s. 7-20 ISBN 80-7305-450-7
- VORWOHL, G. 1964. Die Beziehungen zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft. In *Ann. Abeille*, vol. 7, 1964, p. 301-309.
- WHITE, J. W., SUBERS, M. H., SCHEPARTZ, A. T. 1962. The identification of inhibine the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose – oxidase system. In *Biochim. Biophys. Acta.*, roč. 73, s. 57-79
- ZEILER, C. 1985. 300 rád pre včelárov. In 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1985. s. 31, 32, 59, 60, 61, 62. ISBN 80-07-00050-X.

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Peter Haščík, PhD., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: peter.hascik@uniag.sk,

PROPOLIS A JEHO ANTIMIKROBIÁLNE ÚČINKY

PROPOLIS AND ITS ANTIMICROBIAL EFFECTS

Miroslava Kačániová, Martin Melich, Peter Haščík, Vladimíra Kňazovická, Simona Pavličová

ABSTRACT

The aim of this study was testing of antimicrobial activity of propolis samples from different locations of Slovakia to pathogenic bacteria, microscopic fungi and yeasts. The antimicrobial effect of the propolis extracts samples was tested using the agar well diffusion method. Five different strains of bacteria *Listeria monocytogenes* CCM 4699; *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960; *Staphylococcus aureus* CCM 3953; *Salmonella enterica* CCM 4420; *Escherichia coli* CCM 3988, one strain of microscopic fungi *Aspergillus flavus* and two different strains of yeasts *Candida albicans*, *Candida tropicalis* were tested. The inhibition zones varied at propolis extracts. According to analysis among the tested bacteria, *Staphylococcus aureus* CCM 3953 was the most sensitive during 24 hour of propolis ethanolic extract, and the sensitivity of the bacteria decreased in the order: *Listeria monocytogenes* CCM 4699 > *Aspergillus flavus* > *Salmonella enterica* CCM 4420 > *Candida tropicalis* > *Candida albicans* > *Escherichia coli* CCM 3988. Analysis among the tested bacteria showed that *Listeria monocytogenes* CCM 4420 was the most sensitive during 24 hours in propolis methanol extract, and the sensitivity of the bacteria decreased in the order: *Pseudomonas aeruginosa* CCM. > *Staphylococcus aureus* CCM 3953 > *Salmonella enterica* CCM 4420 etc.

Keywords: antimicrobial activity, propolis, methanol and ethanol extract, pathogens

ÚVOD

Propolis je prírodná substancija zberaná včelami z časti rastlín. Má charakteristickú arómu a rôzne sfarbenie v závislosti od zdroja a veku. Zloženie propolisu je podobné chemickému zloženiu exudátov rastlinných púčikov. Kvalitatívne zloženie chemických komponentov naznačuje, že propolis je zbieraný včelami hlavne zo stromov rodu *Betula* sp., *Pinus* sp., *Prunus* sp., *Acacia* sp (Brumfitt et al. 1990).

WHO (1997), Coura et al. (2002), Jacobs (2004), Todd (2005), Barros et al. (2001), Borges-Walmsley et al. (2002) sledovali vplyv propolisu na 7 patogénov : *Trypanosoma cruzi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* a *Paracoccidioides brasiliensis*.

Vzťah chemického zloženia propolisu z rozdielnych geografických regiónov a biologickej aktivity nám umožňuje identifikovať vzťahy nevyhnutné pre štandardizáciu kvality včelích produktov. V novom type propolisu, ktorý sa volá červený Brazílsky bolo identifikovaných 14 nových zložiek od jednoduchých fenolických látok triterpenoidov, izoflavonoidov, benzofenoly a naftochinonové epoxidy (izolované prvýkrát z prírodného zdroja). Tri z týchto hlavných komponentov vykázali výraznú antimikrobiálnu aktivitu a dva (získané ako nerozseparovateľná zmes) vykázali radikálne znížovanie aktivity 1,1 – difenyl-2-pikrylhydrazyl (Park et al. 2002). Boli zistené vysoké rozdiely v chemickom zložení propolisu medzi tropickým a miernym podnebným pásmom (Bankova et al. 2000; Marcucci et al. 1999). Park et al. (2002) potvrdil rozdiely aj v rámci Brazílskeho propolisu v závislosti od lokality. Identifikoval 12 rozdielnych typov. Najznámejším a najvyužívanejším propolisom je zelený nazývaný Alecrim.

Najľahšou cestou ako získať informácie o rastlinnom zdroji propolisu je porovnanie jeho chemického zloženia so zložením pravdepodobným rastlinným zdrojom. Botanický pôvod červeného propolisu 20 vzoriek rastlín bolo sledovaných ako možné botanické zdroje a boli porovnané s chemickými profilmi propolisu. Na základe výsledkov uviedli, že pravdepodobným rastlinným

zdrojom červeného propolisu je *Dalbergia ecastophillum* (Park et al. 2002).

Prírodný propolis je dôležitým produktom včelích úľov produkovaných včelami, ktorý získavajú a transformujú z rastlinných exudátov zmiešaním s voskovými substanciami (Serra Bonvehi, 1996). Propolis má sladkú balzamovú vôňu s variabilnou konzistenciou v závislosti od pôvodu a teploty. Farba varíruje od svetložltej do tmavohnedej. Priemerné zloženie propolisu tvoria 20 – 30 % vosky, 40-50 % živicovité a aromatické látky, 5-10 % esenciálne aromatické oleje, 4-5 % peľ a ďalšie rôzne substancie, ktoré zahŕňajú nerozpustné rezíduá 10-30 % (Brown, 1993). Jednoduchá frakcionácia je obtiažna kvôli jeho komplexnému zloženiu (Burdock, 1998). Môže byť rozdelený na frakcie rozpustné v etanole nazývané balzamy, a na frakcie v alkohole nerozpustné nazývané vosky (Montenegro et al. 2000). Tento včelí produkt (propolis) je hodnotný kvôli jeho antioxidačným, bakteriostatickým, antifungálnym a terapeutickým vlastnostiam v závislosti od fenolických a flavonoidných zložiek. Tieto zložky sú využívané v medicíne, kozmetike, veterinárnej medicíne a v potravinárskom priemysle (Maidana, 2000). Substancie identifikované v propolise sú v zásade typické zložky potravy a potravinových aditív (Burdock, 1998). Problémom je absencia kontroly pôvodu a zloženia propolisu (Maidana, 2000).

Cieľom práce bolo štúdium *in vitro* antibakteriálnej aktivity extraktov slovenského včelieho propolisu proti 8 rôznym druhom patogénov zahŕňajúcich *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* a *Candida tropicalis*.

MATERIÁL A METODIKA

Propolisové extrakty sme pripravovali z rozomletého propolisu. Navážka propolisu bola 10 g a množstvo použitého extrahovadla 80 cm³ ako etanol 96 %, metanol 99,9 %, 70 % metanol okyslený na hodnotu pH=1,5 s 1M HCl a etanol 70 % okyslený na hodnotu pH=2,0 s 1 M HCl. Extrakcia prebehla vo vodnom kúpeli pri 85 °C pod spätným chladičom po dobu 1 hodiny. Zmes po

extrakcii a ochladiení sme centrifugovali pri otáčkach 1 800 x g.

Získaný supernatant sme odparovali na rotačnej vákuovej odparke pri teplote kúpeľa 40 až 50 °C. Odparok sme rozpúšťali v 160 cm³ zmesi etylacetát:voda v pomere 1:1. Reextrakciu sme robili na trepačke po dobu 30 minút. Organickú vrstvu sme oddelili, odparili na rotačnej vákuovej odparke pri teplote kúpeľa približne 50 °C. Odparok sme rozpúšťali v 10 cm³ metanolu, alebo DMSO a testovali na antimikrobiálnu aktivitu.

Na sledovanie antibakteriálnej aktivity sme využili difúziu diskovú metódu na Mueller-Hinton agare a Sauboraudov glukózovom agare. Je založená na princípe inhibície rastu bakteriálnej kultúry extraktom difundujúcim do živného média.

Po predsušení, ktoré trvalo 30 minút, sme agarové platne inokulovali 200 µl suspenzie mikroorganizmu vo fyziologickom roztoku, ktoré sme dôkladne a rovnomerne rozotrelí po povrchu. Potom sme ukladali sterilné disky z filtračného papiera o priemere 9 mm a aplikovali 40 µl daného extraktu. Na každú Petriho misku sme ukladali aj disk so štandardom antimikrobiálnej aktivity a disk s rozpúšťadlom. Výsledky sme vyhodnocovali po 24 a 48 hodinách kultivácie.

Antimikrobiálna aktivita je vyhodnocovaná na základe veľkosti inhibičných zón okolo papierového disku s príslušným extraktom. Platňový difúzny test je len kvalitatívnym testom.

Vyhodnotenie sme robili po 24 a 48 hodinách kultivácie. Merali sme inhibičné zóny vzniknuté okolo papierových diskov v milimetroch. Ako pozitívnu kontrolu sme použili antibiotikum Chloramfenikol a sledovali sme aj antimikrobiálny účinok absolútneho metanolu. Propolisové extrakty, sme testovali na antibakteriálne účinky proti patogénnym mikroorganizmom: *Listeria monocytogenes* CCM 4699, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960, *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Salmonella enterica* CCM 4420, *Escherichia coli* CCM 3988, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* a *Candida tropicalis*.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom práce bolo štúdium *in vitro* antibakteriálnej

aktivity extraktov slovenského včelieho propolisu proti 8 rôznym druhom patogénov zahŕňajúcich *Listeria monocytogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* a *Candida tropicalis*.

Výsledky antimikrobiálnej aktivity jednotlivých baktérií a ich senzitivita je porovnateľná v obidvoch časových kultiváciach. Medzi testovanými baktériami bola baktéria *Staphylococcus aureus* najviac citlivá na etanolový extrakt propolisu a citlivosť (senzitivita) ďalších baktérií nasledovala v rade *Listeria monocytogenes* > *Salmonella enterica* > *Aspergillus flavus* > *Candida albicans* > *Candida tropicalis* > *Escherichia coli* > *Pseudomonas aeruginosa* (obr. 1).

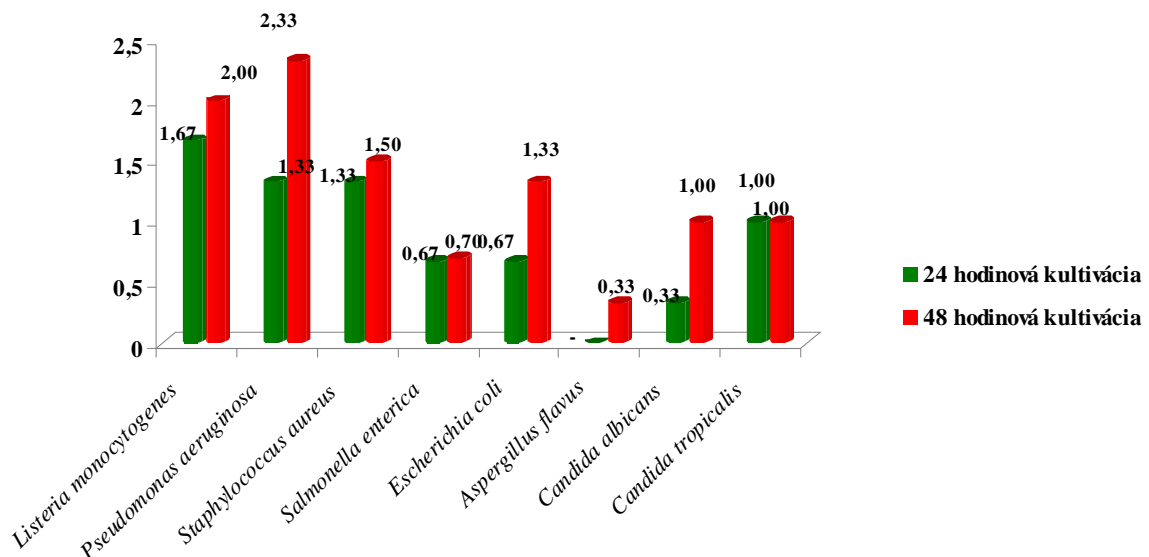
Podobne **Attalla et al. (2007)** testovali citlivosť baktérie na etanolovom extrakte propolisu (EEP) a petrolejovom extrakte (PEP). Zistili, že aktivita etanolového extraktu bola oveľa viac efektívnejšia proti baktérii *Listeria monocytogenes*, ako Gram pozitívnych baktérií *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a negatívnych baktérií *Escherichia coli* a *Salmonella enteritidis*. Testovali tri vzorky propolisu získaného od slovinských, talianskych a kaukazských včiel.

Týmto zistením neboli potvrdené výsledky **Cheng a Wong (1996)**, ktorí uvádzajú, že aktivita kaukazského propolisu je väčšia ako propolisov iného pôvodu. **Sforcin et al. (2000)** zistili, že EEP bola efektívnejšia proti Gram pozitívnym baktériám (hlavne *Listeria monocytogenes*) a vo vyššej koncentrácii.

Zhodne **Muli et al. (2008)** testovali antimikrobiálnu aktivitu kenského propolisu z pobrežia Indického oceánu. EEP tvoril 70 % etanol. Ich výskum zistil vysoký inhibičný efekt na Gram pozitívne baktérie, hlavne proti *Pseudomonas aeruginosa*. Štatisticky porovnateľnú aktivitu zistili aj proti iným sledovaným baktériám *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*.

Kumar et al. (2008) obdobne testovali antimikrobiálnu aktivitu kenského propolisu z územia ako **Muli et al. (2008)**, ale v 5 propolisových extraktoch proti baktériám *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* a

Obrázok 2 Antimikrobiálny efekt metanolového extraktu propolisu (MEP) na vybrané druhy patogénov



Asparagus niger. EEP ukázala vyššiu aktivitu ako metanolový extrakt proti všetkým sledovaným baktériám, ako bolo dokázané aj v našich výsledkoch.

Ghasem et al. (2007) testovali antimikrobiálnu aktivitu proti baktérii *Staphylococcus aureus* na vzorkách iránskeho propolisu severozápadného regiónu. Použili 70 % etanolový extrakt pomocou Petriho difúznej metódy. Ďalej merali a skúmali závislosť pH (vzorky boli v rozmedzí 5,12 až 5,8), ktorú merali pri teplote 25 °C. Nepredvídateľné hodnoty pH v extraktoch rôznych propolisových vzoriek neukázali závislosť od kvality propolisu ako aj jeho aktivitu.

Výsledky antimikrobiálnej aktivity jednotlivých baktérií a ich senzitivita je porovnateľná v oboch časových kultiváciách len u baktérií *Salmonella enterica* a *Candida tropicalis*. U ďalších baktérií sú rozdiely medzi jednotlivými časovými kultiváciami, pri niektorých až o polovicu. Medzi testovanými baktériami bola baktéria *Listeria monocytogenes* najviac citlivá na metanolový extrakt propolisu po 24 hodinovej kultivácii a baktéria *Pseudomonas aeruginosa* bola najviac citlivá po 48 hodinovej kultivácii. Citlivosť (senzitivita) ďalších baktérií pri 24 hodinovej kultivácii nasledovala v rade *Staphylococcus aureus* > *Candida tropicalis* > *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* > *Candida albicans* > *Aspergillus flavus* (obr. 2).

De Paula et al. (2006) sledovali náchylnosť ústnych patogénnych baktérií a húb proti brazílskemu zelenému propolisovému extraktu. Pre test použili 30 % koncentráciu metanolu. Antibakteriálna a antifungálna aktivita sa testovala proti *Streptococcus mutans* (ATCC 70069), *Streptococcus sanguis* (ATCC 10557), *Lactobacillus casei* (ATCC 393), *Tanarella forsythensis* (ATCC 700191), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Fusobacterium necrophorum* (ATCC 25286), *Actinobacillus actinomycescomitans* (ATCC 33384), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 23726), *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. glabrata* (ATCC 2001), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 2340) a *C. guilliermondii* (ATCC 201935) pomocou HPLC testu.

Ota et al. (2001) v rámci štúdie testovali antifungálnu aktivitu propolisu u 80 druhov *Candida* kvasiniek (20 druhov *Candida albicans*, 20 druhov *Candida tropicalis*, 20 druhov *Candida crusei*, 20 druhov *Candida guilliermondii*). Testované kvasinky ukázali jasnú antifungálnu aktivitu s týmto poradím senzitivity : *Candida albicans* -> *Candida tropicalis* -> *Candida krusei* -> *Candida guilliermondii*. Pacienti s vlastným chrupom, ktorí užívali hydroalkoholový propolisový extrakt, zaznamenávali znižovanie výskytu kvasiniek rodu *Candida*.

ZÁVER

V štúdií *in vitro* sme pre objektívne zhodnotenie antibakteriálnej aktivity extraktov slovenského včelieho propolisu skúmali účinky proti 8 rôznym druhom patogénov zahŕňajúcich *Listeria monocytogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* a *Candida tropicalis*. Na sledovanie

antibakteriálnej aktivity sme využili difúznou diskovú metódu na Mueller-Hinton agare a Sauboraudov glukózovom agare. Z mikrobiologických ukazovateľov boli vo vzorkách sledované inhibičné zóny okolo papierového disku s príslušným extraktom. Na kvalitatívny test sme použili platňový difúzny test. Výsledky sme vyhodnocovali po 24 a 48 hodinách kultivácie. Ako pozitívnu kontrolu sme použili antibiotikum Chloramfenikol a sledovali sme aj antimikrobiálny účinok absolútneho metanolu. Výsledky nám potvrdili antimikrobiálnu aktivitu u všetkých sledovaných patogénov (nie pri každom meraní), pričom v etanolovom propolisovom extrakte bola vyššia senzitivita ako pri metanolovom extrakte. Najväčšiu aktivitu sme zaznamenali pri baktériách *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus* na oboch sledovaných extraktoch.

LITERATÚRA

- ATTALLA, K. M., OWAYSS, A. A., MOHANNY, K. A..2007. Antibacterial activities of bee venom, propolis, and royal jelly produced by three honey bee, *Apis mellifera* L., hybrids reared in the same environmental conditions. In *Annals of Agric Sci., Moshtohor*, vol. 45, 2007, no. 2, p. 895-902.
- BANKOVA, V., DE CASTRO, S. L., MARCUCCI, N. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. In *Apidologie*, vol.31, 2000, p. 3-15
- BARROS, M. B. L., SCHUBACH, T. M. P., GALHARDO, M. C. G., SCHUBACH, A. O., MONTEIRO, P. C. F., REIS, R. S., ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M., LAZERA, M. S., CUZZI-MAYA, T., BLANCO, T. C. M., MARZOCHI, K. B. F., WANKE, B., DO VALLE, A. C. F..2001. Sporotrichosis: An emergent zoonosis in Rio de Janeiro. In *Mem Inst Oswaldo Cruz*. vol. 96, 2001, no. 9, p. 777-779.
- BORGES-WALMSLEY, M. I., CHEN, D., SHU, X., WALMSLEY, A. R. 2002. The pathobiology of *Paracoccidioides brasiliensis*. In *Trends Microbiol.*, vol. 10, 2002, no. 2, p. 80-87.
- BROWN, R. 1993. Bee Hive Product Bible. Avery Penguin : Putnam, 225 p., ISBN: 08-95295-21-0.
- BRUMFITT, W., HAMILTON-MILLER, J. T. M., FRANKLIN, I..1990. Antibiotic activity of natural products: 1. In *Propolis, Microbios*, vol. 62, 1990, p.19-22.
- BURDOCK, G. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 36, 1998, p. 347-363.
- COURA, J. R., DE CASTRO, S. L. 2002. A critical review on Chagas disease chemotherapy. In *Mem Inst Oswaldo Cruz*. vol. 97, 2002, n. 1, p. 3-24.
- DE PAULA, A. M. B, GOMES, R. T., SANTIAGO, W. K, et al.. 2006. Susceptibility of oral pathogenic bacteria and fungi to brazilian green propolis extract. In *Pharmacologyonline*, vol. 3, 2006, p. 467-473
- GHASEM, Y. B, ABDOLGHAFFAR, O., HASANLOEI, M.. 2007. Antibacterial and Antifungal Activity of Iranian Propolis Against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. In *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 10, 2007, no. 8, p. 1343-1345.
- CHENG, P. C, WONG G. 1996. Honey bee propolis: prospects in medicine. In *Bee World*, vol. 77, 1996, p. 5-15.
- JACOBS, M. R.. 2004. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and patterns of resistance. In *Am. J. Med.*, vol. 117, 2004, no.3, p. 3-15.
- KUMAR, N., AHMAD, M. K. K, DANG, R. HUSAIN, A. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of propolis from

Tamil Nadu zone. In *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 2, 2008, no.12, p. 361-364.

MAIDANA J. 2000. Propóleos: segunda parte, In *Boletín Apícola*, 2000, n. 14, p. 102.

MARCUCCI, M. C., BANKOVA, V. S. 1999. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. In *Curr Top Phytochem*, vol. 2, 1999, p. 115-123.

MONTENEGRO, G., TIMMERMANN, B., PENA, R., MUJICA, A. 2000. Pollen grains and vegetative structures in propolis as indicators of potential drugs in Chilean plants, In *International Journal of Experimental Botany*, vol. 66, 2000, p. 15-23.

MULI, E. M., MAINGI, J. M., MACHARIA, J. 2008. Antimicrobial Properties of Propolis and Honey from the Kenyan Stingless bee, *Dactylurina Schimidti*. In *Apiacta*, vol. 43, 2008, p. 49 – 61.

OTA, C., UNTERKIRCHER, C., FANTINATO, V., SHIMIZU, M.T. 2001. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. In *Mycoses*, vol. 44, 2001, p. 375 -378.

PARK, K. Y., ALENCAR, S. M., AGUIAR, C. L. 2002. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. In *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, 2002, no. 9, p. 2502-2506.

SERRA BONHEVI, J. 1996. *Zeitschrift für Naturforschung* 49c, 1996, p. 712

SFORCIN, J. M., FERNANDES, J. A., LOPES, C. A. M., BANKOVA, V., FUNARI, S. R. C. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. In *J. Ethnopharmacol.*, vol. 73, 2000, p. 243-249.

TODD, J. K. 2005. Staphylococcal infections. In *Ped Rev*, vol. 26, 2005, n. 12, p. 444-450

WHO. 1997. Chagas disease Thirteenth Programme Report UNDP/WB/TDR. Geneve, p. 112-23.

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Miroslava Kačániová, PhD. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KMI, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel.: 037 641 4494, e-mail:miroslava.kacaniova@uniag.sk

THE EFFECT OF SINGLE NICKEL AND COMBINED NICKEL AND ZINC PERORAL ADMINISTRATION ON SELECTED MINERAL BLOOD PARAMETERS IN FEMALE RABBITS

Anna Kalafová, Peter Massányi, Peter Chrenek, Jaroslav Kováčik, Norbert Lukáč, Ľudmila Chrastinová, Monika Schneidgenová, Peter Čupka, Rastislav Jurčík

ABSTRACT

In this study the effect of nickel and nickel with zinc supplementation on mineral parameters as sodium (Na), potassium (K) and chlorides of rabbits were analyzed. Animals were divided into 5 groups: control group K and 4 experimental groups P1, P2, P3 and P4 (n=5). Experimental animals received nickel or nickel+zinc in followed amounts: P1 group 17.5 mg NiCl₂.kg⁻¹, P2 group 35.0 mg NiCl₂.kg⁻¹, P3 group 17.5 mg NiCl₂.kg⁻¹ + 30 mg ZnCl₂.kg⁻¹ and P4 group 35 mg NiCl₂.kg⁻¹ + 30 mg ZnCl₂.kg⁻¹ to the feed mixture for 98 days.

The concentration of sodium in the groups with zinc supplement was slightly lower in comparison with groups without zinc (147.04±2.54 mmol.l⁻¹ and 146.17±3.79 mmol.l⁻¹ versus 146.91±4.37 mmol.l⁻¹). The insignificant highest concentrations of potassium were measured in groups with zinc supplement (5.10±0.34 and 5.05±0.37 mmol.l⁻¹) when compared with control group (4.78±0.43 mmol.l⁻¹). Similar values of chlorides in control and P4 group was found (106.96±5.81 mmol.l⁻¹ and 106.73±2.79 mmol.l⁻¹). The highest concentration was in P3 group (110.35±2.39 mmol.l⁻¹).

Keywords: nickel, zinc, mineral parameters, rabbits, growth

INTRODUCTION

The vast industrial use of nickel has led to environmental pollution by the metal and its by-products during production, recycling, and disposal. Nickel is a known hematotoxic, immunotoxic, hepatotoxic, pulmotoxic, and nephrotoxic agent. Allergic skin reactions are common in individuals who are sensitive to nickel (**Das and Buchner, 2007**). Nickel is a ubiquitous and virtually unavoidable environmental pollutant and occupational hazard, but its molecular and cellular effects are not well understood. Human epidermal keratinocytes are the sentinel and the primary target for nickel (**Gazel et al. 2008**). Nickel is also essential element for at least several animal species. These animal studies associate nickel deprivations with depressed growth, reduced reproductive rates, and alterations of serum lipids and glucose. Drinking water and food are the main sources of exposure for the general population. Nickel is highly mobile in the soil, particularly in acid soils. It is not cumulative toxin in animals or in human (**Barceloux and Barceloux, 1999**). Nickel treated rats showed significant reductions in the body weight and

hepatic protein contents as compared to normal control rats (**Sidhu et al. 2005**).

Zinc is an essential trace element and serves as the active centre of approximately 300 enzymes. Therefore, zinc deficiency may be associated with a variety of clinical features such as hypogeusia, hyposmia, growth retardation, dermatitis, alopecia, gonadal hypofunction, abnormal pregnancy, susceptibility to infections, delayed wound healing, impaired glucose tolerance, and increased carcinogenesis (**Yanagisawa, 2008**). The impact of zinc on the immune system, the ability of zinc to act as an antioxidant in order to reduce oxidative stress and the neuroprotective and neurodegenerative role of zinc in the etiology of Alzheimer's disease is also discussed (**Valko et al. 2005**). **Boga et al. (2007)** concluded that Mg and Zn reduced the toxicity and teratogenicity of Cd, Ni, Co.

MATERIAL AND METHODS

The effect of nickel and nickel with zinc supplementation on some biochemical parameters as sodium (Na), potassium (K) and chlorides was analyzed. Animals were divided into five groups: control group K and 4

experimental groups P1, P2, P3 and P4 (5 animals in each group). Experimental animals of P1 and P2 group received nickel and animals of P3 and P4 group nickel+zinc supplement to the feed mixture in followed amounts: P1 group 17.5 mg NiCl₂.kg⁻¹, P2 group 35.0 mg NiCl₂.kg⁻¹, P3 group 17.5 mg NiCl₂.kg⁻¹ + 30 mg ZnCl₂.kg⁻¹ and P4 group 35 mg NiCl₂.kg⁻¹ + 30 mg ZnCl₂.kg⁻¹ for 98 days. Blood of hens was acquired using macromethod. The blood serum was separated from whole blood by centrifugation at 3000 rpm for 30 minutes and samples were stored at -18°C. Biochemical parameters of mineral profile were measured by semi-automated clinical chemistry analyser Microlab 300 (Vilat Scientific, Dieren, Netherlands).

To compare the results the analysis of variance, t-test and Duncan's test were used to calculate basic statistic characteristics and to determine significant differences among experimental and control groups.

RESULTS

The concentration of monitored biochemical parameters are summarized in Tables 1 - 6.

The average concentration of sodium was in control group 146.91±4.37 mmol.l⁻¹, 147.11±2.46 mmol.l⁻¹ in P1, 147.68±4.60 mmol.l⁻¹ in P2, 147.04±2.54 mmol.l⁻¹ in P3 and the lowest value 146.17±3.79 mmol.l⁻¹ in P4 group. The concentration of sodium in the last two groups with zinc supplement was slightly lower in comparison with groups without zinc, but not significantly. Results did not acknowledge (P>0.05) the effect of these nickel and zinc doses on the concentration of sodium in blood serum of rabbits.

The lowest concentration of potassium was found in control group 4.78±0.43 mmol.l⁻¹, followed by P1 and P2 groups (4.90±0.52 mmol.l⁻¹ and 4.91±0.38 mmol.l⁻¹). The highest concentrations were measured in groups P3 and P4 with zinc supplement (5.10±0.34 and 5.05±0.37 mmol.l⁻¹). However, the differences were not significant (P>0.05).

In the case of chlorides we found similar values in control and P4 group, what were also the lowest values (106.96±5.81 mmol.l⁻¹ and 106.73±2.79 mmol.l⁻¹). The highest concentration was in P3 group 110.35±2.39 mmol.l⁻¹. Other values were 107.07±4.42 mmol.l⁻¹ in P1 group and 107.60±3.90 mmol.l⁻¹ in P2 group. The differences were not significant (P>0.05).

DISCUSSION

Environmental factors and factors of internal milieu affect health of animals (Arpášová et al. 2009; Arpášová et al. 2006; Kramárová a Chmelničná, 2004; Kolesárová 2002; Reiner et al. 2002; Florkovičová et al. 2002; Florkovičová et al. 2001; Sanisló et al., 2001; Salagová et al. 2001). Nickel is an essential mineral element that may accumulate to toxic levels in soils due to anthropogenic activities (Llamas et al. 2008). Zinc is essential dietary nutrients (Linder, 1991) and is involved in numerous metabolic reactions, forming part of the functional groups of several key enzymes (Ferns et al. 1997). In our experiment the concentrations of some mineral parameters after nickel and zinc administration and the growth of rabbits were monitored.

The concentration of sodium increase slightly after nickel administration and slightly decreased with zinc supplement, but not significantly. The results of Bwititi and Ashorobi (1998) also showed increase of sodium in plasma of rats after nickel supplementation.

The concentration of potassium in our experiment was slightly higher in groups with nickel treatment in comparison with control group. According to Sidhu et al. (2004b) the level of potassium was found to be significantly suppressed following nickel treatment. However, zinc treatment alone did not cause any appreciable change in the concentration of this element. When zinc was given to nickel-treated rats, the concentration of potassium was not significantly different from that of normal controls what is similar results as in

our case.

Nickel supplement did not affected concentration of chlorides and urea as the differences among average values were not significant. Also zinc had no effect on these parameters. On the contrary, Bwititi and Ashorobi (1998) reported that plasma urea levels were raised in rats with nickel supplement.

In our experiment nickel or zinc did not promote adverse biological effects in rabbits what correspondent with experiment with rats (Pereira et al., 2008).

REFERENCES

- ARPÁŠOVÁ, H., ANGELOVIČOVÁ, M., HAŠČÍK, P., CAPCAROVÁ, M., KOLESÁROVÁ, M., KAČÁNIOVÁ, M., HANOVÁ, M. 2009. Vplyv rastlinných silíc na vybrané kvalitatívne parametre konzumných vajec sliepok. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, roč. 12, 2009, s. 8-15.
- ARPÁŠOVÁ, H., ANGELOVIČOVÁ, M., WEIS, J., KOPECKÝ, J., CAPCAROVÁ,

Table 1. Sodium concentration during the experiment with nickel and zinc administration

Day of Experiment	0 27.1.2006	30 8.3.2006	60 6.4.2006	90 22.5.2006	Average
Group K (control; n=5)					
x	144.52	145.68	153.60	143.85	146.91
s	1.31	5.94	9.14	1.07	4.37
CV	0.91	4.08	5.95	0.74	2.92
P1 Ni1 (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg)					
x	146.94	143.63	151.83	146.04	147.11
s	3.52	1.59	3.18	1.43	2.43
CV	2.40	1.11	2.09	0.98	1.65
P2 Ni2 (+ 35.0 mg NiCl ₂ /kg)					
x	147.10	148.12	151.78	143.72	147.68
s	3.60	7.64	5.43	1.72	4.60
CV	2.45	5.16	3.58	1.20	3.10
P3 Ni1 + Zn (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	144.92	146.20	151.80	145.23	147.04
s	3.95	2.60		1.07	2.54
CV	2.73	1.78		0.74	1.75
P4 Ni2 + Zn (+ 35 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	146.66	144.47	149.77	143.78	146.17
s	3.62	6.54	2.63	2.35	3.79
CV	2.47	4.53	1.76	1.63	2.60

x – mean; SD – standard deviation; CV – coefficient of variation

M., HRNČÁR, C., CIVÁŇ, S. 2006. Zhodnotenie vplyvu rôznych foriem jódu na vybrané ukazovatele kvality slepačích vajec. In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*. Nitra : SPU, 2006, s. 9-15. ISBN 80-8069-767-1.

BARCELOUX, D. G., BARCELOUX, D. 1999. Nickel. In *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. vol. 37, 1999, no. 2, p. 239-258.

BOGA, A., ERDOGAN, S., SERTDEMIR, Y. 2007. Effects of specific dosages of magnesium and zinc on the teratogenicity of cadmium, nickel, and cobalt in *Xenopus* embryos, as assessed by the FETAX test. In *Dose Response*, vol. 6, 2007, no. 1, p. 16-29.

BWITITI, P. T., ASHOROBI, R. B. 1998. Effects of

chronic oral nickel chloride administration on glycaemia and renal function in normal and diabetic rats. In *Afr. J. Health Sci.*, vol. 5, 1998, no. 3-4, p. 198-201.

DAS, K. K., BUCHNER, V. 2007. Effect of nickel exposure on peripheral tissues: role of oxidative stress in toxicity and possible protection by ascorbic acid. In *Rev Environ Health*, vol. 22, 2007, no. 2, p. 157-173.

FERNS, G. A. A., LAMB, D. J., TAYLOR, A. 1997. The possible role of copper ions in atherogenesis: the Blue Janus. In *Atherosclerosis*, vol. 133, 1997, 139-152.

FLORKOVIČOVÁ, I., SIROTKIN, A., SCHAEFFER, H. J., BUDÁČOVÁ, A., SANISLO, P. 2001. Dominancia, selekcia a kooperácia medzi ovariálnymi folikulami in vitro :

Úloha IGF-I a oxytocínu. In *Journal of Farm Animal Science*, roč. 34, 2001, s. 171-174.

FLORKOVIČOVÁ, I., SIROTKIN, A., BUDÁČOVÁ, A., SCHAEFFER, H. J. 2002. Úloha OGF-I a oxytocínu v sprostredkovaní vzájomných vzťahov ovariálnych folikulov. In XVIII. medzinárodná konferencia o reprodukciu hospodárskych, Liptovský Ján, Nitra : Slovenská poľnohospodárska a potravinárska komora, 2002. ISBN 80-88729-10-6. s. 75-80.

GAZEL, A., ROSDY, M., TORNIER, C., DE FRAISSINETTE, A. D., BLUMENBERGM M. 2008. Transcriptional profiling defines the effects of nickel in human epidermal keratinocytes. In *J. Cell Physiol.*, vol. 217, 2008, no. 3, p. 682-692.

KOLESÁROVÁ, A. 2002. Úloha vybraných biologicky aktívnych látok v regulácii ovariálnych funkcií prasníciek. In *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe*, Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2002. ISBN 80-8069-126-6. s. 295-298.

KRAMÁROVÁ, M., CHMELNIČNÁ, L. 2004. Vplyv probiotika s účinnou zložkou baktérií *Enterococcus faecium* M-74 na produkčné parametre a niektoré ukazovatele tukového metabolizmu nosníc. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, roč. 7, 2004, č. 2, s. 45-49.

LLAMAS, A., ULLRICH, C. I., SANZ, A. 2008. Ni²⁺ toxicity in rice: effect on membrane functionality and plant water content. In *Plant Physiol Biochem.*, vol. 46, 2008, no. 10, p. 905-910.

LINDER, M. C. 1991. Nutrition and metabolism of the trace element. In *Nutrition Biochemistry Metabolism*, 36-49. (ed. Linder M. C.) Amsterdam:Elsevier.

REINER, G., MELCHINGER, E., KRAMÁROVÁ, M., PFAFF, E., BÜTTNER, M., SAALMÜLLER, A., GELDERMANN, H. 2002. Detection of quantitative trait loci for resistance/susceptibility to pseudorabies virus in swine. In *Journal of General Virology*, 2002, no. 83, p. 167-172.

SALAGOVÁ, Z., KRAMÁROVÁ, M., BUDÁČOVÁ, A. 2001. Bioaktívne lipidy v kravskom mlieku a možnosť ich ovplyvnenia: konjugovaná kyselina linolová (CLA). In *Výživa a potraviny pre tretie*

Table 2. Potassium concentration during the experiment with nickel and zinc administration

Day of Experiment	0 27.1.2006	30 8.3.2006	60 6.4.2006	90 22.5.2006	Average
Group K (control; n=5)					
x	5.00	4.92	4.30	4.90	4.78
s	0.59	0.42	0.22	0.47	0.43
CV	11.89	8.57	5.18	9.57	8.80
P1 Ni1 (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg)					
x	4.85	4.94	4.80	5.02	4.90
s	0.66	0.54	0.15	0.74	0.52
CV	13.68	11.00	3.05	14.75	10.62
P2 Ni2 (+ 35.0 mg NiCl ₂ /kg)					
x	5.33	4.97	4.37	4.96	4.91
s	0.36	0.25	0.42	0.49	0.38
CV	6.70	5.08	9.64	9.89	7.83
P3 Ni1 + Zn (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	4.92	5.40	4.72	5.36	5.10
s	0.36	0.39	0.32	0.28	0.34
CV	7.26	7.15	6.78	5.23	6.61
P4 Ni2 + Zn (+ 35 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	4.91	5.35	4.76	5.17	5.05
s	0.44	0.29	0.34	0.39	0.37
CV	9.05	5.43	7.19	7.62	7.32

x – mean; SD – standard deviation; CV – coefficient of variation

Table 3. Chlorides concentration during the experiment with nickel and zinc administration

Day of Experiment	0 27.1.2006	30 8.3.2006	60 6.4.2006	90 22.5.2006	Average
Group K (control; n=5)					
x	106.58	106.94	108.10	106.20	106.96
s	4.25	2.89	11.46	4.65	5.81
CV	3.99	2.70	10.60	4.38	5.42
P1 Ni1 (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg)					
x	107.04	104.53	108.50	108.20	107.07
s	7.88	2.80	3.03	3.96	4.42
CV	7.36	2.68	2.79	3.66	4.12
P2 Ni2 (+ 35.0 mg NiCl ₂ /kg)					
x	104.74	106.48	111.42	107.76	107.60
s	2.67	3.95	6.91	2.05	3.90
CV	2.55	3.71	6.21	10.86	5.83
P3 Ni1 + Zn (+ 17.5 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	107.12	109.93	113.90	110.43	110.35
s	3.75	2.84	1.50	1.45	2.39
CV	3.50	2.58	1.32	1.31	2.18
P4 Ni2 + Zn (+ 35 mg NiCl ₂ /kg + 30 mg ZnCl ₂ /kg)					
x	107.12	106.90	109.53	103.38	106.73
s	4.00	4.96	0.50	1.70	2.79
CV	3.74	4.64	7.66	0.46	4.13

x – mean; SD – standard deviation; CV – coefficient of variation

tisícročie, Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2001. ISBN 80-7137-847-X. s. 174-177.

SANISLÓ, P., SIROTKIN, A., BUDÁČOVÁ, A., FLORKOVIČOVÁ, I., SCHAEFFER, H. J. 2001. Úloha trombopoietínu a rozličných proteínkináz v regulácii proliferácie, apoptózy a steroidogenézy ovariálnych buniek ošippaných in vitro. In *Acta fytotechnica et zootechnica*. roč. 4, 2001, č. 2, s. 31-34.

SIDHU, P., GARG, M. L., DHAWAN, D. K. 2004a. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. In *Chem Biol Interact.*, vol. 150, 2004a, no. 2, p. 199-209.

SIDHU, P., GARG, M. L., MORGENSTERN, P., VOGT, J., BUTZ, T., DHAWAN, D. K. 2004b. Role of zinc in regulating the levels of hepatic elements following nickel toxicity in rats. In *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 102, 2004b, no. 1-3, p. 161-172.

SIDHU, P., GARG, M.L., MORGENSTERN, P., VOGT, J., BUTZ, T., DHAWAN, D.K. 2005. Ineffectiveness of nickel in augmenting the hepatotoxicity in protein deficient rats. In *Nutr Hosp.*, vol. 20, 2005, no. 6, p. 378-385.

VALKO, M., MORRIS, H., CRONIN, M. T. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. In *Curr Med Chem.*, vol. 12, 2005, no. 10, p. 1161-1208.

YANAGISAWA H. 2008. Zinc deficiency and clinical practice -validity of zinc preparations. In *Yakugaku Zasshi*, vol. 128, 2008, no. 3, p. 333-339.

Kontaktná adresa:

Ing. Anna Kalafová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KFŽ, Tr. Andreja Hlinku 2. Tel.: 037 641 4896, E-mail: anna.kalafova@uniag.sk

**OLOVOM INDUKOVANÉ ZMENY PROLIFERÁCIE A APOPTÓZY GRANULÓZNYCH BUNIEK VAJEČNÍKOV PRASNIČIEK IN VITRO
CHANGES OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS OF OVARIAN GRANULOSA CELLS IN VITRO INDUCED BY LEAD**

Adriana Kolesárová, Jana Slivková, Shubhadeep Roychoudhury, Peter Massányi, Alexander Sirotkin, Marcela Capcarová, Marína Medved'ová, Jaroslav Kováčik

ABSTRACT

Changes in the endocrine system might be a useful indicator of lead (Pb) exposure and its potential toxicity in animals. The study aimed at examining expression of proliferation-related (cyclin B1) and apoptosis-related (caspase-3) peptides in porcine ovarian granulosa cells after lead administration. Ovarian granulosa cells were incubated with/without lead acetate for 18 hours: group Max (0.5 mg Pb.ml⁻¹), group A (1:1 dilution), group B (1:5 dilution), group C (1:7 dilution), group D (1:10 dilution) and the control group without Pb addition. Expression of cyclin B1 and caspase-3 were detected by immunocytochemistry and TUNEL assay. Lead was shown to be capable of accumulation in porcine ovarian granulosa cells. The expression of cyclin B1 and caspase-3 were influenced by experimental Pb administration. Percentage of ovarian granulosa cells containing cyclin B1 and caspase-3 was induced by Pb administration in all experimental groups. Our results contribute for knowledge of mechanisms of lead effect on porcine ovarian granulosa cells. These results show that lead can affect by pathway of proliferation and apoptosis of porcine ovarian granulosa cells through intracellular substances as are cyclin B1 and caspase-3. These findings contribute to our knowledge of the effect of lead on ovarian function.

Keywords: porcine granulosa cells, lead, cyclin B1, caspase-3

ÚVOD

Koncentrácie toxických kovov ako aj olova (Pb), sa zvýšili v atmosfére v dôsledku rozsiahlej industrializácie a znečisťovania životného prostredia (Zhuang et al. 2009; Chrastný et al. 2009; Fortoul et al. 1999; Wang et al. 2006). Olovo patrí medzi ťažké kovy s nízkym bodom tavenia. Je to kujný kov odolný voči korózii. Úroveň a bohatosť stravy môže modifikovať toxický efekt (Poláček et al. 2003). Pb je všadeprítomná znečisťujúca látka (Shan et al. 2009), ktorá sa nachádza v atmosfére, vode, pôde (Zhuang et al. 2009; Chrastný et al. 2009), zelenine a ryži (Zhuang et al. 2009). Najvyššie prípustné množstvo olova v cereáliách je 1 mg.kg⁻¹, v objemových krmivách 15 mg.kg⁻¹ (Poláček et al. 2003). Olovo v pôde nepodlieha chemickej degradácii, a preto jeho koncentrácia rastie. Je veľmi imobilné, transport a vymývanie olova je v dôsledku jeho nízkej rozpustnosti veľmi malé (Svobodová et al. 1987; Hegedúsová, 1998). Olovo sa v organizme najprv kumuluje v mäkkých tkanivách (obličky, pečeň), neskôr sa redistribuje do kostí, zubov a vlasov (Poláček et al. 2003). Pb akumuluje aj v granulóznych bunkách vaječníkov potkanov (Nampoothiri a Gupta, 2006), vaječníkov oviec (Bires et

al. 1995), v pečeni a obličkách poľných zajacov (Kolesárová et al. 2008a; Kramárová et al, 2005; Massányi et al. 2003).

Hlavným patogenetickým mechanizmom je schopnosť olova pôsobiť inhibične na enzymatické reakcie v organizme. Výsledkom je zmnženie jednotlivých článkov syntézy hemu na niekoľkých úrovniach, ktoré prebiehajú pred inhibovanou enzymatickou reakciou (Buchancová et al. 2003). Najvýkonnejšie regulátory dlhodobých fyziologických zmien, vrátane reprodukcie, rastu a vývinu sú hormóny a látky s nimi spojené (Kolesárová et al. 2008). Každá bunka v živom systéme má čas žitia a čas zomierania. Apoptóza vyvoláva rovnováhu s proliferáciou a s mitózou. Je súčasťou existencie biologických dejov (Moon et al. 2009). Markérom pre bunkovú proliferáciu je rozsah DNA syntézy (Wyllie et al. 1998). Medzi látky zapájajúce sa do procesu proliferácie buniek patrí cyklín B1 (Wyllie et al. 1998). Mechanizmy zahrňujúce zvýšenú expresiu cyklínu B1 zatiaľ nie sú úplne známe. Bolo zaznamenané, že nádorové supresory p53 a BRCA1 negatívne regulujú expresiu cyklínu B1. Vysoko exprimovaný cyklín B1, a to aj v G1 fáze, sa viaže na CDK1, ktorá fosforyluje rad podjednotiek bez ohľadu na

Tabuľka 1: Použité koncentrácie Pb(CH₃COO)₂·3H₂O

Skupina	Granulózne bunky.ml ⁻¹ médiu	Pb(CH ₃ COO) ₂ ·3H ₂ O	Médiu (ml)	Zried'ovací pomer
kontrola	10 ⁶	0	1	0:1
Max	10 ⁶	1	0	1:0
A	10 ⁶	0.5	0.5	1:1
B	10 ⁶	0.33	0.67	1:5
C	10 ⁶	0.17	0.83	1:7
D	10 ⁶	0.09	0.91	1:10

Maximálna dávka (skupina Max): 0,5 mg Pb(CH₃COO)₂·3H₂O·ml⁻¹; 0,273 mg Pb·ml⁻¹

fázu bunkového cyklu a prispieva k agresívnemu šíreniu v neoplastických tkanív (Sirotkin et al. 2004). Signál pre proliferáciu pridáva za normálnych podmienok bunke extracelulárny proliferačný faktor (mitogén) svojím kontaktom s príslušným membránovým receptorom. Svojimi konečnými článkami sa všetky proliferačné signálne cesty stretávajú v jadre. Indukujú syntézu produktov génov v ranej fáze spolu s expresiou cyklínu D (v strednej G1-fáze). Na prechode G1- do S-fázy sa tiež exprimuje cyklín E (Naryzhny a Lee, 2001). Apoptóza je veľmi zložitý proces, na ktorom sa zúčastňuje množstvo faktorov, ktoré sa dajú rozdeliť na extracelulárne a intracelulárne. Tie druhé sa tiež delia na dve skupiny: na inhibítory alebo zosilňovače vnútrobunkových aktivátorov smrti (napr. protoonkogény) a vykonávateľov smrti (napr. kaspázy) (Hulín, 2002). Medzi najúčinnejšie extracelulárne signály smrti patria cytokíny TNF a Fas, ktorých aktivita závisí od stavu receptorov, prítomnosti látok, ktoré môžu blokovat' ich väzbu na tieto receptory a intenzity ich biosyntézy. Podobne aj funkciu rastových faktorov, ktoré majú preventívny účinok na apoptózu, môže významne ovplyvniť nielen ich biosyntéza inými

bunkami, ale aj transport k povrchu buniek, kde majú doručit' protiapoptózy signál (Wyllie et al. 1998; Parborell et al. 2001). Kaspázy sú proteolytické enzýmy, ktoré majú v katalytickom mieste cysteín a hydrolyzujú peptidovú väzbu v cieľových proteínoch medzi jednotkou asparágovej kyseliny s inou aminokyselinovou jednotkou. Označujú sa preto aj ako cysteinovo–aspartátové proteázy. Zatiaľ je známych 14 rôznych kaspáz, ktoré vytvárajú kaskádovitý systém (podobne ako komplement), v ktorom jedna kaspáza po aktivácii štiepi ďalšiu kaspázu. Podstatou tejto aktivácie je rozštiepenie neaktívnej prokaspázy na menšie jednotky, ktoré heterodimerizujú a utvárajú enzýmové aktívne tetraméry (Rak a Gregoraszcuk, 2008). Poznatky akým spôsobom sa olovo podieľa na procese proliferácii a apoptózy buniek vaječníkov prasníc sú nedostatočné. Cieľom práce bolo preskúmať vplyv olova, ako ťažkého kovu, na expresiu ukazovateľov proliferácie (cyklín B1) a apoptózy (kaspáza-3) v granulóznych bunkách vaječníkov prasníc.

Tabuľka 2: Expresia cyklínu B1 v granulóznych bunkách vaječníkov prasníc po experimentálnom podaní octanu olovnatého

skupina	kontrola	D	C	B	A	Max
min.	12,00	15,00	19,00	30,00	31,00	38,00
max.	16,00	22,00	34,00	44,00	49,00	47,00
priemer	14,00	18,50	24,40*	37,60 ***	43,75***	43,33***
smerodajná odchýlka	2,00	2,89	5,77	7,02	8,62	3,44
variálny koeficient (%)	14,29	15,60	23,65	18,67	19,70	7,95

Kontrolná skupina – kultivačné médiu bez octanu olovnatého. Skupina Max – kultivačné médiu s octanom olovnatým v dávke 0.5 mg.ml⁻¹. Skupina A riedenie 1:1, skupina B 1:5, skupina C 1:7, skupina D 1:10. * Signifikantné rozdiely P<0.05; *** p<0,001 boli hodnotené t-testom a chi-square (χ²) testom. Imunocytochémiá.

MATERIÁL A METODIKA

Príprava, spracovanie a kultivácia granulóznych buniek
 Do pokusu boli zaradené prasničky kombinovaného úžitkového až mäsového typu plemena biela ušľachtilá. Vaječníky získané pri zabití zvierat sme individuálne uskladnili v termoske s fyziologickým roztokom pri izbovej teplote a spracovali maximálne do 6 hodín od zabitia zvierat. Ovariálne granulózne bunky sme izolovali metódou aspirácie zo stredne veľkých folikulov (2–5 mm). Suspenziu granulóznych buniek sme odstreďovali (1500 ot·min⁻¹, 10 minút) za účelom oddelenia od folikulovej tekutiny s následným premývaním pomocou sterilného kultivačného média DMEM/F12 1:1 (BioWhittaker™, Verviers, Belgium) doplneného 10 % fetálnym teľacím sérom (BioWhittaker™) a antibiotikom - antimykotikom (Sigma, St. Louis, MO, USA). Pomocou hemocytometra sme počítali bunky a upravili koncentráciu buniek na potrebnú (10⁶ buniek·ml⁻¹ média). Bunkovú suspenziu riedenú kultivačným médiom sme kultivovali (37 °C, 5 % CO₂) v chamber-slides (200 µl·kultúra⁻¹). Približne po 5-7 dňoch kultivácie, keď bunky vytvorili na 75 % súvislú monovrstvu, sme médium nahradili čerstvým s rovnakými doplnkami ako bolo pôvodné 1. bez pridania octanu olovnatého Pb(CH₃COO)₂·3H₂O (kontrola) a 2. s pridaním rôznych koncentrácií Pb(CH₃COO)₂·3H₂O (experimentálne skupiny): skupina Max (0.5 mg·ml⁻¹), skupina A (1:1 riedenie), skupina B (1:5 riedenie), skupina C (1:7 riedenie), skupina D (1:10 riedenie) (Tab. 1). Po 18-hodinovej kultivácii sme monovrstvu buniek na chamber-slides fixovali 4 % paraformaldehydrom v PBS (Phosphate Buffer Saline - Fosfátom pufrovaný fyziologický roztok) 10 minút a uskladnili pri +4 °C až do doby imunocytochemickej analýzy a anlyzy TUNEL.

Imunocytochemická analýza

V presnosti granulóznych buniek sme sledovali úroveň exprese ukazovateľov proliferácie (cyklín B1) a apoptózy (kaspáza-3). Samotná procedúra imunocytochemickej analýzy folikulových buniek spočívala v ich 30-minútovej inkubácii v termostate pri 37 °C za prítomnosti 5 %

teľacieho séra a následnom premytí v PBS 2 x 15 minút pri izbovej teplote na ľade. Pri rovnakých podmienkach sme bunky inkubovali v 30 % H₂O₂ a PBS 30 minút a opláchli 2 x 15 minút v PBS. Nasledovala aplikácia primárnej myšacej protilátky (50 µl·sklíčko⁻¹) s riedením 1:500. Po inkubácii sme bunky opláchli v PBS 2 x 15 minút pri izbovej teplote na ľade a opäť inkubovali 30 minút v termostate za prítomnosti 5 % teľacieho séra. Nasledovala aplikácia sekundárnej protilátky (50 µl·sklíčko⁻¹) s riedením 1:1000 po predchádzajúcom opláchnutí sklíčok v PBS 3 x 10 minút pri izbovej teplote na ľade. Boli použité králičie polyklonálne protilátky proti myšim imunoglobulínom. Sklíčka sme prekryli parafínovým papierom, uložili do vlhkej komory a inkubovali 1 hodinu pri izbovej teplote. Po inkubácii sme sklíčka opláchli v PBS 3 x 5 minút pri izbovej teplote na ľade a nasledovalo farbenie buniek aplikáciou DAB (Diaminobenzidín) (Roche Diagnostics Corporation, IN, USA, 10 %) a následné prekrytie sklíčok parafínovým papierom. Dobu farbenia sme vizuálne kontrolovali pod mikroskopom a trvala 20-50 minút. Sklíčka sme 3 x opláchli v PBS. Bunky sme montovali Glycergelom (DAKO, Carpinteria, CA, USA) zahriatym na 37 °C a po uschnutí pozorovali pod mikroskopom.

TUNEL analýza

Pre analýzu apoptózy sme použili MEBSTAIN Apoptosis kit Direct (Immunotech, France), na detekciu TdT-mediátorových dUTP označených (TUNEL) reakcií. Na konci kultivácie chamber-slides sme vystavili TUNEL analýze použitím *in situ* kitu pre detekciu bunkovej smrti podľa inštrukcií výrobcu (Almásiová et al. 2008; Massányi et al. 2000). Celková bunková morfológia a percento TUNEL – pozitívnych buniek v každej kultúre sme zisťovali opticky vyhodnotením kultúr a počítaním TUNEL – pozitívnych a TUNEL – negatívnych buniek použitím svetelného mikroskopu a Leica fluorescenčného mikroskopu (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

Tabuľka 3: Expressia kaspázy-3 v granulóznych bunkách vaječníkov prasničiek po experimentálnom podaní octanu olovnatého

skupina	kontrola	D	C	B	A	Max
min.	12,00	21,00	14,00	10,00	21,00	37,00
max.	16,00	30,00	22,00	31,00	44,00	52,00
priemer	14,00	26,00*	18,80	22,80	32,80**	44,20***
smerodajná odchýlka	2,00	4,58	3,11	10,40	8,76	6,50
variačný koeficient (%)	14,29	17,63	16,57	45,62	26,70	14,70

Kontrolná skupina – kultivačné médium bez octanu olovnatého. Skupina Max – kultivačné médium s octanom olovnatým v dávke 0.5 mg·ml⁻¹. Skupina A riedenie 1:1, skupina B 1:5, skupina C 1:7, skupina D 1:10. * Signifikantné rozdiely P<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 boli hodnotené t-testom a chi-square (χ²) testom. Imunocytochémia.

Tabuľka 4: Apoptóza granulóznych buniek vaječníkov prasníčiek po experimentálnom podaní octanu olovnatého

skupina	kontrola	D	C	B	A	Max
min.	7,23	8,62	16,22	50,98	43,27	59,65
max.	16,67	19,77	27,71	52,00	59,72	88,24
priemer	11,67	12,81	22,84*	51,46***	50,77***	72,04***
smerodajná odchýlka	3,68	4,99	4,29	0,42	6,63	11,35
variálny koeficient (%)	31,50	38,96	18,79	0,81	13,06	15,76

Kontrolná skupina – kultivačné médium bez octanu olovnatého. Skupina Max – kultivačné médium s octanom olovnatým v dávke 0.5 mg.ml⁻¹. Skupina A riedenie 1:1, skupina B 1:5, skupina C 1:7, skupina D 1:10. * Signifikantné rozdiely P<0,05; *** p<0,001 boli hodnotené t-testom a chi-square (χ^2) testom. Imnocytochémia, TUNEL analýza.

Štatistické analýzy

Analýzy látok v inkubačnom médiu boli vykonané duplicitne. Hodnoty týkajúce sa vplyvu rôznych dávok olova na expresiu cyklínu B1 a kaspázy-3 sú priemerné hodnoty získané z troch rozličných pokusov vykonaných v rozličných dňoch, použitím rozličných súborov vaječníkov získaných z 10-12 zvierat. Štatistické rozdiely medzi kontrolnou (bez pôsobenia octanu olovnatého) a pokusnými skupinami (vystavené pôsobeniu octanu olovnatého – Max, A, B, C, D) boli hodnotené t-testom alebo χ^2 -testom použitím štatistického programu Sigma Plot 9.0 (Jandel, Corte Madera, USA). Signifikantnosť rozdielov medzi kontrolnou a experimentálnymi skupinami bola určená na úrovniach P<0,05; P<0,01 a P<0,001.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vplyv olova na expresiu cyklínu B1

Imnocytochémiou sme dokázali prítomnosť proliferatívneho peptidu cyklínu B1. V súvislosti s expresiou daného ukazovateľa proliferácie v granulóznych bunkách vaječníkov po experimentálnom podaní rôznych dávok olova boli zaznamenané preukazné rozdiely medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami (Tab. 2). Percento granulóznych buniek vaječníkov obsahujúce cyklín B1 bolo signifikantne vyššie (P<0,001, P<0,05) v skupinách Max (43,33±3,44 %), A (43,75±8,62 %), B (37,60±7,02 %) a C (24,40±5,77 %) v porovnaní s kontrolnou skupinou (14,00±2,00 %). Medzi kontrolou a skupinou D neboli zistené preukazné diferencie v uvoľnení cyklínu B1 granulóznymi bunkami. Osud folikulu závisí od rovnováhy v expresii a funkcii faktorov podporujúcich bunkovú proliferáciu folikulov, rast a diferenciáciu a tých, ktoré indukujú programovanú bunkovú smrť (apoptózu) (Jiang et al. 2003). Dosiagnuté výsledky poukazujú na expresiu cyklínu B1 v granulóznych bunkách vaječníkov prasníčiek. Naše pozorovania potvrdzujú predchádzajúce záznamy o expresii cyklínu B1 (Sirotkin et al. 2008). Výsledky svedčia o tom, že proliferatívny peptid cyklín B1 bol

ovplyvnený rôznymi dávkami octanu olovnatého. V predchádzajúcich štúdiách octan olovnatý indukoval proliferáciu (Vogetseder et al. 2008), čo je tiež v súlade s našimi výsledkami.

Vplyv olova na expresiu kaspázy-3 a apoptózu granulóznych buniek

V súvislosti s expresiou apoptotického peptidu kaspázy-3 v granulóznych bunkách vaječníkov prasníčiek, boli pozorované rozdiely medzi kontrolnou skupinou a skupinami vystavenými rôznym dávkam Pb (Tab. 3). Percento granulóznych buniek vaječníkov obsahujúce kaspázu-3 bolo ovplyvnené prídavkom Pb vo všetkých experimentálnych skupinách (Max: 44,20±6,50 %, A: 32,80±8,76 %, B: 22,80±10,40 %, C: 18,80±3,11 %; D: 26,00±4,58 %). V porovnaní s kontrolou boli zaznamenané signifikantné rozdiely (p<0,001, p<0,01, p<0,05) v prípade skupín Max, A a D. Nepreukazné diferencie sme zaznamenali medzi kontrolou a skupinami B a C.

TUNEL analýzou sme pozorovali prítomnosť apoptotických granulóznych buniek vaječníkov po experimentálnej aplikácii rôznych dávok olova (Tab. 4). Zistili sme, že prítomnosť octanu olovnatého stimulovala percento apoptotických granulóznych buniek vaječníkov v skupinách Max (72,04±11,35 %), A (50,77±6,63 %), B (51,46±0,42 %) a C (22,84±4,29 %) v porovnaní s kontrolnou skupinou (11,67±3,68 %). Avšak, v prípade najnižšej dávky olova použitej v našom pokuse sme nezaznamenali preukazné rozdiely medzi kontrolnou a experimentálnou skupinou D (12,81±4,99 %).

Programová bunková smrť alebo apoptóza je základným prvkom funkcie a vývoja vaječníkov (Vaskivuo a Tapanainen, 2003). Apoptóza granulóznych buniek je bunkový mechanizmus ovariálnej folikulovej atrezie (Kim et al. 1998). Všeobecne je známe, že existuje veľa ciest transdukcie signálov, ktoré regulujú apoptózu (Rolaky et al. 2005). Výsledky našej práce svedčia o expresii kaspázy-3 v granulóznych bunkách vaječníkov ošipáných, čo potvrdzuje predchádzajúce štúdie ale bez pôsobenia ťažkého kovu (Cheng et al. 2008). V našich pokusoch expresia apoptotického peptidu kaspázy-3 v ovariálnych granulóznych bunkách bola závislá od expozície octanu

olovnatého. Percento granulóznych buniek vaječníkov obsahujúcich kaspázu-3 bolo stimulované účinkom Pb vo všetkých experimentálnych skupinách, čo znamená, že vystavenie olovom indukovalo apoptózu granulóznych buniek vaječníkov prasničiek podľa v závislosti od použitej dávky. Tieto zistenia sú v súlade s výsledkami pokusov apoptózy aj v prípade pečenej kmeňových buniek u dospelých potkanov (Agarwal et al. 2008) a rôznych typov buniek (Xu et al. 2006). Podobne, cytotoxický efekt olova u mužov pravdepodobne súvisel s procesom apoptózy (Gorbel et al. 2002; Massanyi et al. 2007). Olovom indukovaná apoptóza nastala po aktivácii kaspázy-3 (Xu et al. 2006), čo je v súlade s našimi výsledkami.

ZÁVER

V terénnej praxi je dôležité si uvedomiť, že mnohé ťažké kovy sú značne toxické pre človeka, zvieratá i rastliny a ich nebezpečenstvo zvyšuje sumačný účinok – akumulujú sa v organizme cestou potravinového reťazca. Je potrebné hlbšie prebádať pôsobenie ťažkých kovov na živočíšne systémy. Popri iných faktoroch ovplyvňujúcich reprodukčné ukazovatele samíc sú tu aj ťažké kovy, ktoré spôsobujú zníženie uvoľňovania hormónov z vaječníkov a expresie ukazovateľov proliferácie a apoptózy. Údaje získané z *in vitro* štúdií naznačujú, že olovo môže indukovať proliferáciu a apoptózu granulóznych buniek vaječníkov prasničiek pomocou intracelulárnych látok, ako sú cyklín B1 a kaspáza-3. Tieto výsledky pozoruhodne prispievajú k poznaniu mechanizmov účinku olova v ovariálnych granulóznych bunkách.

LITERATÚRA

AGARWAL, S., KUMAR, R., GUPTA, P., DIXIT, A. 2008. Identification and characterization of a positive regulatory cis-element within the upstream region of c-jun. In *The Journal of Biochemistry*, roč. 144, 2008, s. 741-752.

ALMÁŠIOVÁ, V., CIGÁNKOVÁ, V., HOLOVSKÁ, K., LENHARDT, L., ŠKROBÁNEK, P., MASSÁNYI, P., ZIBRÍN, M. 2008. Effect of Hypodynamy on Structure and Alkaline Phosphatase Activity of Kidney in Japanese Quails. In *Acta Veterinaria Brno*, roč. 77, 2008, s. 313-320.

BUCHANCOVÁ, J., KLIMENTOVÁ, G., ŠULCOVÁ, M., FABIANOVÁ, E. a kolektív. 2003. Pracovné lekárstvo a toxikológia. Martin : Osveta, 2003, 1133 s. ISBN 80-8063-113-1

FORTOUL, T. I., SALGADO, C. R., MONCADA, S. G., SANCHEZ, I. G., LOPEZ, I. E., ESPEJEL, G., 1999. Ultrastructural findings in the murine nonciliated bronchiolar cells (NCBC) after subacute inhalation of lead acetate. In *Acta Veterinaria Brno*, roč. 68, 1999, s. 51-55.

GORBEL, F., BOUJELBENE, M., MAKNI-AYADI, F., GUERMAZI, F., CROUTE, F., SOLEILHAVOUP, J. P., EL FEKI, A. 2002. Cytotoxic effects of lead on the endocrine and exocrine sexual function of pubescent male and female rats. Demonstration of apoptotic activity. *Comptes Rendus Biologies*, roč. 325, 2002, s. 927-940.

HEGEDŮSOVÁ, A. 1998. Ťažké kovy (Cd, Pb, Hg) v pôdach v oblasti južného Slovenska a hygienická nezávadnosť pestovaných druhov zeleniny. In DDP, Nitra : SPU, 1998, s. 61.

HULÍN, I. 2002. Patofyziológia. Bratislava : SAP, 2002, s. 77-102, ISBN 80-89104-05-3

CHENG, Y., MAEDA, A., GOTO, Y., MATSUDA, F., MIYANO, T., INOUE, N., SAKAMAKI, K., MANABE, N. 2008. Changes in expression and localization of X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) in follicular granulosa cells during atresia in porcine ovaries. In: *The Journal of Reproduction and Development*, roč. 54, 2008, s. 454-459.

CHRASTNÝ, V., KOMÁREK, M., HÁJEK, T., 2009. Lead contamination of an agricultural soil in the vicinity of a shooting range. *Environmental Monitoring and Assessment* Feb. 20 [Epub ahead of print].

JIANG, J. Y., CHEUNG, C. K., WANG, Y., TSANG, B. K. 2003. Regulation of cell death and cell survival gene expression during ovarian follicular development and atresia. In: *Frontiers in Bioscience*, roč. 8, 2003, s. 222-237.

KIM, J. M., BOONE, D. L., AUYEUNG, A., TSANG, B. K. 1998. Granulosa cell apoptosis induced at the penultimate stage of follicular development is associated with increased levels of Fas and Fas ligand in the rat ovary. In: *Biology of Reproduction*, roč. 58, 1998, s. 1170-1176.

KOLESÁROVÁ, A., SIROTKIN, A., KOVÁČIK, J. 2008. Endokrinné a vnútrobunkové mechanizmy pohlavného dospievania prasničiek. Vedecká monografia. Nitra : SPU, 131 s. ISBN 978-80-552-0109-2.

KOLESAROVA, A., SLAMECKA, J., JURCIK, R., TATARUCH, F., LUKAC, N., KOVACIK, J., CAPCAROVA, M., VALENT, M., MASSANYI, P. 2008a. Environmental levels of cadmium, lead and mercury in brown hares and their relation to blood metabolic parameters. In *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, roč. 43, 2008, s. 646-650.

KRAMÁROVÁ, M., MASSÁNYI, P., SLAMECKA, J., TATARUCH, F., JANCOVÁ, A., GASPARIK, J., FABIS, M., KOVACIK, J., TOMAN, R., GALOVÁ, J., JURCIK, R. 2005. Distribution of cadmium and lead in liver and kidney of some wild animals in Slovakia. In *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, roč. 40, 2005, s. 593-600.

MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., MAKAREVICH, A. V., CHRENEK, P., FORGACS, Z., ZAKRZEWSKI, M., STAWARZ, R., TOMAN, R., LAZOR, P., FLESAROVÁ, S. 2007. Lead-induced alterations in rat kidneys and testes in vivo. In: *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, roč. 42, 2007, s. 671-676.

MASSANYI, P., TATARUCH, F., SLAMECKA, J., TOMAN, R., JURCIK, R. 2003. Accumulation of lead, cadmium, and mercury in liver and kidney of the brown hare (*Lepus europaeus*) in relation to the season, age, and sex in the west Slovakian lowland. In *Journal of Environmental Science and Health Part. A*, roč. 38, 2003, s. 1299-1309.

MASSANY, P., UHRIN, V., SIROTKIN, A., PAKSY, K., FORGACS, ZS., TOMAN, R., KOVACIK, J. 2000. Effect of Cadmium on Ultrastructure and Steroidogenesis in Cultured Porcine Ovarian Granulosa cells. In *Acta Veterinaria Brno*, roč. 69, 2000, s. 101-106.

MOON, H. J., SEOK, J. H., KIM, S. S., RHEE, G. S., LEE, R. D., YANG, J. Y., CHAE, S. Y., KIM, S. H., KIM, J. Y., CHUNG, J. Y., KIM, J. M., CHUNG, S. Y. 2009. Lactational coumestrol exposure increases ovarian apoptosis in adult rats. In: *Archives of Toxicology*, roč. 83, 2009, č. 6, s. 601-608.

NAMPOOTHIRI, L. P., GUPTA, S. 2006. Simultaneous effect of lead and cadmium on granulosa cells: a cellular model for ovarian toxicity. In *Reproductive Toxicology*, roč. 21, 2006, s. 179-185.

POLÁČEK, Š., KULICH, J., TOMÁŠ, J., VOLLMANOVÁ, A. 2003. Anorganická chémia. Nitra : SPU, 2003, 410 s. ISBN 80-8069-137-1

RAK, A., GREGORASZCZUK, E. L. 2008. Modulatory effect of ghrelin in prepubertal porcine ovarian follicles. In: *Journal of Physiology and Pharmacology*, roč. 59, 2008, s. 781-793.

ROLAKI, A., DRAKAKIS, P., MILLINGOS, S., LOUTRADIS, D., MAKRIGIANNAKIS, A. 2005. Novel trends in follicular development, atresia and *corpus luteum* regression: a role for apoptosis. In: *Reproductive Biomedicine*, roč. 11, 2005, č. 1, s. 93-103.

SHAN, G., TANG, T., ZHANG, X. 2009. The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. In *Journal of Huazhong University of Science and Technology Medical Sciences*, roč. 29, 2009, s. 68-72.

SIROTKIN, A. V., BENCO, A., TANDLMAJEROVA, A., VAŠÍČEK, D., KOTWICA, J., DARLAK, K., VALENZUELA, F. 2008. Transcription factor p53 can regulate proliferation, apoptosis and secretory activity of luteinizing porcine ovarian granulosa cell cultured with and without ghrelin and FSH. In *Reproduction*, roč. 136, 2008, s. 611-618.

SIROTKIN, A. V., SANISLO, P., SCHAEFFER, H. J., FLORKOVICOVÁ, I., KOTWICA, J., BULLA, J., HETÉNYI, L. 2004. Thrombopoietin regulates proliferation, apoptosis, secretory activity and intracellular messengers in porcine ovarian follicular cells: involvement of protein kinase A. In *J. Endocrinol.*, roč. 183, 2004, č. 3, s. 595-604.

SVOBODOVÁ, Z. et al. 1987. Toxikologie vodných živočíchů. Praha : SZN, 1987, 231 s.

VASKIVUO, T. E., TAPANAINEN, J. S. 2003. Apoptosis in the human ovary. In *Reproductive Biomedicine Online*, roč. 6, 2003, s. 24-35.

VOGETSEDER, A., PICARD, N., GASPERT, A., WALCH, M., KAISLING, B., LE HIR, M. 2008. Proliferation capacity of the renal proximal tubule involves the bulk of differentiated epithelial cells. In *American Journal of Physiology*, roč. 294, C22-8.

WANG, C., ZHANG, Y., LIANG, J., SHAN, G., WANG, Y., SHI, Q. 2006. Impact of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in testis. In *Clinica Chimica Acta*, roč. 370, 2006, s. 82-88.

ZHUANG, P., ZOU, B., LI, N. Y., LI, Z. A. 2009. Heavy metal contamination in soils and food crops around Dabaoshan mine in Guangdong, China: implication for human health. *Environmental Geochemistry and Health* Feb 13 [Epub ahead of print].

XU, J., JI, L. D., XU, L. H. 2006. Lead-induced apoptosis in PC 12 cells: Involvement of p53, Bcl-2 family and caspase-3. In: *Toxicology Letters*, roč. 166, s. 160-167.

Pod'akovanie

Práca bola financovaná VEGA grantom 1/0696/08 a APVV projektom 0299-06.

Kontaktná adresa:

Ing. Adriana Kolesárová, PhD., Katedra fyziológie živočíchov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, 949 76 Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel: +421 37 641 4343, E-mail: adriana.kolesarova@yahoo.com

VPLYV HYPERTERMIE NA MIKROMORFOMETRICKÚ ŠTRUKTÚRU OBLIČIEK KRÁLIKOV

THE EFFECT OF HYPERTHERMIA ON THE MICROMORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE RABBIT KIDNEY

Anna Kolesárová, Peter Massányi, Marcela Capcarová, Vladimír Parkányi, Ľubomír Ondruška, Ján Rafay, Norbert Lukáč

ABSTRACT

The aim of this study was to analyse histological changes of rabbit kidney tissue after exposure to high ambient temperature. Animals of the experiment were exposed to $34\pm 1^\circ\text{C}$ (experimental group – p, n=15). Animals of control group were kept in optimal temperature $18-22^\circ\text{C}$ (k, n=16). After 30 days all animals were killed. High ambient temperature markedly influenced kidney structure of young animals. Lower diameters of kidney corpuscles in experimental group of young animals ($87.33\ \mu\text{m}$) were registered. Difference diameter of glomeruli in control group and all experimental group has been significance $p < 0,05$ in adult group $p < 0.001$ in group with young animals. Height of tubules epithelium has been significantly lower ($p < 0.05$) in experimental groups versus control group (young animals without hyperthermia condition). Diameter of kidney tubuli has been significantly lower ($p < 0.001$) in experimental young animals when compared with control group. Results of this experiment confirmed that high ambient temperature $34\pm 1^\circ\text{C}$ had expressive effect on histological structure of the kidney tissue of young rabbit. Markedly affected is mainly structure of nephrotic system which resulted in eventual nephrotic dysfunction as ultimate process of urea secretion failed.

Keywords: hyperthermia, kidney, rabbit, histology

ÚVOD

V súvislosti s globálnymi klimatickými zmenami sa začína venovať systematická pozornosť aj výskumu možných vplyvov vyšších teplôt na živočíšne systémy.

Králiky sú veľmi citlivé na tepelný stres, pretože majú minimálne množstvo potných žliaz a ťažko eliminujú extrémnu telesnú teplotu, ako dôsledok vysokej teploty prostredia, tzv. hypertermie. Tepelný stres je definovaný

ako stav fyziologickej záťaže, v ktorej už zvieratá nie sú dlhšie schopné pasívne regulovať ich teplotnú homeostázu organizmu. Z tohto hľadiska sa králik javí ako vhodné experimentálne zviera pri sledovaní vplyvu klimatickej zmeny na komplex biologických ukazovateľov. Vhodné biokinetické rozpätie teplôt pre králika je $15 - 20^\circ\text{C}$, pričom termoneutrálna zóna sa uvádza $5 - 30^\circ\text{C}$ (Harris, 1994). Marai et al. (2002) uskutočnili experimenty na

dospelých králikoch a na mláďatách oboch pohlaví pri vysokých teplotách počas leta v Egypte. Zistili nepriaznivé účinky hypertermie na rast mláďat, reprodukciu dospelých zvierat a zníženie rezistencie voči chorobám. **Burnett et al. (2006)** uvádzajú komplexné údaje o štandardizácii biochemických a hematologických ukazovateľov králikov. Oblička je parenchymatózny orgán, ktorý svojou mikroskopickou stavbou pripomína tubulóznu žľazu. Má fazuľovitý tvar s hladkým povrchom, opatreným jemným väzivovým púzdrom. Parenchým obličky tvoria nefróny a intrarenálne vývodné močové cesty. Na nefróne rozpoznávame kľbko kapilár (*glomerulum*) obalené dvojlistovým Bowmanovým púzdrom (*capsula glomerula*) a označuje sa ako obličkové teliesko (*corpusculum renis*). Obličkové teliesko má guľovitý tvar a je ich niekoľko miliónov v závislosti od druhu zvierat. Glomerulum sa skladá zo siete navzájom anastomozujúcich kapilár vložených do priebehu artérie ako divotvorná sieť (**Lukáč, et al., 2006**). Obličky patria medzi parenchymatózne orgány, ktoré veľmi citlivo reagujú na kumuláciu cudzorodých látok (**Jančová et al., 2002**). Submikroskopická štruktúra buniek obličky teda závisí nielen od ich umiestnenia v nefróne, ale aj od vplyvu cudzorodých látok v organizme. Súčasťou obličkového telieska je glomerulum, je to miesto prvého kontaktu ECT s renálnym parenchýmom (**Silbernagl a Lang, 2001**). Jeho úlohou je realizácia dostatočne veľkej glomerulárnej filtrácie (**Trojan, 1999**).

Králik je z pohľadu testovania vysokých teplôt na organizmus vhodným modelovým a zároveň produkčným hospodárskym zvierateľom.

V našej práci sme morfometricky charakterizovali základné štruktúry obličky (obličkové teliesko, glomerulum, výšku epitelu a tubuly). Zistené údaje sme vyhodnotili v rámci jednotlivých experimentálnych skupín ako aj kontrolnej skupiny.

MATERIÁL A METODIKA

Do výskumu boli zaradené mäsové línie králikov M 91 (materská albinotická línia) a P 91 (otcovská

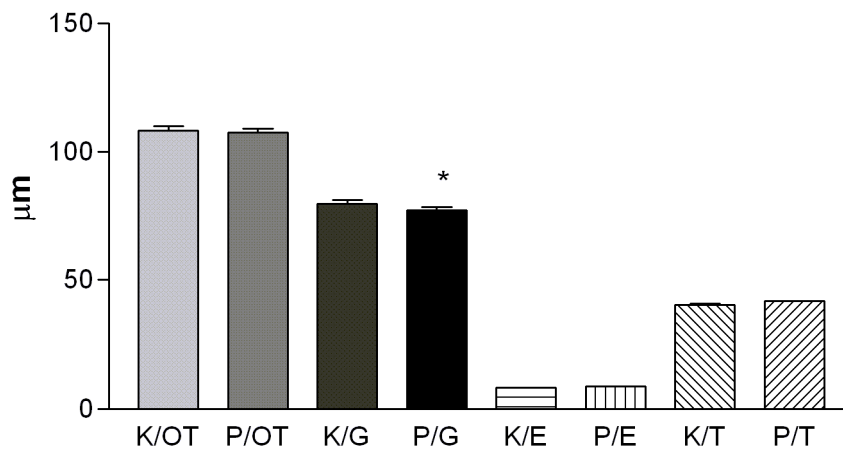
akromalistická línia), na ktorých sa sledoval vplyv vysokej teploty prostredia.

Celkovo bolo do experimentu zaradených 31 jedincov, z toho 19 mláďat a 12 dospelých. Zvieratá boli rozdelené do dvoch základných skupín. Prvú skupinu tvorili kontrolné jedince (K-skupina), kde bolo zaradených 6 dospelých zvierat a 10 mláďat, ktoré boli chované pri fyziologicky optimálnej teplote, 18-22 °C v priebehu 30 dní. Druhú, pokusnú skupinu (P-skupina) tvorilo 6 dospelých zvierat a 9 mláďat, ktoré sa chovali pri teplote nad fyziologické optimum, 34±1 °C. Kontrolné aj pokusné zvieratá boli ustajnené v samostatných chovných kľetkách s ad libidným príjmom krmiva a vody. Krmivo tvorila kompletná krmná zmes pre králikov (KKD – 0/10). Hypertermická teplota pôsobila permanentne 24 hodín. Po porážke a odobrati excízií sa fixovali v 10% formalíne, následne sa odvodnili vzostupným radom alkoholov (70%, 80%, 96%, 100%), presýtili benzénom a zaliali do parafínu. Zaliatie bločky sa následne narezali na sánkovom mikrotóme, sériové rezy hrubé 7-10 µm, poukladané na podložných sklíčkach, boli farbené hematoxylínom a eoziном podľa vypracovanej metodiky (**Vacek, 1974**). Na optickom mikroskope s fotozariadením Olympus CX41, (Olympus, Japan) sme zhotovili mikrofotografie pri konštantnom zväčšení a použitím programu pre analýzu obrazu measureIT (Olympus, Japan) sme kvantifikovali základné morfometrické kritériá jednotlivých preparátov. Z každej vzorky (spolu 31) sme analyzovali minimálne päť histologických rezov a na nich aspoň päť rozličných zorných polí. Na získaných preparátoch sme sledovali: priemer obličkových teliesok (OT), priemer glomerulov (G), priemer tubulov (T) a výšku epitelu tubulov (E). Sledované štruktúry sme analyzovali v mikrometroch (µm). Získané hodnoty morfometrických analýz sme štatisticky vyhodnotili. Vypočítali sme základné štatisticko-variačné parametre a rozdiely medzi skupinami otestovali Bonferroniho testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

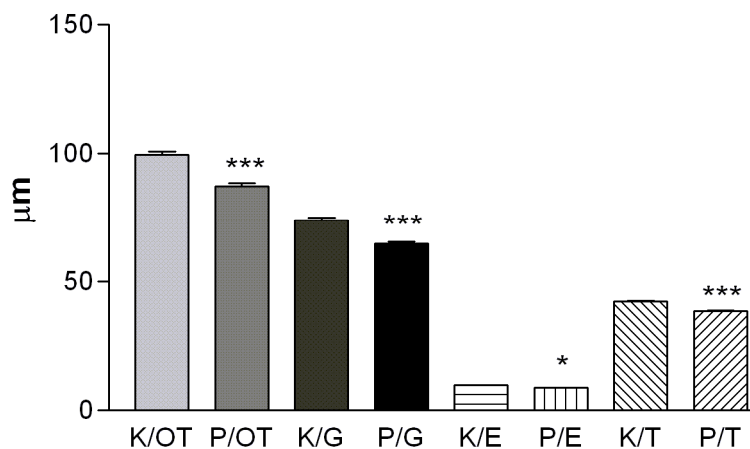
Počas anatomicko-patologickej pitvy sme nezistili výrazné zmeny na obličkách. Vizualne sme zistili červenohnedú farbu, fazuľovitý tvar obličiek králikov s hladkým povrchom, opatreným jemným väzivovým púzdrom. Parenchým obličky na reze nevykazoval žiadne patologické zmeny. Pomocou optickej mikroskopie sme hodnotili histologické preparáty jednotlivých vzoriek obličiek. Nezistili sme histopatologické alterácie ako hypermie, infiltrácie resp. infarkty tkaniva. Histologický obraz bol typický pre obličkové tkanivo, sledovali sme jasne formované glomeruly obalené dvojlistovým Bowmanovým púzdrom utvárajúce obličkové teliesko. Keďže excízie pochádzali z kôrovej časti obličky, výrazné zastúpenie tvorili stočené

Obrázok 1: Priemerné morfometrické hodnoty základných štruktúr obličky dospelých králikov v experimentálnej hypertermickej a pokusnej skupine



K – kontrola; P – pokus; OT - obličkové teliesko; G – glomerulum; E – epitel; T - tubuly

Obrázok 2: Priemerné morfometrické hodnoty základných štruktúr obličky mláďat králikov v experimentálnej hypertermickej a pokusnej skupine



K – kontrola; P – pokus; OT – obličkové teliesko; G – glomerulum; E – epitel; T - tubuly

proximálne tubuly s výrazným resorbčným epitelom. Pre výsledky našej práce sme sa rozhodli morfometricky charakterizovať základne štruktúry obličky (obličkové teliesko, glomerulum a tubuly). Zistené údaje sme vyhodnotili v rámci jednotlivých experimentálnych skupín ako aj kontrolnej skupiny.

Pri hodnotení priemerov obličkových teliesok sme zistili, že v kontrolnej skupine dospelých jedincov boli hodnoty vyššie ($108,4 \pm 18,90 \mu\text{m}$) oproti pokusnej skupine ($107,7 \pm 17,33 \mu\text{m}$). Podobne aj v pokusnej skupine mláďat došlo k poklesu priemeru obličkových teliesok ($87,33 \pm 14,68 \mu\text{m}$) oproti kontrolnej skupine ($99,65 \pm 14,61 \mu\text{m}$). Pri zisťovaní štatistickej významnosti medzi kontrolnou a pokusnou skupinou dospelých králikov sme nezistili preukazný rozdiel ($P > 0,05$). Štatisticky významnú preukaznosť ($P < 0,001$) sme zistili medzi priemerom obličkových teliesok mláďat v pokusnej a kontrolnej skupine.

Priemerná hodnota priemeru glomerulov v kontrolnej skupine dospelých zvierat bola $79,87 \pm 16,13 \mu\text{m}$ a nižšia hodnota v pokusnej skupine ($77,30 \pm 14,93 \mu\text{m}$). Potvrdil sa preukazný rozdiel medzi týmito skupinami na hladine významnosti ($P < 0,05$). V skupine mláďat sa zistila významná preukaznosť ($P < 0,001$) medzi kontrolnou a pokusnou skupinou. Priemer glomerulov kontrolnej skupiny mláďat bol $74,13 \pm 11,62 \mu\text{m}$ a v pokusnej skupine vystavenej hypertermii bol nižší ($64,80 \pm 11,04 \mu\text{m}$).

Väčšina látok nachádzajúcich sa v glomerulárnom filtráte sa vo väčšej či menšej miere resorbujú v tubuloch (Trojan, 1992). Priemerná hodnota priemeru tubulov kontrolnej skupiny dospelých jedincov bola $40,50 \pm 4,500 \mu\text{m}$ a v pokusnej skupine sme zistili, naopak ako u predchádzajúcich štruktúr, vyššiu hodnotu ($41,76 \mu\text{m}$). Medzi týmito skupinami sa nepotvrdil preukazný rozdiel. Naopak u mláďat medzi kontrolnou a pokusnou skupinou sa potvrdila významná preukaznosť ($P < 0,001$). Priemerná hodnota priemeru tubulov u mláďat králikov v kontrolnej skupine bola $42,39 \pm 4,584 \mu\text{m}$ a v pokusnej skupine $38,54 \pm 5,539 \mu\text{m}$.

Pri hodnotení výšky epitelu v týchto skupinách sme namerali v priemere vyššiu hodnotu u pokusných dospelých jedincov ($8,919 \pm 1,127 \mu\text{m}$) ako u kontrolných zvierat (preukaznosť sa nepotvrdila) a naopak, u pokusných mláďat vystavených podmienkam vysokej teploty sme zistili priemernú nižšiu hodnotu výšky epitelu ($8,900 \pm 1,521 \mu\text{m}$) ako v kontrolnej skupine. V tomto prípade sa nám potvrdila štatisticky významná preukaznosť ($P < 0,001$) (Tabuľka 1).

Fyda et al. (1993) zistili výraznú prepojenosť funkčnosti obličiek a hypertenziou pri hypertermických stavoch potkanov. Zvýšené teploty prostredia spôsobili zvýšenie hladín PGE1 (prostaglandínu E1) u potkanov čo vyvolalo involúciu hypotalamických centier pre syntézu AVP (arginín vazopresínu). Tento záver je možné porovnať s našimi zisteniami. Keďže zvýšená teplota spôsobuje pravdepodobne pokles periférnej hladiny AVP, čo spôsobuje zmeny vo

vaskulárnom tonuse a tým aj poruchy prekrvenia obličiek čo môže vyvolať hypoplastický efekt. Seham et al. (2007) zistili, že hypertermické stavy vyvolávajú alterácie funkčnosti a scintigrafickej štruktúry obličiek. Nepopisuje podrobne jednotlivé štruktúry, len sa zameriava na veľkosť jednotlivých častí (cortex, medula) obličky. Zistili, že u hypertermických jedincov dochádza k zmenšeniu objemu kôry obličiek. V našom prípade, keďže sme posudzovali histologické preparáty pochádzajúce z kôry obličiek, sú naše zistenia zmenšenia najvýznamnejších funkčných zložiek obličiek porovnateľné s vyššie uvedeným zistením. Baker et al. (1982) sledovali kumulovaný vplyv hypertermie a radiácie na obličky myši. Ako ukazovatele poškodenia obličiek využili stanovenie koncentrácie celkových bielkovín a albumínov v moči. Zistili že krátkodobé pôsobenie teploty ($42,5^\circ\text{C}$) priamo na oblasť obličiek nevyvoláva proteinúriu. Dewoskin et al. (1993) vo svojich experimentoch na potkanoch pozorovali čiastočný vplyv hypertermie (41°C) na koncentráciu medi a zinku v obličkách. Taktiež zistili, že systematická hypertermia zvyšuje nefrotoxický účinok cisplatínu používaného v chemoterapii nádorových ochorení. Zager a Altschuld (1986), zistili výrazný vplyv hypertermie na prejavy ischemického renálneho zlyhania. Pravdepodobne zvýšená teplota spôsobuje zvýšenú tvorbu energie a vznik oxidatívneho stresu počas ischemickej resp. postischemického obdobia. Na našich preparátoch sme nezistili ischemické stavy tkaniva, no pokiaľ by dochádzalo k priamemu poškodeniu endotelialných buniek krvných kapilár obličkového tkaniva, došlo by k výraznej hyperémii resp. diapedéze erytrocytov, čo sme nezistili. Redaelli, et al. (2002) vo svojich experimentoch potvrdili expresiu HSP 72 (Heat shock protein – proteíny teplotného šoku) renálnych buniek po expozícii zvýšenej teploty v začiatkoch pôsobenia, no neskôr sa pozoruje zvýšenie expresie HSP 32.

Uvedené štatisticky významné zmeny možno vysvetliť na základe nedostatočne vyvinutých termoregulačných mechanizmov u mláďat králikov. Sledovaná teplota

Tabuľka 1: Kvantitatívne vyhodnotenie základných štruktúr obličiek králikov

	K/D	P/D	K/M	P/M
Priemer obličkových teliesok (µm)				
n	126	142	169	136
priemer	108,4	107,7	99,65	87,33***
Sd	18,90	17,33	14,61	14,68
v%	17,43	16,10	14,67	16,81
medián	104,7	105,4	99,85	86,87
minimum	62,01	67,36	62,45	46,11
maximum	170,2	148,0	149,2	129,0
Priemer glomerulov (µm)				
n	126	142	169	136
priemer	79,87	77,30*	74,13	64,80***
SD	16,13	14,93	11,62	11,04
v %	20,19	19,32	15,68	17,03
medián	77,91	77,79	74,03	65,96
minimum	40,01	37,30	43,01	27,82
maximum	122,6	108,9	104,1	89,64
Výška epitelu (µm)				
n	599	599	991	880*
priemer	8,380	8,919	9,775	8,900
SD	1,092	1,127	1,489	1,521
v %	13,03	12,64	15,24	17,09
medián	8,360	8,807	9,666	8,841
minimum	5,043	6,010	5,637	5,062
maximum	11,67	12,55	15,71	15,59
Priemer tubulov (µm)				
n	299	301	489	424
priemer	40,50	41,76	42,39	38,54***
SD	4,500	3,768	4,584	5,539
v %	11,11	9,02	10,81	14,37
medián	40,10	41,68	41,99	37,87
minimum	23,81	32,08	29,66	26,87
maximum	76,66	53,22	55,81	70,56

K – kontrola; P – pokus; D – dospelé jedince; M – mláďatá; n – počet pozorovaní; SD – smerodajná odchýlka; v % - variačný koeficient

spôsobuje atrofické zmeny základných funkčných štruktúr obličkového parenchýmu.

ZÁVER

Na histologických preparátoch obličiek získaných od pokusných zvierat sme sledovali vplyv vyššej teploty (34±1 °C) na základné štruktúry obličiek (obličkové telieska, glomeruly, výšku epitelu a tubuly) a porovnávali s preparátmi obličiek zvierat zaradených do kontrolnej skupiny.

Z práce vyplývajú nasledujúce štrukturálne zmeny:

- nezistili sme výrazne histopatologické zmeny obličkového tkaniva vo vzorkách hypertermicky chovaných zvierat,
- v pokusných skupinách dospelých jedincov aj mláďat boli hodnoty priemerov obličkových teliesok nižšie ako v kontrolných skupinách,
- štatisticky významná preukaznosť (P<0,001) bola zistená medzi priemerom obličkových teliesok mláďat v pokusnej skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou,
- priemer glomerulov bol nižší v pokusných skupinách ako v kontrolných u dospelých aj mláďat, rozdiel bol

štatisticky významný u dospelých jedincov (P<0,05) a mláďat (P<0,001),

- výška epitelu tubulov bola u dospelých pokusných zvierat vyššia (preukazný rozdiel sa nepotvrdil), u pokusných mláďat bola nižšia. Medzi kontrolnou a pokusnou skupinou sa u mláďat potvrdila významná preukaznosť (P<0,001),
- priemer tubulov u dospelých pokusných zvierat bol vyšší (nepotvrdil sa preukazný rozdiel), u pokusných mláďat bol nižší (potvrdila sa významná preukaznosť P<0,001).

Na základe uvedených zistení možno konštatovať štatisticky významný negatívny vplyv vyššej teploty chovného prostredia 34±1°C na mikromorfometrické hodnoty základných štruktúr aktívneho obličkového tkaniva mláďat králikov. Výrazné zmeny základných zložiek nefrónov môžu ovplyvniť nefrotický systém a tým narušiť homeostázu urenálnnej exkrécie.

LITERATÚRA

BAKER, B. G., SAGER, H. T., ELKON, D., CONSTABLE, W., RINEHART, L., WILLS, M., SAVORY, J., LACHER, D. 1982. The response of kidney to ionizing

radiation combined with hyperthermia induced by ultrasound. In *Radiology*, roč. 145, 1982, č.5, s. 515-519.

BURNETT, N., MATHURA, K., METIVIER, K. S., HOLDER, R. B., BROWN, G. CAMPBELL, M. 2006. An investigation into haematological and serum chemistry parameters of rabbits in Trinidad. In *World Rabbit Science*, roč. 14, 2006, č.2, s. 175 – 187.

DEWOSKIN, R. S., PAGE, R. L., RIVIERE, J. E. 1993. Kidney trace metal response to combined cisplatin (CDDP) and hyperthermia. In *International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, roč. 9, 1993, č. 4, s. 529-37.

FYDA, D., VEALE, W., PITTMAN, Q. 1993. Suppression by central AVP of prostaglandin E1 hyperthermia in one-kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats. In *AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, roč. 264, 1993, č. 1, s. 143-148.

HARRIS, I. 1994. The laboratory rabbit. In *ANZCCART Facts Sheet., News*, roč.7, 1994, č. 4, s. 1 – 8.

JANČOVÁ, A., MASSÁNYI, P., GÁLOVÁ, J. 2002. The concentration of cadmium and lead in liver and kidneys in *Apodemus flavicollis* and *Clethrionomys glareolus*. In: *Folia Veterinaria*, roč. 46, 2002, č. 2, s. 65-67.

LUKÁČ, N., MASSÁNYI, P., TOMAN, R., TRANDŽÍK, J., CAPCAROVÁ, M., STAWARZ, R., CIGÁNKOVÁ, V., JAKABOVÁ, D., KOŽÁKOVÁ, I., FORGÁCS, Z., SOMOSY, Z. 2006. Prejavy toxicity olova a ortuti. In: *Kováčik, J., et al.: Biologické aspekty zvyšovania kvality surovín a potravín živočíšneho pôvodu*. Vedecká monografia, 2006, SPU, Nitra, 145-155.

MARAI, I. F. M., HABEEB, A. A. M., GAD, A. E. 2002. Rabbit's productive, reproductive and physiological

performance traits as affected by heat stress: a review. In *Livestock Production Science*, roč. 78, 2002, č.4, s. 71 – 90.

REDAELLI, C. A., TIEN, Y-H., KUBULUS, D., MAZZUCHELLI, L., SCHILLING, M. K., WAGNER, A. C. C. 2002. Hyperthermia Preconditioning Induces Renal Heat Shock Protein Expression, Improves Cold Ischemia Tolerance, Kidney Graft Function and Survival in Rats. In *Nephron.*, roč. 90, 2002, č. 4, s. 41-59.

SEHAM, M., ABDELHAMID, H., ELGAZZAR, H. E., SATI G., MERCI, M. 2007. Hyperthermia Alters Kidney Function and Renal Scintigraphy. In: *Am. J. Nephrol*, roč. 264, 2007; č. 27, s 315-321.

SILBERNAGL, S., LANG, F., 2001. Atlas patofyziologie člověka. Praha, Grada Publishing, spol. s r.o., s.404. ISBN 80-7169-968-3.

TROJAN, S. 1992. Fyziológia 1. Martin, Osveta, s.411. ISBN 80-217-0452-7.

TROJAN, S. 1999. Lékařská fyziologie. Praha, Grada Publishing, spol., s.616. ISBN 80-7169-788-5.

VACEK, Z. 1974. Histológia a histologická technika. Martin, Osveta, s.388.

ZAGER R. A., ALTSCHULD R. 1986, Body temperature: an important determinant of severity of ischemic renal injury. In *The American Journal of Physiology*, roč. 12, 1986, č. 251, s.87-93.

Pod'akovanie

Práca bola finančne podporená projektom APVV-0299-06 a VEGA 1/4347/07

Kontaktná adresa:

Ing. Anna Kolesárová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, KVL, Trieda Andreja Hlinku 2. E-mail: kolesarovanna@gmail.com

INTOLERANCIA ORGANIZMU NA VYBRANÉ RASTLINNÉ KOMODITY, JEJ PRÍZNAKY, DIAGNOSTIKA A DETEKCIA PRÍČINNÝCH ALERGÉNOV

FOOD INTOLERANCE TO SELECTED PLANT PRODUCTS, ITS SYMPTOMS, DIAGNOSTIC METHODS AND CAUSAL ALLERGENS DETECTION

Dagmar Kozelová, Alica Bobková, Ľubomír Lopašovský, Marek Šnirc

ABSTRACT

Human body utilizes food sources for its growth and organism prospering, it obtains energy to ensure all its functions. Some components of food are not tolerated and result in allergic reactions. Early diagnostic and targeted treatment can significantly improve life of the people suffering from these diseases. In the article we described the influence of selected plant products for the human body and allergen detection methods.

Keywords: food intolerance, cereal and soya allergens, food allergy in childhood, atopic eczema, food allergen detection methods

ÚVOD

Kvalita životného prostredia a jeho zložiek, akými sú ovzdušie, pôdny typ a jeho štruktúra, ako aj nadmorská výška, potreba hnojenia a dostatok závlahy, striedanie plodín v rámci osevného postupu, vhodná technológia výroby, ekonomické, personálne a ďalšie podmienky výroby v poľnohospodárskych, lesných, lúčnych, vodných ekosystémoch výrazne vplyvajú na výslednú kvalitu poľnohospodárskych produktov. Alokácia producenta, využívanie pôdy a ostatných prírodných zdrojov, uvádzané geografické a prírodné faktory sú v jednotlivých výrobných oblastiach značne diferencované (Kozelová, 2005). Spotrebiteľ pri výbere potravy citlivo reaguje na

kvalitu a bezpečnosť surovín a potravín, dátum resp. rok výroby a odporúčaný termín spotreby, dostupnosť potravín ako aj ich cenu. Kúpyschopnosť obyvateľstva, genetické faktory a reakcie ľudského organizmu na príjem potravy sa tiež odrážajú na zdravotnom stave obyvateľstva a jeho výžive v celosvetovom meradle, ako v mestských, tak aj vo vidieckych regiónoch.

V niektorých civilizovaných krajinách za posledné dve desaťročia stúpol výskyt alergických ochorení na 30 – 40 % populácie (Hruškovič, 2003). Alergén je definovaný ako antigén, ktorý je schopný u precitlivelych ľudí navodiť alergickú (hypersenzitívnu) odpoveď a súčasne je to neškodná látka, ktorá u zdravých ľudí nevyvoláva žiadnu

imunitnú odpoveď (Ferenčík et al., 2006). Podľa Hrubiška a Kayserovej (2003) sú to látky prevažne proteínového alebo glykoproteínového charakteru s molekulovou hmotnosťou zvyčajne 5 – 100 kDa (kiloDalton). Za istých okolností sa alergénom môžu stať aj látky nebielkovinového charakteru (sacharidy, lipidy a anorganické látky).

Potravinová alergia sa vyvíja u jedincov s vrodenou predispozíciou a vplyvom vnútorných faktorov, ktoré ovplyvňujú rozvoj precitlivelosti (nezrelosť imunitného systému tráviaceho traktu alebo jeho sekundárny deficit napr. po črevnej infekcii, zloženie jedálneho lístka, vplyv životného prostredia na osídlenie črevnej mikroflóry atď.). U postihnutých jedincov dochádza po opakovanom požití potravy k rozvoju patologickej imunitnej reakcie (Ettlerová et al., 2007).

Potravinová alergia na antigény rastlinného pôvodu je podľa Breitenedera a Ebnera (2001) častejšia u dospelých, väčšinou ako dôsledok inhalačnej senzibilizácie, najčastejšie peľovými alergénmi. Klasickým prejavom je orálny alergický syndróm. Precitlivosť organizmu vzniká nielen po inhalácii potravinových častí (napr. prach z cesnaku, pšeničná múka), ale aj po kontakte kože s nimi (napr. citrusové plody, zelenina). Podľa Buchanca (2001) sú častým problémom skrížené reakcie na jednotlivé, v rámci skupiny príbuzné (broskyne – slivky - banány, hrach – sója – pšenica - šošovica) aj vzdialené (vaječný bielok - vaječný žltok - perie), alergény. Existuje aj skrížená reakcia medzi potravinovými a inhalačnými alergénmi.

Podľa Giampietra et al. (2001) si alergici majú dať pozor aj na skryté alergény v prípravkoch používaných v homeopatii a v „tradičnej“ medicíne, ktorá využíva liečivé účinky z prírodných zdrojov najmä rastlinného pôvodu. Najčastejšie sú to: aníz, atropín, bazalka, bobkový list, cesnak, ďumbier, feniklový olej, jahody, karmínová červeň, koriander, kôpor, sladké drevo, med – propolis, pagaštan, peľové zrnká, pór, salicyláty, škoricca, tymián a iné. Breiteneder (1998a) za hlavné alergény označuje glykoproteíny s molekulovou hmotnosťou 10 – 60 kDa, ktoré nemajú jednotné biochemické ani imunochemické vlastnosti. Tieto proteíny sú väčšinou odolné na pôsobenie tepla, kyselín, proteolytické enzýmy a trávenie. Fyziologické procesy trávenia znižujú množstvo intaktných antigénov, ktoré sú schopné penetrovať do črevnej sliznice a kontaktom s imunokompetentnými bunkami vyvolať imunitnú reakciu.

Potravinová alergia vzniká veľmi často u atopických detí (s vrodeným sklonom k zvýšenej tvorbe protilátok vedúcich k vzniku alergického ochorenia) s narušeným slizničným imunitným systémom v zažívacom systéme (Buchanec, 2001). Skrížená reakcia medzi peľmi a potravinami sa vyskytuje u starších detí so senzibilizáciou na peľ. U týchto detí dochádza najskôr k rozvoju alergickej rinitídy v reakcii na peľ stromov a neskôr k rozvoju pridružených potravinových alergií (Zuberbier a Ree, 2006).

Podľa Boyana et al. (1987) 30 % detí alergických na potraviny sa stane klinicky tolerantnejšími do 3 rokov vývoja, 40 % do 6 rokov, 50 % do 9 rokov a 53 % do 12 rokov. Vývoj klinickej tolerancie na potraviny je u každého dieťaťa individuálny. Hourihane et al., (2002)

poukazujú na skutočnosť, že lekárska starostlivosť o dieťa alergické na potraviny si vyžaduje súbežné diétne poradenstvo a riadenie, elimináciu rizík a vypracovanie havarijných plánov.

ALERGÉNY OBILNÍN

Významnou súčasťou obilia je glutén (lepok). Lepok je proteínová časť obilnej múky. Glutén zriedkavo vyvoláva tvorbu IgE-protilátok, gluténovú intoleranciu (celiakiu) spôsobuje komplexná imunologická reakcia (špecifické protilátky IgA a IgG a IV. typ imunitnej reakcie) (Hrubiško, Kayserová, 2003). Proteíny, ktoré vyvolávajú celiakiu, majú odlišné názvy podľa pôvodu múky: gliadín pochádzajú z obilnín, sekalín sú z námelu, hordeíny z jačmeňa (Bidat, Loigerot, 2005) avenín z ovsu, zeín z kukurice. Prolamíny, najmä gliadín, sú toxické a poškadzujú sliznicu dvanástnika a hornú časť bedrovníka (Ferenčík et al., 2006).

Celiakia je celoživotné autoimunitné ochorenie, postihuje tenké črevo a je vyvolané intoleranciou na gliadinovú frakciu gluténu u geneticky predisponovaných jedincov (Bartušek et al., 2008). Gliadín tu pôsobí ako antigén, ktorý s protilátkami vytvára imunitné komplexy v črevnej sliznici a tak dochádza k jej poškodeniu s rôznym stupňom atrofie sliznice. Celiakia sa prejavuje rôznymi črevnými a mimočrevnými príznakmi.

Murch (2001) uvádza, že gastrointestinálne hypersenzitívne ochorenia môžu byť výlučne alebo parciálne sprostredkované imunoglobulínom E (IgE) alebo je mechanizmus ich vzniku podmienený bunkovou hypersenzitívnosťou. Príznaky sa líšia nástupom, závažnosťou a dĺžkou pretrvávaním. Úvodné prejavy ako nevoľnosť, vracanie, bolesti brucha až kolika a hnačka sú vyjadrením reflexnej snahy gastrointestinálneho systému o rýchlu elimináciu alergénu z črevnej sliznice v snahe zabrániť jeho vstrebávaniu a celkovej reakcii. Včasná (IgE sprostredkovaná) gastrointestinálna precitlivosť je obvykle sprevádzaná aj príznakmi z iných orgánových systémov (koža, respiračný systém, sliznice).

Diagnóze brušného ochorenia predchádza skúmanie zdravotného stavu a lekárske vyšetrenie (lekár by mal vždy mať na pamäti, že klinické prejavy môžu byť veľmi variabilné). Potom by mal pacient podstúpiť niektoré sérologické vyšetrenie, ako je detekcia rôznych druhov protilátok (Patriarca et al., 2009).

Biopsia tenkého čreva tvorí základ pre diagnostiku brušných ochorení. Existujú pacienti, ktorí po pozitívnej biopsii z čreva nemajú prakticky žiadne zdravotné problémy (Bartušek et al., 2008). Pri intolerancii lepku treba vylúčiť zo stravy potraviny na báze pšenice, jačmeňa, raže. Ovos býva často povolený v maximálnej dávke 50 g/deň (Bidat, Loigerot, 2005).

VPLYV SÓJE NA ĽUDSKÝ ORGANIZMUS

Sója obsahuje priemerne 38 % proteínov, čo je až dvojnásobný obsah v porovnaní s ostatnými strukovinami. Pre nízky obsah sacharidov (30 %) je sója vhodná aj pre diabetikov. Obsahuje 6 % vlákniny, preto sú produkty zo sóje často používané v redukčných diétach. Z vitamínov sú zastúpené hlavne vitamíny A, B1, B2, E. Sója je zároveň zdrojom cenných fytochemikálií, no jej významnú zložku tvoria aj ďalšie látky. Lipidy sóje umožňujú výrobu sójového oleja, ktorý obsahuje prevažne nenasýtené

masťné kyseliny a tak pomáha znižovať hladinu cholesterolu. Vysoké množstvo stopových prvkov, lecitínu a vlákniny významnou mierou prispieva k charakterizácii sóje ako zdravej a hodnotnej plodiny. Jej veľkou výhodou je, že neobsahuje takmer žiaden sodík a teda jej konzumácia nespôsobuje zadržanie vody tkanivom. Výskyt uvedených látok poskytuje dostatočnú nutričnú hodnotu a zároveň má preventívny účinok voči určitým typom ochorení. Sójové zrná obsahujú izoflavóny (rastlinné estrogény), pomáhajúce udržiavať hormonálnu rovnováhu. Pozitívne pôsobia pri regulácii menštruačného cyklu a pri zmiernení nepríjemných prejavov menopauzy. Prírodný estrogén pomáha u žien predchádzať rakovine prsníka a u mužov znižuje riziko rakoviny prostaty. Zároveň sa podieľa na znižovaní rizika infarktu, aterosklerózy, trombózy, mozgovej príhody a väčšiny civilizovaných chorôb (Usui, 2006).

Napriek uvedeným pozitívam musíme brať do úvahy aj nasledovné fakty. Sója je štvrtým najčastejším alergénom v USA. Alergénmi sóje sú:

- β -konglycinín – Gly m 1, 30 kDa – hlavný sójový alergén zodpovedajúci za 65 % reakcií. Má minimálne 16 epitopov viažucich IgE. Patrí do vicilínovej skupiny zásobných proteínov, je homológny s vicilínom arašidov (skrivená alergia),
- α -konglycinín, glycinín a Kunitzov sójový trypsin (minoritné alergény) uvádza (Hrubiško, Kayserová, 2003).

Podávanie sójového mlieka, resp. hydrolyzátov sójovej bielkoviny deťom alergickým na kravské mlieko ako náhradná potrava je podľa Hrubiška, Kayserovej (2003) nevhodné, pretože až 20 % detí alergických na kravské mlieko sa stáva alergickými aj na niektorý z alergénov sóje. Sójový lecitín (používa sa ako emulgátor) je homológny s inými lecitínmi (arašid, kukurica, horčica a iné semená, ako aj vajcový žltok a mlieko).

Bukovský a Frolkovičová (2009) uvádzajú, že v štúdiách realizovaných na malom počte dojčiat alergických na sóju sa zistilo, že 5 – 10 % dojčiat začalo tolerovať sóju v priebehu 2 - 3 rokov. Väčšina týchto dojčiat je alergická na mlieko a vajcia, niektoré sú však alergické na sóju alebo pšenicu. Odhad alergie na sóju u dojčiat je 0,1 - 0,28 %. Ak predpokladáme, že 70 % týchto dojčiat zo svojej sójovej alergie vyrastie, odhadovaná prevalencia alergie na sóju v celkovej populácii by mohla byť 0,02 – 0,056 %. Tento odhad je však založený na predpoklade, že všetky alergie na sóju sa začali v dojčenskom veku. Výskyt alergie na sóju v bežnej populácii nie je pravdepodobne vyšší ako 0,2 % populácie.

Molekulárne klasifikácie alergénov môžu byť použité na vytvorenie korelácie medzi sekvenciou a štruktúrnymi podobnosťami a cross-reactivity medzi alergénmi homologickými, na vymedzenie spoločných vlastností alergénov a na vyvedenie možných faktorov, ktoré spôsobujú alergénne proteíny (Radauer, Breiteneder, 2009).

METÓDY ZALOŽENÉ NA IDENTIFIKÁCIU PROTEÍNOV

Existuje množstvo metód, ktoré sú zamerané na separáciu a identifikáciu proteínov a peptidov. Príkladom je izoelektrická fokusácia, afinitná chromatografia a 2-D elektroforéza. Problémom je však často nedostatočné

rozlíšenie nového geneticky modifikovaného proteínu (GM proteínu) od konvenčného. Najčastejšie používanou metódou na identifikáciu GM proteínu je ELISA. Táto metóda sa tiež označuje ako sendvičová, pretože identifikovaný proteín sa nachádza medzi protilátkou naviazanou na pevnú fázu a sekundárnou protilátkou, ktorá je značená enzýmom, alebo druhou antigén viažucou protilátkou, na ktorú je viazaný enzým (Miraglia et al., 2004).

K pomerne novým metódam identifikácie GMO patrí polymerázová reťazová reakcia (PCR) - ELISA. Je založená na špecifickej hybridizácii imobilizovaného PCR produktu značeného biotínom so sondou značenou digoxigenínom. Táto metóda je časovo menej náročná, pretože nevyžaduje blotting ani nebezpečné farbenie etídium bromidom (Deisingh a Bardie, 2005).

Proteíny sú termosenzitívne molekuly, zatiaľ čo DNA je relatívne termostabilná. Po spracovaní potravín sú proteíny len veľmi ťažko detekovateľné pretože podliehajú denaturácii. DNA je pri zahrievaní poškodená, no napriek tomu detekovateľná. Detekcia špecifických proteínov prostredníctvom protilátok je približne stokrát menej citlivou detekčnou metódou v porovnaní s PCR (Mayer et al., 1996). Časová náročnosť je ďalším z aspektov, ktoré znevýhodňujú ELISA ako detekčnú metódu v porovnaní s PCR. Presvedčivým argumentom je tiež fakt, že isté proteíny sa exprimujú len v špecifických oblastiach rastlín ako sú listy, plody, peľ, zatiaľ čo genetická informácia je prítomná v celej rastline (Gachet et al., 1999).

Porovnaním imunologických a DNA orientovaných metód sa zaoberali Bošiak et al. (2008), ktorí v prípade sójového pútru potvrdili vyššiu citlivosť konvenčnej ELISA testovacej sady ako DNA orientovanej metódy založenej na detekcii prítomnosti druhovo špecifického génu metódou „end-point“ PCR.

METÓDY DETEGUJÚCE ŠPECIFICKÉ SEKVENCIE DNA

DNA je relatívne odolnou molekulou voči pôsobeniu zvýšenej teploty a kyslosti prostredia. Najspôhlivejšie metódy detekcie GMO sú založené na identifikácii DNA (Hubner et al., 2001).

Na identifikáciu netransgénnych plodín a ich geneticky modifikovaných odrôd je možné použiť viacero analytických metód. Okrem metód analýzy charakteristických proteínov sa viac využíva druhá skupina postupov založených na molekulárno-biologickej analýze sekvencií DNA, ktorými sa GMO odlišujú od svojich nedomifikovaných izogénnych líní. Jednou z najspôhlivejších metód detekcie GMO je PCR. Výber cieľovej sekvencie je základným aspektom ovplyvňujúcim špecifickosť detekcie GMO prostredníctvom PCR. Ideálna cieľová sekvencia na identifikáciu a kvantifikáciu transgénneho obsahu je sekvencia vyskytujúca sa iba v jedinej geneticky modifikovanej plodine, v stabilnom a známom počte kópií vzhľadom na génóm (Berdal a Holst-Jensen, 2001).

PCR metódy môžeme na základe špecifickosti cieľovej sekvencie rozdeliť do štyroch skupín. Najmenej špecifickou metódou je „skriningová metóda“ detegujúca DNA elementy ako sú promótory a terminátory prítomné v mnohých druhoch GMO. Druhú skupinou metód detekcie GMO prostredníctvom PCR sú „génovo špecifické metódy“ detegujúce gén kódujúci špecifickú vlastnosť. Príkladom je

Bt gén kódujúci toxín voči víjačke kukuričnej alebo epsps gén kódujúci toleranciu voči herbicídu glyfosfátu. Tretím stupňom špecificity sú „konštrukt-špecifické“ metódy, ktorých cieľom je sekvencia medzi dvoma DNA elementami. Napríklad sekvencia medzi promótorom a funkčným génom (Meyer, 1999; Štefanovičová et al., 2000).

Využitím génovej banky pri identifikácii alergénnych zložiek potravín sa taktiež zaoberá Židek et al. (2008), ktorý poukazuje na využiteľnosť globálnej voľne dostupnej databázy DNA sekvencií pre návrh detekčných nástrojov využiteľných pri kontrole potravín.

PCR metóda

PCR použitá v priemysle slúži na určenie a potvrdenie pôvodu a kvality potravín a na detekciu mikrobiálnej kontaminácie (Oravcová et al., 2006) a taktiež na určenie prítomnosti nízkej koncentrácie alergénov (Holzhauser et al., 2000). Pre svoju citlivosť a špecifickosť sa používa na detekciu geneticky modifikovaných organizmov (GMO) a produktov z nich získaných (Meyer, 1999; Štefanovičová et al., 2000).

V princípe, PCR kvantifikačné metódy sú vykonávané buď po skončení PCR cyklu (end-point PCR), alebo počas PCR (Real-Time PCR). End-point analýza je založená na porovnaní finálneho množstva amplifikovanej DNA dvoch cieľových sekvencií. Prvou z nich je umelo skonštruovaná DNA, ktorá je pridaná v známom množstve a je amplifikovaná spolu s cieľovou DNA. Podmienkou tejto metódy je, aby sa obe DNA sekvencie amplifikovali rovnako efektívne. Výsledné produkty amplifikácie sú vizualizované gélovou elektroforézou. V prípade, že sú oba výťažky rovnako veľké, usudzuje sa, že počiatočné množstvo bolo taktiež rovnaké (Holst-Jensen, 2001).

Real-Time PCR

Detekcia GMO prostredníctvom Real-Time PCR je založená na paralelnej amplifikácii transgénu a endogénneho referenčného génu, ktorý predstavuje kontrolu pri amplifikácii cieľovej DNA vo vzorke. Real-Time PCR systém umožňuje kvantifikáciu v reálnom čase meraním fluorescenčného signálu emitovaného z jednej alebo z dvoch špecifických hybridizačných prób, alebo z DNA viažucej sa fluorescenčnej farbičky SYBR Green I. Existujú rôzne typy hybridizačných prób, ktoré sú vhodné pre Real-Time PCR: TaqMan sondy, Scorpion priméry, „molekulárne majáky“ a FRET próby. V súčasnosti je na identifikáciu GMO Real-Time PCR najlepšia metóda využívajúca TaqMan sondy. Použitie SYBR Green je menej špecifickým spôsobom detekcie Real-Time PCR (Debote et al., 2006).

Presnosť tejto metódy je založená na matematickom modeli, na ktorom sú založené kvantitatívne metódy. Real-Time PCR sa stala štandardnou metódou pre mnohé aplikácie. Citlivosť tejto metódy umožňuje detekciu aj malého počtu kópií, ba dokonca aj jedinej kópie cieľovej DNA. Detekčné rozmedzie tejto metódy je približne od 30 ng do 30 pg jadrovej DNA. Výhodou tejto metódy je fakt, že PCR produkt nemusí byť následne analyzovaný, čím sa predíde možnej kontaminácii (Miraglia et al., 2004). Špecifickosť Real-Time PCR s použitím SYBR Green analyzovali aj autori Bošiak, Židek a Golian (2009). Analýza potvrdila vysoký detekčný limit prítomnosti

analyzovaného génu, avšak poukázala na problémy spojené s nešpecifickým nasadením primérov a následným vznikom nešpecifických produktov pri veľmi nízkych koncentráciách templátu.

Ďalšie metódy identifikácie plodín

Metóda microarray umožňuje analýzu jediného alebo vybranej skupiny genetických elementov vo veľkom počte v jedinom hybridizačnom experimente. Čipy sú vyrobené zo skla, silikónu alebo plastu. Táto metóda je usposobená na určenie prítomnosti, resp. neprítomnosti širokej škály genetických modifikácií. Každá jamka obsahuje početné kópie sond. Nasleduje hybridizácia s fluorescenčne značenou DNA. Každá nenaviazaná, prípadne len slabovo viazaná sonda je po premytí odstránená. Kvantita obsahu GM materiálu je určená intenzitou fluorescencie, ktorá je detegovaná v každej jamke platničky. Aj táto metóda má však isté nevýhody. Problémom je, že kvapalina s fluorescenčne značenými fragmentmi je počas hybridizácie nehybná. Problematická je tiež skutočnosť, že jamky s vysokou koncentráciou sond sféricky zabraňujú hybridizácii. Týmto komplikáciám sa dá predísť využitím electroarray systému. Pri tomto systéme je fluorescenčne značená negatívne nabitá DNA viazaná k jednotlivým jamkám, ktoré majú kladný náboj. Výhodou microarray systému je jeho nízka časová náročnosť a vysoká výkonnosť. Avšak je potrebné poznamenať, že tento systém je náročný, čo sa týka interpretácie množstva dát, čo je zrejme dôvodom nedostatočnej snahy používať túto metódu rutinne. Ďalšou alternatívnou metódou identifikácie GMO je metóda SPR (Surface plasmon resonance). Táto metóda používa tenkú vrstvu kovovej fólie ako senzoritívny čip (zvyčajne obalený zlatom), na ktorý sú naviazané biomolekuly (DNA, oligonukleotidy). Na povrchu sa nachádza tekutina obsahujúca naviazané molekuly. Biošpecifické interakcie medzi časticami sú sledované polarizovaným svetlom, ktoré je odrážané z povrchu kovového filmu. Ak sa spoja molekuly z povrchu kovového filmu s molekulami viazanými k čipu, dochádza k zmene intenzity odrážaného svetla. Veľkosť zmeny v SRP signále je priamo úmerná množstvu naviazaných molekúl. Výhodou tejto metódy je, že jednotlivé komponenty nie sú náročné na hygienu, aj minimálne množstvá sú detekovateľné a analýza a detekcia sú vykonávané v jednom kroku v reálnom čase (Miraglia et al., 2004).

ZÁVER

Uplatňovanie vedomostnej ekonomiky, rýchly prenos informácií a využívanie nových technológií šetriacich životné prostredie vo vyspelých krajinách je sprevádzané zvýšenou náročnosťou spotrebiteľov na výsledné produkty vo všetkých sektoroch národného hospodárstva, ako v poľnohospodárstve a rybolove tak aj a priemysle a v sektore služieb. Spotrebiteľ pri výbere potravy berie do úvahy viaceré hľadiská. Jeho poznanie o zložení stravy a vplyve na ľudský organizmus je potrebné stále rozširovať. Práve z tohto dôvodu v príspevku uvádzame možné reakcie na sóju a obilie, príznaky intolerancie organizmu na tieto komodity, popisujeme zmeny na stave zdravia a tiež príčiny chorôb z potravy a vznik alergických ochorení. Potravinovú alergiu je potrebné včas a presne diagnostikovať a komplexne liečiť. Pri určovaní diagnózy sú smerodajné kožné testy na špecifické IgE-protilátky,

ktoré je možné vykonať štandardnými metódami, ako aj novými diagnostickými metódami. Základom liečby je prevencia vzniku potravinovej intolerancie. Vhodné je vyhýbanie sa spúšťačom alergických prejavov, ktorými sú často diétne opatrenia. Ďalej je to vlastná liečba (symptomatická terapia a alergénová imunoterapia), ktorá je bez preventívnych opatrení problematická. V patogenéze zohráva významnú úlohu prenatálna senzibilizácia. Na základe štúdií viacerých literárnych prameňov ako aj z informácií získaných z rozhovorov s alergickými pacientami môžeme konštatovať, že alergia sa môže začať prejavovať aj v dospelosti. Cieľené využívanie nami popísaných a ďalších metód detekcie prírodných alergénov výrazne prispieva k rozvoju imunológie a alergológie. Prenos informácií a poznatkov z oblasti vedy a výskumu do praxe k samotným spotrebiteľom má preto svoje opodstatnenie a význam.

LITERATÚRA

- BARTUŠEK, D., VÁLEK, V., VAVŘÍKOVÁ, M., HUSTÝ, J., UTĚŠENÝ, J., DOLINA, J. 2008. Využití ultrazvuku u pacientů s celiakií. In *Celiakia*. 2/2008, s. 5, ročník 4, [online]. [cit. 2009-05-12]. Dostupné na internete http://www.celiakia.sk/downloads/celiakia/celiakia_2_2008.pdf
- BERDAL, K. G., HOLST-JENSEN, A. 2001. Roundup Ready soybean eventspecific real-time quantitative PCR assay and estimation of the practical detection and quantification limits in GMO analyses. In *Eur Food Research Technology* 213, s. 432-438.
- BIDAT, E. - LOIGEROT, CH. 2005. *Alergie u dětí*. Portál, s.r.o., Praha 2005, 59 s., ISBN 80-7178-936-4
- BOŠIAK, M., ŽIDEK, R., GOLIAN, J. 2009. Možnosti a problémy aplikácie real-time PCR pri detegovaní sóje ako potravinového alergénu vo výrobkoch s odtučneným sójovým púdom. In: *LABORALIM 2009 Recent progress in analytical methods of food*. Banská Bystrica: Univerzita Mateja Bela, 2009, s. 144-148. ISBN 978-80-227-3071-6.
- BOŠIAK, M., ŽIDEK, R., GOLIAN, J., ŽIAK, J. 2008. Použitie PCR a ELISA metódy na detekciu prítomnosti sóje. In: *Zborník z III. vedeckej konferencie doktorandov*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2009, s. 105-109. ISBN 978-80-552-0138-2.
- BOWLER, P. A. 1998. Interdisciplinary Minor in Global sustainability. UCLA
- BOYANO, M. T. et al. 1987. Food allergy in children. II. Prognostic factors and long-term development. In *An Esp Pediatr*. 26 (4) 241-245. ISSN 1577-2799 [online] [cit. 2009-05-27] Dostupné na internete <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3605872?dopt=Abstract>
- BREITENEDER, H. 1998a. *The Allergens of Hevea brasiliensis*. ACI International, s. 101 – 109
- BREITENEDER, H. 1998b. Plant-food and seafood allergens – an overview. In *Allergy*. 53 Suppl. 46, s. 31-34
- BREITENEDER, H., EBNER, C. 2001. Atopic allergens of plant foods. In *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 1,3. s. 261-267
- BUCHANEC, J. et al. 2001. *Vademékum pediatria*. ISBN 80-8063-018-6
- BUKOVSKÝ, I., FROLKOVIČOVÁ, A. Odhad výskytu alergie na sójovú bielkovinu. Ambulancia klinickej výživy. [online] [cit. 2009-05-25] Dostupné na internete http://www.akv.sk/index.php?option=com_content&task=view&id=202&Itemid=30
- DEBOTE, F., JANSSEN, E., BERBEN, G. 2006. Physical degradation of genomic DNA of soybean flours does not impair relative quantification of its transgenic content. *Eur Food Research Technology*. ISSN 00217-006-0536-1.
- DEISINGH, A. K., BADRIE, N. 2005. Detection approaches for genetically modified organisms in foods. In *Food Research International* 38, s. 639–649
- ETTLEROVÁ, K. et al. 2007. *Alergie na kravské mléko*. [online] [cit.2009-04-25]. Dostupné na internete <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/vvv.htm>
- FERENČÍK, M. et al. 2006. *Imunológia a alergológia*. Bratislava : Slovak Academic Press, s. 89, 425. ISBN 80-89104-82-7
- GACHET, E., MARTIN, G. G., VIGNEAU, F., MEYERY, G. 1999. Detection of genetically modified organisms GMOs by PCR. In *Trends in Food Science & Technology* 9, s. 380-388
- GIAMPIETRO, P. G., KJELLMAN, N. I. M., OLDAEUS, G. 2001. Hypoallergenicity of an extensively hydrolysed whey formula. In *Pediatr. Allergy Immunol*. 12, 2, s. 83 - 86
- HOST, A. 2001. Primary and secondary dietary prevention. In *Pediatr Allergy Immunol*. 12. (Suppl. 14). s. 78 - 84
- HOLZHAUSER, T., WANGORSCH, A., VIETHS, S. 2000. Polymerase chain reaction PCR for detection of potentially allergenic hazelnut residues in complex food matrixes. In *European Food Research and Technology* 211, s. 360 – 365.
- HOLST-JENSEN, A. 2001. GMO detection using PCR. National Veterinary Institute, Section of Food & Feed Microbiology.
- HOURIHANE, J. O., SMITH, P. K., STROBEL, S. 2002. Food allergy in children. In *Indian Journal of Pediatrics*. Vol. 69, Number 1. ISSN 0973-7693 Online [online] [cit. 2009-05-27] Dostupné na internete <http://www.springerlink.com/content/3r61k60503240386/?p=9feb3a803e04055a5188efbe10fbb3a&pi=33>
- HRUBIŠKO, M., KAYSEROVÁ, H. 2003. *Alergológia*. Vydavateľstvo Osveta, Martin, 2003. s. 174-177. ISBN 80-8063-110-7
- HRUŠKOVIČ, I. 2003. *Alergológia*. Osveta : Martin, s. 13. ISBN 80-8063-110-7
- HUBNER, P., WAIBLINGER, H. U., PIETSCH, K., BRODMANN, P. 2001. Validation of PCR methods for quantitation of genetically modified plants in food. In *Journal of AOAC International*. s. 1855–1864.
- KOZELOVÁ, D. 2005. Diferencované využívanie pôdy vo vidieckych regiónoch Slovenska. In *Zborník prednášok zo VII. Zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV. Poľnohospodárska sekcia*. Bratislava : Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy. ISBN 80-227-2308-8. s. 112 - 115
- MAYER, J., HOTZEL, H., SACHSE, K., ENGEL, K. H. 1996. The effect of ensiling on PCR-based detection of genetically modified Bt maize. In *European Food Research and Technology* 209, s. 301-304
- MIRAGLIA, M., BERDALB, K. G., BRERAA, C., CORBISIERC, P., HOLSTJENSENB, A., KOKD, E. J., MARVIND, H. J. P., SCHIMMELC, H., RENTSCHC, J., VAN RIED, J. P. P. F., ZAGONF, J. 2004. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain. In *Food and Chemical Toxicology* 42, s. 1157–1180.
- MURCH, S. H. 2001. *Toll of allergy reduced by probiotics*. Lancet. s. 1057 – 1059

ORAVCOVÁ, K., KACLÍKOVÁ, E., KRASCSENICSOVÁ, K., PANGALLO, D., BREŽNÁ, D., SIEKEL, P., KUČHTA, T. 2006. Detection and quantification of *Listeria monocytogenes* by 5'-nuclease polymerase chain reaction targeting the actA gene. In *Letters in Applied Microbiology* 42, s. 15 – 18.

PATRIARCA, G., SCHIAVINO, D., PECORA, V. et al. 2009. Food allergy and food intolerance: diagnosis and treatment. In *Internal and Emergency Medicine*, Vol. 4. Number 1.

ISSN 1970-9366 Online. [online] [cit. 2009-05-26] Dostupné na internete

<http://www.springerlink.com/content/4688h948785m7p04/?p=b4b71ed628d64785aa3fbfc1b2943df2&pi=6>

RADAUER, CH., BREITENEDER, H. 2009. *Structure, Allergenicity, and Cross-Reactivity of Plant Allergens*. ISBN 978-0-387-79208-8 Online. Springer New York. s. 127-151. [online] [Cit. 2009-05-27] Dostupné na internete

<http://www.springerlink.com/content/pm56873j63h61788/?p=250257c2b4ee4c2ab38492825978cbfe&pi=12>

RAMESH, S. 2008. Food Allergy Overview in Children. In *Journal Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. Humana Press Inc. ISSN 1559-0267 (Online) Zväzok 34, číslo 2, [online] [cit. 2009-05-27] Dostupné na

internet: <http://www.springerlink.com/content/h27p287k5158170p/?p=025e21f9bfbe410e9c7b3fc483425305&pi=25>

USUI, T., 2006. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. In *Endocrine Journal* 53, p. 7 – 20.

WAL, J. K. 1998. Immunochemical and molecular characterisation of milk allergens. In *Allergy*. 53. (Suppl. 46). s. 114 - 117

ZUBERBIER, T., REE, R. 2006. Ktoré potraviny sú problémové. In MORRIS, A. J. a i. *Potravinové alergie. Závery vzdelávacieho cyklu EAACI*. [online] Dánsko [cit. 2009-04-20] s. 11-12. Dostupné na internete: <http://www.alergia.sk/files/potravinove%20alergie.pdf>

ZIDEK, R. – GOLIAN, J. 2008. Detekcia prítomnosti proteínov kapra (*Cyprinus carpio*) použitím genetických markerov. In: *Sborník příspěvku V. ročníku mezinárodní konference PROTEINY 2008*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíne, 2008, s. 235-237. ISBN 978-80-7318-706-4.

Kontaktná adresa: Ing. Dagmar Kozelová, PhD., Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, tel. 037/6414609, e-mail: dagmar.kozelova@uniag.sk,

RIZIKOVÉ KOVY V DROBNOM LESNOM OVOCÍ HEAVY METALS IN SMALL FOREST FRUITS

Lívia Krížová, Alena Vollmannová, Eva Margitanová, Július Árvay, Gabriela Szabóová

ABSTRACT

Our work is focused on assessing of the content of selected risky elements in varieties of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) and cranberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Over the last years an increasing interest in blueberries and cranberries from the standpoint of their beneficial effects on human health has been growing. The contents of risky elements - Cr, Cu, Zn, Cd, Pb were assessed by AAS method in 10 varieties of highbush blueberries (Reka, Nui, Spartan, Northland, Bluecrop, Nelson, Berkley, Brigitte, Jersey, Herbert) and 6 varieties of cranberries (Koralle, Ida, Sussi, Sanna, Linnea, Runo Bielawski). Analysis of four varieties of blueberries (Reka, Bluecrop, Nelson and Jersey) showed that assessed contents of Pb were by 50 % higher in comparison with limits given by legislative and in variety Berkley the lead content was 2-fold higher when compared to hygienic limit. Higher contents of lead were measured by 50 % in two varieties of cranberries (Sanna, Linnea) and in variety Koralle was its content 4-fold higher than hygienic limits. The measured content values of Cd were in all varieties of blueberries lower than hygienic limit. Contents of Cd were enhanced in 5 varieties of cranberries, almost 3-fold by variety Koralle, Ida 2-fold, Sussi almost 2-fold, Sanna more than 3-fold, Linnea more than 2-fold in comparison with limits given by legislative. It is important to carry out monitoring of heavy metals in edible parts of crops due to consumption of safe food raw materials and foodstuffs.

Keywords: blueberries, cranberries, heavy metals, AAS

ÚVOD

Medzi kontaminanty s najväčším výskytom, ktorým sa v súčasnosti venuje veľká pozornosť, patria aj ťažké kovy. Ťažké kovy patria medzi nedegradovateľné kontaminanty, ktoré sa vyznačujú rozdielnym zdrojom pôvodu, vlastnosťami ako aj pôsobením na živé organizmy (Tóth et al. 2005). K ťažkým kovom patria biologicky nezastupiteľné mikroelementy (napr. Cu, Zn, Fe) ako i početné neesenciálne chemické prvky (Cd, Pb, Cr...atď). Toxické sú aj biologicky nezastupiteľné mikroelementy, ak prekročia určitú koncentráciu (Tomáš et al. 2001, Tóth et al. 2000). Antropogénne znečistenie spôsobené ťažkými kovmi vstupujúc do rastlín následne prechádza do potravinového reťazca s dôsledkom ohrozenia ľudského zdravia (Krishna, Govil, 2007). Z hľadiska obsahu rizikových prvkov sa kladú vysoké nároky najmä na produktívne časti rastlín, ktoré sa využívajú vo výžive ľudí ako rastlinné produkty, suroviny potravinárskeho

priemyslu, ale aj krmoviny, z ktorých ťažké kovy prechádzajú do rôznych živočíšnych produktov.

Minoritné druhy drobného ovocia, ktorých prirodzený výskyt je typický pre niektoré lokality Slovenska, ako sú brusnica čučoriedková (*Vaccinium myrtillus* L.), brusnica obyčajná (*Vaccinium vitis-idaea* L.) a ostružina černicová (*Rubus fruticosus* L.), patria k významným rastlinným zdrojom polyfenolických látok. Čučoriedky sú známe ako jeden z najlepších zdrojov flavonoidov, špeciálne antokyanínov (Riihinen et al. 2008). Čučoriedky a brusnice sú jedným z najbohatších zdrojov antioxidantov spomedzi ovocia a zeleniny. Čučoriedkové a brusnicové extrakty zabraňujú oxidácii lipidov v lipozómoch a znižujú obsah LDL cholesterolu (Kalea et al. 2006). Plody týchto druhov ovocia charakterizujú ich bioaktívne vlastnosti ako je antioxidačná aktivita, kardiovaskulárna ochrana, antidiabetická vlastnosť a inhibícia karcinogenézy a mutagenézy (Lohachoopol a Srzednicki, 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Sledovanou skupinou bolo 10 odrôd čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum* L.) a 6 odrôd brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.) uvedené v tabuľkách č. 1 a č. 2. Vzorok rastlinného materiálu sme odobrali v štádiu plnej zrelosti v auguste 2008 vo výskumnej stanici v Krivej na Orave, ktorá je vysunutým pracoviskom Výskumného ústavu trávnych porastov a horského poľnohospodárstva v Banskej Bystrici. V lyofilizovaných vzorkách sme vykonali analýzy na zistenie obsahu sledovaných rizikových prvkov po mineralizácii „mokrou cestou“ mikrovlnným rozkladom na prístroji MARS X-press. Analytickou koncovkou bola atómová absorpčná spektrometria na prístroji VARIAN AA 240 FS.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č. 3 a č. 4 sú uvedené celkové obsahy rizikových kovov vo vybraných odrodách čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum* L.) a brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.). Vzorok rastlinného materiálu sme odobrali z výskumného ústavu, ktorý sa

Tabuľka 1 Charakteristika sledovaných odrôd čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum* L.)

Odrody(1)	Charakteristika(2)
Nui	skorá odroda, husté kry, bobule sú veľmi veľké s voskovým nádychom
Reka	skorá odroda, vzpriamené kry, bobule strednej veľkosti s voskovým nádychom, tmavomodré bobule pevnej a dobrej chuti
Spartan	skorá odroda, vzpriamené kry, veľké až veľmi veľké bobule svetlomodrej farby, vynikajúcej kvality a výnimočnej chuti
Northland	skorá odroda, vzpriamené a silné kry, stredne veľké bobule svetlomodrej farby, sladkej chuti
Bluecrop	stredne skorá odroda, vzpriamené kry, bobule sú veľké až veľmi veľké, svetlomodré s voskovým nádychom plnej chuti
Nelson	stredne neskorá odroda, vzpriamené a silné kry, bobule sú veľké, svetlomodré, výbornej kvality a chuti
Berkley	stredne neskorá odroda, rozložené otvorené kry, veľmi veľké svetlomodré bobule s voskovým nádychom
Brigitte	stredne neskorá odroda, vzrastné a rozložené kry, bobule sú stredne veľké, pevné, svetlomodré, nepatrne kyslejšie
Jersey	stredne neskorá odroda, vzrastné a vzpriamené kry, bobule sú strednej veľkosti s výraznou kvetnou jamkou, chuť vínovu sladká
Herbert	stredne neskorá odroda, rozložené kry, bobule sú veľké až veľmi veľké, výrazne sploštené vínovu kyslej chuti

nachádza v Krivej na Orave. Táto lokalita s nadmorskou výškou 700 m a kyslými pôdami, má vhodné klimatické podmienky pre pestovanie významného druhu ovocia, akými sú čučoriedky a brusnice.

Obsah Cr v sledovaných odrodách čučoriedok sa pohyboval v intervale 0,4 mg.kg⁻¹ až 1,4 mg.kg⁻¹. Z pohľadu obsahu Cr možno zostaviť nasledovné poradie sledovaných odrôd čučoriedok: Spartan > Jersey > Bluecrop > Reka > Northland > Brigitte ≈ Nui > Herbert > Berkley > Nelson. Obsah Cr v plodoch čučoriedok ani v jednej odrode neprevyšoval hygienické limity, ktoré určuje platná legislatíva. Na základe stanovených obsahov Cu (1,6 mg.kg⁻¹ – 6,5 mg.kg⁻¹) môžeme zoradiť sledované odrody čučoriedok nasledovne: Spartan > Bluecrop > Berkley, Jersey > Reka > Nelson > Northland ≈ Nui > Brigitte > Herbert. Obsah Cu v sledovaných odrodách čučoriedok nepresahoval ani v jednej odrode hygienické limity. Obsah Zn vo vybraných odrodách čučoriedok sa pohyboval v intervale 1,9 mg.kg⁻¹ až 5,2 mg.kg⁻¹, poradie je nasledovné: Nui > Northland > Reka > Nelson > Bluecrop ≈ Berkley > Jersey > Spartan > Brigitte ≈ Herbert. Ani v jednej odrode čučoriedok nebola prekročená hodnota obsahu Zn určená platnou legislatívou. **Reimann et al. (2001)** sa vo svojej práci venovali sledovaniu mikroelementov v čučoriedkach a uvádzajú priemerné hodnoty Cr < 0,2 mg.kg⁻¹, Cu 6,5 mg.kg⁻¹, Zn 13,5 mg.kg⁻¹.

V grafoch 1 a 2 sú uvedené obsahy rizikových kovov Cd a Pb v sledovaných odrodách čučoriedky chocholíkatej. Namerané hodnoty obsahu Cd v plodoch neprekračovali ani v jednej odrode najvyššie prípustné množstvo, ktoré sú určené v Potravinovom kódexe SR (PKSR). Priemerný obsah Cd predstavuje v nami sledovaných odrodách čučoriedok 0,0157 mg.kg⁻¹. **Reimann et al. (2001)** vo svojich výsledkoch uvádzajú ešte nižšie hodnoty obsahu Cd v plodoch čučoriedok (0,009 mg.kg⁻¹). Namerané

Tabuľka 2 Charakteristika sledovaných odrôd brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.)

Odrody(1)	Charakteristika(2)
Koralle	stredne skorá odroda, vzpriamené kry, bobule sú malé guľatého až podlhovastého tvaru, jasnočervenej farby vínovu sladkej chuti
Ida	stredne skorá odroda, nižšie kompaktné a dekoratívne kry, bobule sú guľaté žiarivo červenej farby, vínovu sladké, veľmi chutné
Sussi	stredne skorá odroda, rozložené kry, bobule sú stredne veľké tmavšej červenej farby, plody majú dobrú kvalitu a vynikajúcu chuť
Sanna	stredne skorá odroda, vzpriamené a kompaktné kry, bobule sú pevné guľovité, výrazne červené, vínovu kyslej chuti
Linnea	stredne neskorá odroda, vzpriamené kry, bobule sú veľmi pevné, malé, výrazne tmavočervené, veľmi chutné
Runo Bielawski	stredne neskorá odroda, vzpriamené kry, bobule sú stredne veľké tmavočervenej farby, chuť sladkokyslá

Tabuľka 3 Obsahy vybraných mikroelementov (mg.kg⁻¹) v plodoch čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum* L.)

Odroda	Cr	Cu	Zn
Nui	0,7	2,5	5,2
Reka	0,9	2,8	4,7
Spartan	1,4	6,5	2,5
Northland	0,8	2,5	5,0
Bluecrop	1,0	3,4	3,3
Nelson	0,4	2,6	3,7
Berkley	0,5	3,0	3,3
Brigitte	0,7	2,0	1,9
Jersey	1,2	3,0	3,1
Herbert	0,6	1,6	1,9

hodnoty obsahu Pb v štyroch odrodách prevyšovali limity stanovené platnou legislatívou o 50 % (Reka, Bluecrop, Nelson, Jersey). Zistené priemerné hodnoty obsahu Pb v nami sledovaných odrodách čučoriedok predstavujú 0,275 mg.kg⁻¹, čo je výrazne vyššia hodnota ako 0,13 mg.kg⁻¹, ktorú uvádzajú **Reimann et al (2001)**. V odrode

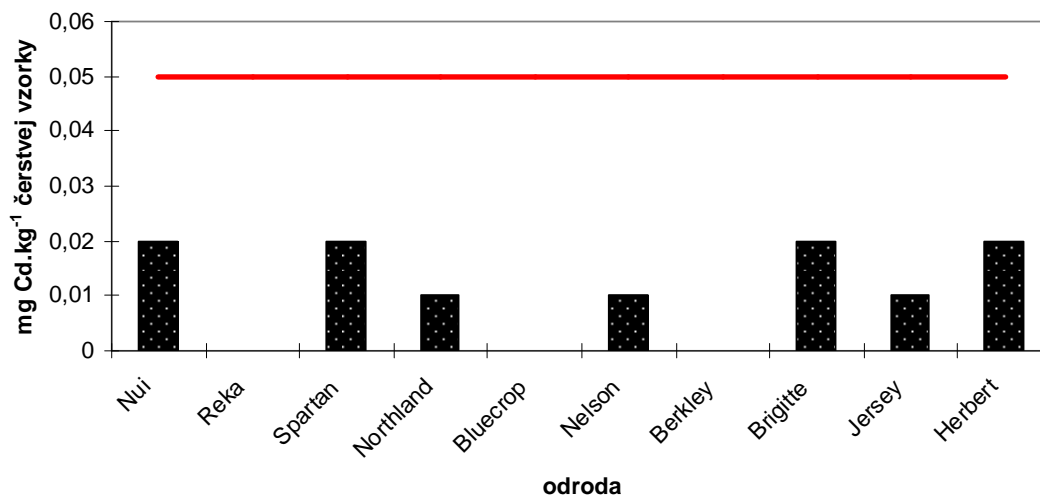
Tabuľka 4 Obsahy vybraných mikroelementov (mg.kg⁻¹) v plodoch brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.)

Odroda	Cr	Cu	Zn
Koralle	0,7	5,0	8,1
Ida	0,5	3,5	9,6
Sussi	0,8	4,5	8,3
Sanna	0,6	3,7	9,0
Linnea	0,6	3,9	8,8
Runo Bielawski	0,6	3,5	9,8

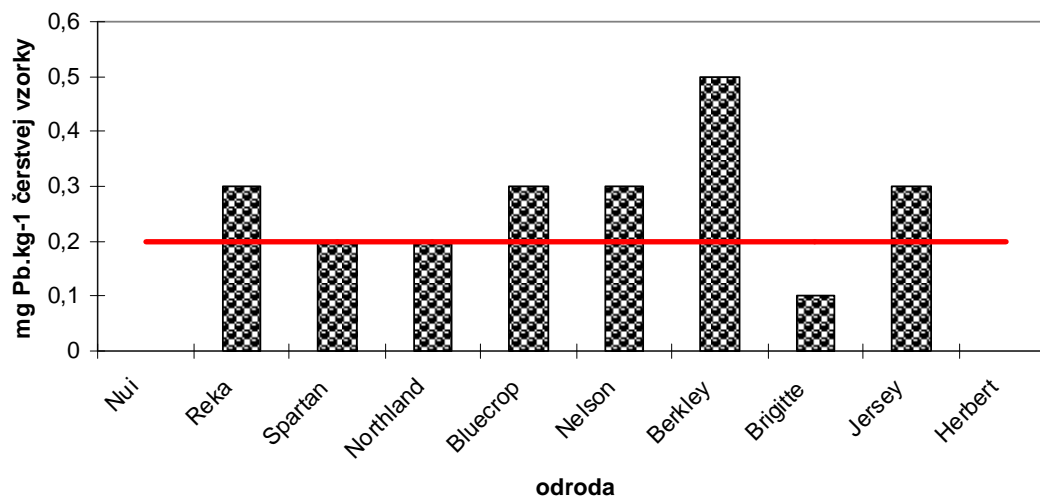
Berkley bol obsah Pb viac ako 2-násobne vyšší ako hygienický limit.

Obsah Cr v sledovaných odrodách brusnice pravej sa pohyboval v intervale 0,5 mg.kg⁻¹ až 0,8 mg.kg⁻¹. Z nameraných hodnôt možno zostaviť nasledovné poradie: Sussi > Koralle > Sanna ≈ Linnea ≈ Runo Bielawski. Na základe nameraných hodnôt obsahov Cu (3,5 mg.kg⁻¹ – 5,0 mg.kg⁻¹) môžeme zoradiť vybrané odrody nasledovne: Koralle > Susi > Linnea > Sanna > Ida ≈ Runo Bielawski. Zo stanovených obsahov Zn (8,1 mg.kg⁻¹ – 9,8 mg.kg⁻¹) je možné zoradiť vybrané odrody brusníc nasledovne: Runo Bielawski > Ida > Sanna > Linnea > Sussi > Koralle.

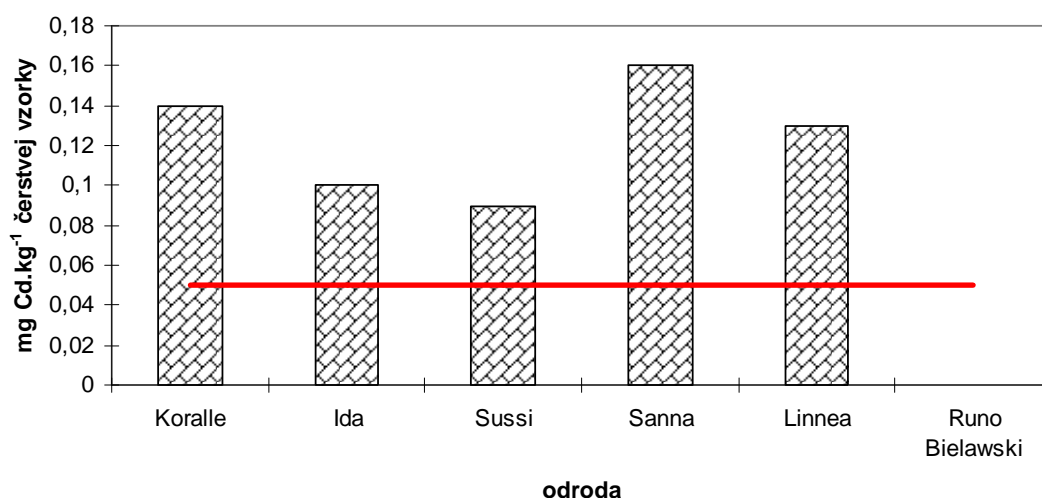
Graf 1 Obsah Cd (mg.kg⁻¹) vo vybraných odrodách čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum*) vo vzťahu k hygienickému limitu



Graf 2 Obsah Pb (mg.kg⁻¹) vo vybraných odrodách čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum*) vo vzťahu k hygienickému limitu



Graf 3 Obsah Cd ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) vo vybraných odrodách brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.) vo vzťahu k hygienickému limitu



Obsahy sledovaných prvkov Cr, Cu a Zn vo vybraných odrodách brusnice pravej neprekročili ani v jednej odrode najvyššie prípustné množstvá, ktoré sú určené Potravinovým kódexom SR. Výsledky stanovenia obsahu Cu v nami sledovaných odrodách brusníc sú v súlade so zisteniami **Reimann et al. (2001)**, ktorí udávajú v brusniciach priemerný obsah Cu $4,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Autori však uvádzajú priemernú nižšiu hodnotu obsahu Cr ($<0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a podstatne vyššiu priemernú hodnotu obsahu Zn $25,6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ v porovnaní s našimi výsledkami ($3,46 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Rozdiel v obsahu vybraných prvkov môže byť ovplyvnený viacerými faktormi, ako sú chemické vlastnosti pôdy, klimatické podmienky pestovania a pod.

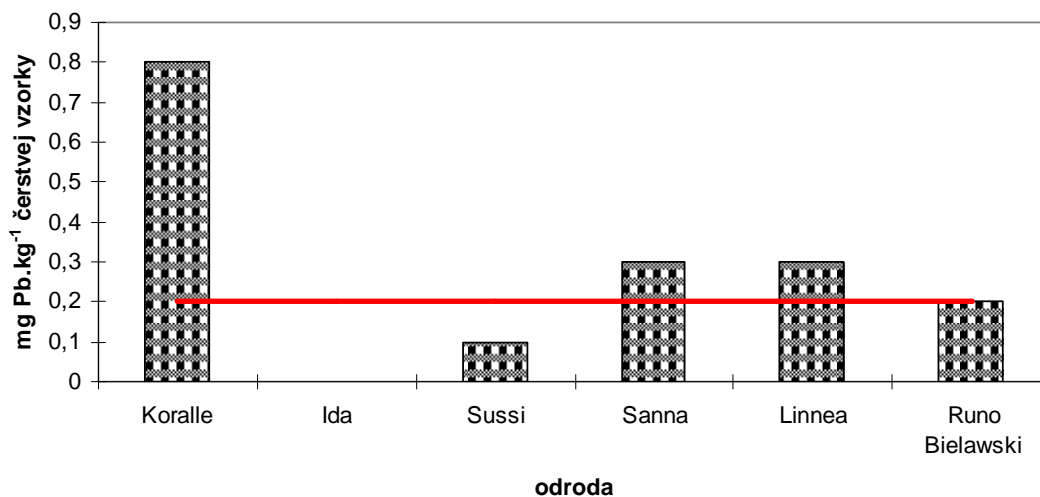
Grafy 3 a 4 zobrazujú obsahy rizikových kovov Cd a Pb v plodoch vybraných odrôd brusnice pravej vo vzťahu k najvyššiemu prípustnému množstvu určenému v zmysle Potravinového kódexu SR. **Reimann et al. (2001)** uvádzajú vo svojich výsledkoch nasledovné obsahy sledovaných rizikových kovov: Cd: $0,007 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Pb: $0,17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Obsah Cd bol v našich piatich odrodách

brusníc podstatne vyšší v porovnaní s uvedenými hodnotami (priemerný obsah predstavoval $0,124 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a tiež preukazne vyšší ako určuje náš hygienický limit, a to od takmer 2-násobku v odrode Sussi až po viac ako 3-násobok v odrode Sanna. Obsahy rizikového kovu Pb v sledovaných odrodách brusníc boli v troch vzorkách prekročené vo vzťahu k limitnej hodnote, a to od 0,5-násobného zvýšenia v odrode Sanna a Linnea až po 4-násobné zvýšenie v odrode Koralle. Nami zistená priemerná hodnota obsahu Pb $0,34 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ predstavuje dvojnásobok hodnoty udávanej **Reimann et al. (2001)**.

ZÁVER

Plody brusníc a čučoriedok majú mimoriadne pozitívny vplyv na ľudský organizmus. Boli zhodnotené ako ovocie s najvyšším antioxidačným účinkom (potenciálom). Charakteristické pre tieto plody sú ich bioaktívne vlastnosti. Sú významným zdrojom polyfenolických látok, najlepším zdrojom flavonoidov, hlavne antokyanínov,

Graf 4 Obsah Pb ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) vo vybraných odrodách brusnice pravej (*Vaccinium vitis - idaea* L.) vo vzťahu k hygienickému limitu



vyznačujú sa vysokou antioxidačnou aktivitou. Napriek týmto pozitívnym vlastnostiam je potrebné sledovanie mikro a makroelementov, na obsah ktorých vplyvajú v značnej miere pôdno-ekologické podmienky. Pokiaľ sa nachádzajú v potravinových surovinách a potravinách v nadbytku, stávajú sa toxickými pre ľudský organizmus. Je nevyhnutné sledovať aj obsahy neesenciálnych rizikových ťažkých kovov z dôvodu hygienickej bezpečnosti týchto plodov využívaných v ľudskej výžive.

LITERATÚRA

KALEA, A. Z., LAMARI, F. N., THEOCHARIS, A. D., CORDOPATIS, P., SCHUSCHKE, D. A., KARAMANOS, N. K., KLIMIS-ZACAS, D. J. 2006. Wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption affects the composition and structure of glycosaminoglycans in Sprague-Dawley rat aorta. In *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 17, 2006, p. 109–116.

KRISHNA, A. K., GOVIL, P. K. 2007. Soil contamination due to heavy metals from an industrial area of Surat, Gujarat, Western India. In *Environmental Monitoring Assess*, vol. 124, 2007, p. 263-275.

LOHACHOOMPOL, V., SRZEDNICKI, G., CRASKE, J. 2004. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. In *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol. 5, 2004, p. 248-252.

PKSR 2004. Potravinový kódex Slovenskej republiky, príloha č.1 k desiatej hlave druhej časti potravinového kódexu. Najvyššie prípustné množstva kontaminantov v potravinách výnos č. 608/3/2004-100 z 15.3.2004 aktualizované výnosom č. 1907/2004-100 z 21.7.2004, č.

3372/2004-100 z 17.1.2005

REIMANN, C., KOLLER, F., KASHULINA, G., NISKAVAARA, H., ENGLMAIER, P. 2001. Influence of extreme pollution on the inorganic chemical composition of some plants. In *Environmental Pollution*, vol. 115, 2001, p. 239-252

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*). In *Food Chemistry*, vol. 110, 2008, p. 156-160.

TOMÁŠ, J., TÓTH, J., LAZOR, P. 2001. Heavy Metals Content and Distribution in Soils in Relation to Soil Hygiene. In *Polnohospodárstvo*, roč. 47, 2001, č. 1, s. 11 – 26.

TÓTH, J., TOMÁŠ, J., LAZOR, P. 2000. Hodnotenie bioprístupnosti kadmia, olova, medi, zinku a chrómu v silne kontaminovanej fluvizemi. In *Acta fytotechnica et Zootechnica*, roč. 3, 2000, č. 1, s. 25 – 28.

TÓTH, T., POSPÍŠIL, R., PARILÁKOVÁ, K., MUSILOVÁ, J., BYSTRICKÁ, J. 2005. Distribúcia ťažkých kovov v pôdach aplikáciou substrátu po výrobe biokalu. In *ChemZi*, roč. 1, 2005, č. 1, s. 108 – 109.

Pod'akovanie:

Práca vznikla s podporou projektov : VEGA 1/0030/09, KEGA 3/5081/07, APVV SK – S1-0001-08

Kontaktná adresa:

Ing. Lívia Krížová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KCH, Trieda Andreja Hlinku 3. Tel.: 037 6414607, E-mail: livia.krizova@gmail.com

SLEDOVANIE DYNAMIKY ODBÚRAVANIA REZÍDUIÍ VYBRANÝCH ANTIKOKCIDÍK V TKANIVÁCH KURČIAT A BAŽANTOV POČAS STANOVENEJ OCHRANNEJ LEHOTY

MONITORING THE DYNAMICS OF THE DEGRADATION OF RESIDUES OF SELECTED ANTICOCCIDIALS IN THE CHICKEN AND PHEASANT TISSUES DURING THE WITHDRAWAL PERIOD

Ján Mačanga, Ivona Kožárová, Mária Goldová, Peter Major, Beáta Koréneková

ABSTRACT

The aim of our study was to monitor the presence of maduramycin and narasin/nicarbasin residues in the tissues of chickens and pheasants after oral administration up to day 5 of the withdrawal period. The following tissues were examined: breast and thigh muscle, liver, lungs, kidneys, gizzard, heart and spleen. The residues were detected by the STAR method with *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* test strain. The dynamics of the residual degradation of anticoccidials mentioned above was evaluated on the basis of the diameters of inhibition zones. During the monitoring period we obtained statistically significant changes in the diameters of inhibition zones. We detected that the concentration of the residues didn't decrease gradually throughout the withdrawal period, and even in a lot of cases the inhibition zones were larger at the end of withdrawal period than at its beginning.

Keywords: maduramycin, narasin/nicarbasin, dynamics of degradation, chicken, pheasant, tissue

ÚVOD

Antikokcidiká, označované aj ako kokcidiostatiká, patria podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat do skupiny kŕmnych doplnkových látok a sú definované ako látky určené na ničenie alebo brzdenie rastu prvokov. Je známe, že podávanie týchto látok potravinovým zvieratám vedie k výskytu nežiaducich rezíduí v ich tkanivách a produktoch (Salem, 1998).

V záujme ochrany zdravia ľudí sa preto pre antikokcidiká postupne stanovujú maximálne limity rezíduí (MRL), ktoré musia byť v súčasnosti aj náležite kontrolované (Nariadenie Rady č 2377/90, Smernica Rady 96/23/ES). Jednou z dôležitých prevencií na zabránenie prekročenia MRL je dodržanie stanovených ochranných lehôt. Ochranná lehota (OL) predstavuje počet dní (príp. hodín), ktoré musia uplynúť od poslednej aplikácie, aby sa

potravínové produkty z ošetrovaných zvierat mohli použiť na ľudský konzum (Sovík et al. 2005).

Cieľom našej práce bolo sledovať dynamiku odbúravania rezíduí vybraných antikokcidík v tkanivách kurčiat a bažantov počas jednotlivých dní stanovenej ochrannej lehoty.

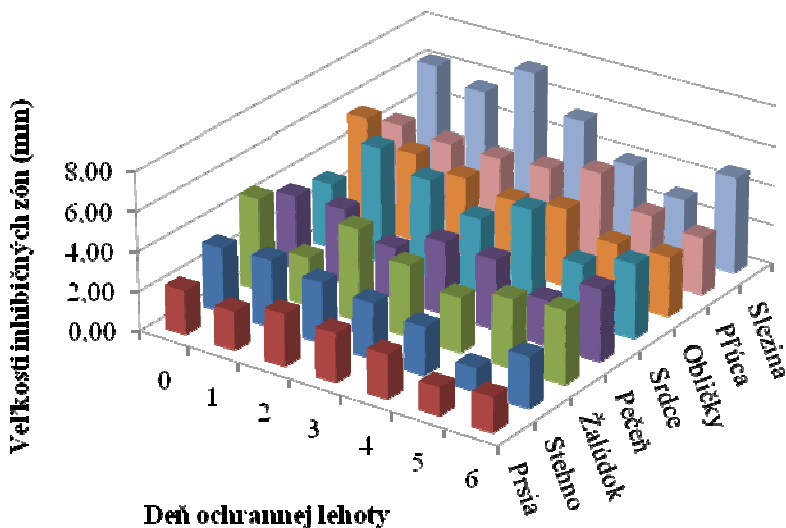
MATERIÁL A METODIKA

V pokuse boli použité dvojtýždňové brojlerové kurčatá (*Gallus gallus* – hybrid Ross) a bažanty poľovné (*Phasianus colchicus*) infikované suspenziou oocýst *Eimeria tenella* a *E. acervulina* (kurčatá) a *Eimeria colchici* (bažanty), ktoré boli samostatne rozdelené do 3 skupín po 20 kusov. Skupine A bolo po dobu 10 dní podávané Cygro 1 % (maduramycín 5 mg.kg⁻¹ KZ) a skupine B Maxiban G 160 (narazín/nikarbazín 100 mg.kg⁻¹ KZ). Skupina C predstavovala negatívnu kontrolu. V 0. deň ochrannej lehoty (OL) (posledný deň podávania antikokcidík), počas piatich dní stanovenej OL a v prvý deň po uplynutí OL (6. deň) boli dva kusy z každej experimentálnej skupiny postupne zabíjané a tkanivá (prsna a stehenná svalovina, srdce, pečeň, obličky, žalúdok, slezina a pľúca) boli vyšetřované na prítomnosť rezíduí antikokcidík metódou STAR s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149 (CH 12.19., 2006). Výsledky boli štatisticky vyhodnotené (priemer, t-test a korelačný koeficient) v programe Microsoft Office Excel 2007. Pokus bol vykonaný v schválenom pokusnom zariadení na Ústave parazitológie UVL v Košiciach (SK P 30006).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dá sa predpokladať, že po poslednom podaní liečiva sa budú veľkosti inhibičných zón počas doby ochrannej lehoty kontinuálne zmenšovať. Lenže ako vyplýva z našich výsledkov prezentovaných v grafoch 1 až 4, nie je tomu tak.

Pri sledovaní odbúravania rezíduí maduramycínu v tkanivách bažantov (graf 1) sme ani v jednom tkanive nezaznamenali kontinuálny pokles veľkostí inhibičných



Graf 1 Dynamika odbúravania rezíduí maduramycínu z tkanív bažantov počas doby ochrannej lehoty

zón (VIZ). Vo vzorkách prsnej svaloviny sme v 1. deň OL pozorovali štatisticky významné zmenšenie VIZ ($P \leq 0,05$) oproti 0. dňu OL. V 2. deň OL došlo k zväčšeniu VIZ. Od 3. po 5. deň OL sa VIZ zmenšovali, pričom štatisticky významne zmenšenie sme pozorovali medzi v 5. deň OL ($P \leq 0,05$). V 1. deň po OL boli VIZ v porovnaní s 5. dňom väčšie.

Podobný priebeh sme pozorovali aj u vzoriek stehennej svaloviny. V 1. deň OL sme ešte pozorovali mierne zväčšenie VIZ, ale následne od 2. do 5. dňa OL sa VIZ zmenšovali. Štatisticky významné zmenšenie sme pozorovali medzi 3. a 4. dňom ($P \leq 0,05$) a medzi 4. a 5. dňom OL ($P \leq 0,001$). VIZ v 1. deň po OL však už boli štatisticky významne väčšie ($P \leq 0,01$) ako v 5. deň OL.

Dynamika odbúravania rezíduí maduramycínu vo vzorkách žalúdka mala nasledovný priebeh. V 1. deň OL sme zaznamenali zmenšenie VIZ, v 2. deň OL sa VIZ zväčšili ($P \leq 0,05$), od 3. do 4. dňa OL sa zmenšovali a v 5. deň OL sme pozorovali zväčšenie VIZ, ktoré pretrvávalo aj v 1. deň po OL ($P \leq 0,05$).

Rezíduá maduramycínu vo vzorkách pečene spôsobili, že VIZ boli v 0. a v 1. deň OL viac menej rovnako veľké. V 2. deň OL sa VIZ štatisticky významne zmenšili ($P \leq 0,001$), lenže v 3. deň OL došlo k ich zväčšeniu ($P \leq 0,01$). V 4. deň OL sa inhibičné zóny zmenšili nepatrne. Významnejšie zmenšenie ($P \leq 0,01$) sme zaznamenali v 5. deň OL, ale v 1. deň po OL sme pozorovali zväčšenie na hladine štatistickej významnosti $P \leq 0,01$.

U vzoriek srdca sme v 1. deň OL pozorovali výrazné zväčšenie VIZ ($P \leq 0,001$). V 2. a 3. deň OL sme zaznamenali štatisticky významné zmenšenie VIZ ($P \leq 0,05$). V 4. deň OL sa VIZ zväčšili ($P \leq 0,01$), v 5. deň OL boli výrazne menšie ($P \leq 0,001$), ale v 6. deň OL sa ich veľkosť opäť zväčšila, pričom bola väčšia ako v 0. deň OL.

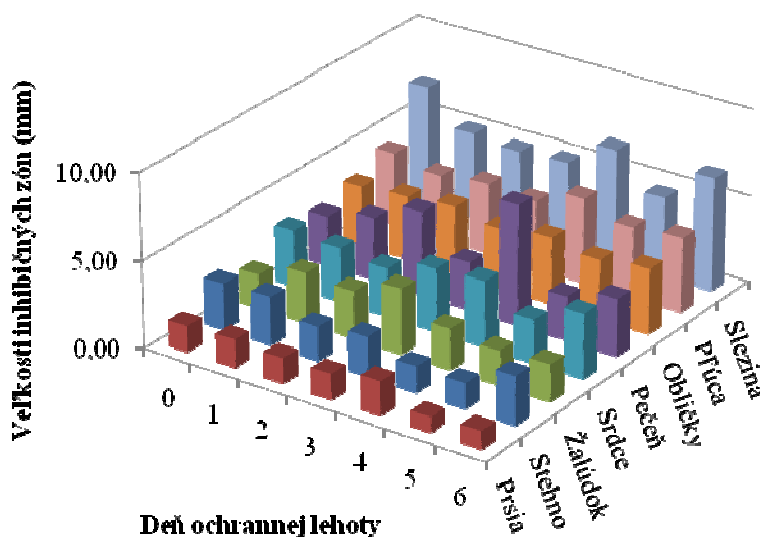
Veľkosti inhibičných zón u vzoriek odobratých z obličiek sa do 3. dňa štatisticky významne zmenšovali (1. deň OL $P \leq 0,001$, 2. deň OL $P \leq 0,01$, 3. deň OL $P \leq 0,01$). V 4. deň OL sme zaznamenali ich zväčšenie, v 5. deň OL opätovne zmenšenie a v 1. deň po OL sa VIZ znovu zväčšili.

U vzoriek pľúc sme v prvých dňoch OL pozorovali zmenšovanie VIZ. V 4. deň OL sa VIZ zväčšili, ale do konca doby OL sa už iba zmenšovali. Štatisticky významné zmenšenie ($P \leq 0,05$) bolo v 5. deň OL.

U vzoriek sleziny boli VIZ v 1. deň OL menšie ako v 0. deň ($P \leq 0,01$). V 2. deň OL sa VIZ štatisticky významne zväčšili ($P \leq 0,001$). Do 5. dňa OL sme pozorovali významne zmenšovanie VIZ (3. deň OL - $P \leq 0,001$, 4. deň OL - $P \leq 0,01$, 5. deň OL - $P \leq 0,001$), ale v 1. deň po OL sa VIZ výrazne zväčšila ($P \leq 0,001$).

U všetkých vyšetrovaných vzoriek sme zaznamenali vysoké hodnoty korelačného koeficientu, ktoré sa pohybovali od 0,724 do 0,999.

Pri sledovaní odbúravania rezíduí narazín/nikarbazínu v tkanivách bažantov (graf 2) sme podobne ako pri rezíduách maduramycínu nezaznamenali kontinuálny pokles veľkostí inhibičných zón. Pri



Graf 2 Dynamika odbúravania rezíduí narazín/nikarbazínu z tkanívbažantov počas doby ochrannnej lehoty

vyšetrení vzoriek prsnej svaloviny boli VIZ do 3. dňa OL zhruba na rovnakej veľkostnej úrovni. V 4. deň OL sme pozorovali mierne zväčšenie VIZ, v 5. deň došlo k ich zmenšeniu ($P \leq 0,01$), a v 1. deň po OL sa VIZ opäť mierne zväčšili.

U vzoriek stehennej svaloviny sme v 1. deň OL ešte pozorovali mierne zväčšenie VIZ. V 2. deň OL došlo k zmenšeniu VIZ ($P \leq 0,05$), v 3. deň sa ich veľkosť zväčšila ($P \leq 0,01$), a v 4. deň sme zaznamenali štatisticky významné zmenšenie VIZ ($P \leq 0,001$). V 5. deň bola VIZ približne rovnaká ako v predchádzajúci deň, ale v 1. deň po OL došlo k výraznému zväčšeniu VIZ ($P \leq 0,001$).

Rezíduá narazín/nikarbazínu vo vzorkách žalúdka spôsobili, že VIZ sa do 3. dňa OL zväčšovali (okrem 2. dňa, kde bol mierny pokles ich veľkostí). V 4. deň OL došlo k ich zmenšeniu ($P \leq 0,05$). V 5. deň bol pokles VIZ mierny. V 1. deň po OL sa VIZ približovali hodnotám nameraným v predchádzajúcom dni, pričom boli o čosi väčšie ako tie, ktoré sme namerali v 0. deň OL.

Veľkosti inhibičných zón sa u vzoriek srdca zmenšovali do 2. dňa OL. V 3. deň OL sme zaznamenali ich zväčšenie ($P \leq 0,01$). V 4. deň OL došlo len k miernemu zväčšeniu VIZ a v 5. deň sa VIZ zmenšili ($P \leq 0,001$). V 1. deň po OL podobne ako u vzoriek srdca sa VIZ zväčšili a ich veľkosť bola väčšia ako v 0. deň OL.

U vzoriek pečene mali VIZ do 2. dňa ochrannnej lehoty stúpajúci charakter. V 3. deň OL došlo k výraznému zmenšeniu VIZ, lenže v nasledujúci deň VIZ rapídne vzrástli ($P \leq 0,001$). V 5. deň OL sme zaznamenali opätovné zníženie VIZ ($P \leq 0,001$) približne na rovnakú úroveň ako v 4. deň OL. V 1. deň po OL došlo k zväčšeniu VIZ, pričom tie boli štatisticky významne väčšie ako v 0. deň OL ($P \leq 0,01$).

Dynamika odbúravania rezíduí narazín/nikarbazínu vo vzorkách obličiek prebiehala nasledovne: do 2. dňa OL sa VIZ zväčšovali, v 3. deň došlo k ich zmenšeniu, ale v 4. deň sa VIZ opäť zväčšili. V 5. deň sme zaznamenali zmenšenie VIZ ($P \leq 0,05$) a v 1. deň po OL došlo k ich opätovnému zväčšeniu.

U vzoriek pľúc sa VIZ striedavo zmenšovali a zväčšovali počas celej doby ochrannnej lehoty, pričom v 1. deň po OL boli VIZ o trochu väčšie ako v 0. deň OL.

Veľkosti inhibičných zón u vzoriek sleziny sa počas prvých dvoch dní OL zmenšovali, pričom v 1. deň OL bolo zmenšenie na hladine štatistickej významnosti $P \leq 0,01$. V 3. a 4. deň OL došlo k zväčšeniu VIZ, v 5. deň sme pozorovali ich zmenšenie, a v 1. deň po OL sa VIZ výrazne zväčšili ($P \leq 0,01$). U všetkých vyšetrených vzoriek sme zaznamenali vysoké hodnoty korelačného koeficientu, ktoré sa pohybovali od 0,700 do 0,994.

Odbúravania rezíduí maduramycínu v tkanivách kurčiat (graf 3) prebiehala nasledovne. U vzoriek prsnej svaloviny sme pozorovali zväčšovanie sa VIZ až do 3. dňa OL, pričom štatisticky významné zväčšenie bolo v 2. deň OL ($P \leq 0,05$) a v 3. deň OL ($P \leq 0,01$). V nasledujúcich dňoch OL sa VIZ zmenšovali, ale aj napriek tomu v 1. deň po

OL mali inhibičné zóny väčší priemer ako v 0. deň OL.

Rezíduá maduramycínu vo vzorkách stehennej svaloviny spôsobili zväčšovanie priemeru inhibičných zón do 4. dňa OL. Štatisticky významné zväčšenie sme pozorovali v 1. deň ($P \leq 0,05$) a v 2. deň ($P \leq 0,001$). Od 5. dňa OL sa VIZ zmenšovali, ale podobne ako u vzoriek prsnej svaloviny boli VIZ v 1. deň po OL väčšie ako v 0. deň OL. Veľkosti inhibičných zón u vzoriek žalúdka boli v 0. deň a v 1. deň OL na rovnakej úrovni. V 2. deň OL sme pozorovali mierne zmenšenie VIZ, ale nasledujúcom dni sa inhibičné zóny opäť zväčšili. Postupné zmenšovanie sa VIZ bolo zaznamenané až od 4. dňa OL. Štatisticky významné zmenšenie VIZ sme zistili v 1. deň po OL ($P \leq 0,01$).

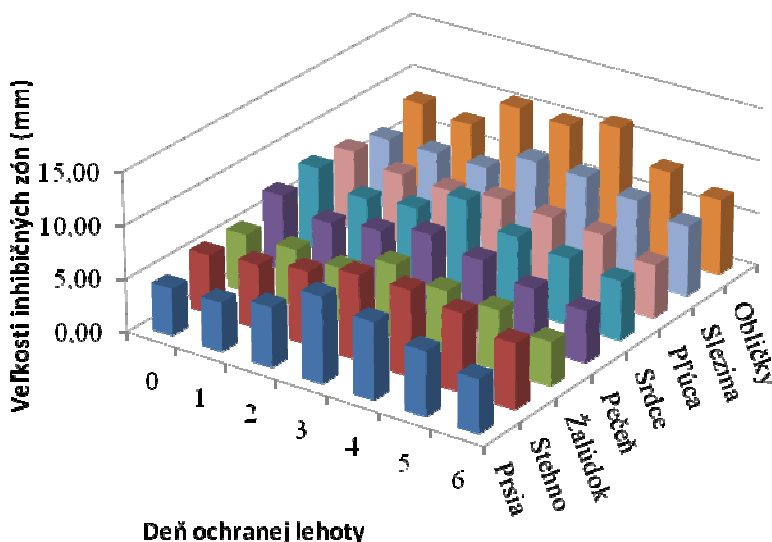
U vzoriek pečene sa VIZ menili nasledovne: v 1. deň OL sa ich veľkosť významne zmenšila ($P \leq 0,01$), v 2. a v 3. deň OL sme pozorovali zväčšenie VIZ na hladine štatistickej významnosti $P \leq 0,01$ a $P \leq 0,05$. Od 4. dňa OL sa VIZ už len zmenšovali (4. deň - $P \leq 0,05$; 5. deň - $P \leq 0,01$; 1. deň po OL - $P \leq 0,05$).

U vzoriek srdca sa VIZ v 1. deň OL zmenšili, no v nasledujúcom dni došlo ich zväčšeniu. Zväčšenie VIZ sme pozorovali aj na 3. deň OL ($P \leq 0,01$). VIZ sa na 4. deň OL významne zmenšili ($P \leq 0,001$) a zmenšovali sa až do konca sledovaného obdobia.

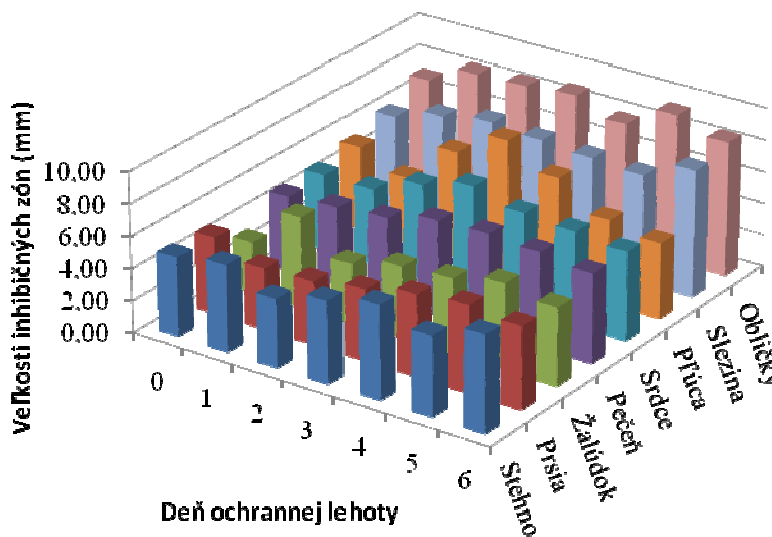
Veľkosti inhibičných zón sa u vzoriek pľúc v 1. a v 2. deň OL zmenšovali. V 3. deň OL došlo k ich zväčšeniu ($P \leq 0,05$) a do konca OL sa už iba zmenšovali. Štatisticky významné zmenšenie bolo pozorované v 1. deň po OL ($P \leq 0,05$).

Dynamika odbúravania rezíduí maduramycínu vo vzorkách sleziny prebiehala nasledovne. Do 2. dňa OL nebola pozorovaná zmena vo VIZ. V 3. deň OL došlo k zväčšeniu VIZ ($P \leq 0,01$) a od tohto dňa sa VIZ už iba zmenšovali. Štatisticky významné zmenšenie bolo pozorované v 1. deň po OL ($P \leq 0,05$).

U vzoriek obličiek sa VIZ do 4. dňa OL striedavo zmenšovali a zväčšovali. V 5. deň OL došlo k zmenšeniu VIZ ($P \leq 0,05$), ktoré pretrvávalo aj v 1. deň po OL ($P \leq 0,01$).



Graf 3 Dynamika odbúravanja rezíduí maduramycínu z tkanív kurčiat počas doby ochranej lehoty



Graf 4 Dynamika odbúravanja rezíduí narazín/nikarbazínu z tkanív kurčiat počas doby ochranej lehoty

Hodnoty korelačného koeficientu (okrem 3. a 4. dňa OL u vzoriek obličiek a okrem 2. a 3. dňa OL u vzoriek pľúc) boli počas sledovaného obdobia vysoké (0,728 – 0,997). Pri sledovaní odbúravanja rezíduí narazín/nikarbazínu v tkanivách kurčiat (graf 4) sme zaznamenali nasledovný priebeh. U vzoriek stehennej svaloviny sa VIZ v 1. deň OL zväčšili, v 2. deň OL sa zmenšili a následne do 4. dňa OL sa VIZ zväčšovali. V 5. deň OL sa VIZ opäť zmenšili, ale v 1. deň po OL sme pozorovali znovu ich zväčšenie, pričom ich veľkosť bola väčšia ako v 0. deň OL ($P \leq 0,01$). U vzoriek prsnej svaloviny sme v 1. deň OL pozorovali zmenšenie VIZ ($P \leq 0,05$). Do 5. dňa OL sa VIZ zväčšovali (3. deň - $P \leq 0,05$; 4. deň - $P \leq 0,01$), a v 1. deň po OL došlo k ich zmenšeniu. VIZ v 1. deň po OL podobne ako u vzoriek stehennej svaloviny boli väčšie ako v 0. deň OL. V 1. deň OL sa VIZ u vzoriek žalúdka zväčšili ($P \leq 0,001$), na 2. deň došlo k ich zmenšeniu ($P \leq 0,01$), a na 3. deň OL sa opäť zväčšili ($P \leq 0,05$). Ďalšie zmenšenie VIZ sme pozorovali v 5. deň OL a v 1. deň po OL, pričom aj

u vzoriek žalúdka boli VIZ v 0. deň OL menšie ako v 1. deň po OL ($P \leq 0,01$).

U vzoriek pečene sa VIZ do 4. dňa OL zväčšovali. Ich zmenšenie sme pozorovali až na 5. deň OL a 1. deň po OL. Aj tu boli VIZ väčšie na konci OL, ako na jej začiatku ($P \leq 0,01$).

Veľkosti inhibičných zón u vzoriek srdca sa výraznejšie menili až v 2. deň OL, kde sme zaznamenali ich zväčšenie ($P \leq 0,05$), ktoré pretrvávalo aj na 3. deň OL ($P \leq 0,05$). Do konca OL sa VIZ už len zmenšovali, ale aj napriek tomu boli v 1. deň po OL väčšie ako na začiatku OL.

Dynamika odbúravanja rezíduí narazín/nikarbazínu vo vzorkách pľúc prebiehala nasledovne. V 1. deň OL sa VIZ ešte zmenšili, ale v nasledujúcich dvoch dňoch došlo k ich výraznému zväčšeniu (2. deň - $P \leq 0,001$ a 3. deň - $P \leq 0,01$). Do konca OL sa VIZ už iba zmenšovali (4. deň - $P \leq 0,01$ a 5. deň $P \leq 0,05$).

U vzoriek sleziny sme v 1. deň OL zaznamenali zväčšenie VIZ ($P \leq 0,05$), ktoré pretrvávalo aj v ďalší deň. Počas 3. až 5. dňa OL sme pozorovali mierne zmenšovanie VIZ a v 1. deň po OL došlo k ich zväčšeniu ($P \leq 0,05$), pričom boli väčšie ako v 0. deň OL ($P \leq 0,001$).

U vzoriek obličiek sa VIZ do 3. dňa OL zväčšovali, pričom v 1. deň sme zaznamenali štatisticky významne zväčšenie ($P \leq 0,01$). Do konca OL sa VIZ striedavo zmenšovali a zväčšovali. Na konci OL boli VIZ väčšie ako na jej začiatku ($P \leq 0,01$).

Hodnoty korelačného koeficientu (okrem 2. až 4. dňa OL u vzoriek sleziny a okrem 3. a 4. dňa OL u vzoriek pľúc) boli počas sledovaného obdobia vysoké (0,790 – 0,999).

Naše dosiahnuté výsledky sú porovnateľné s výsledkami Tkáčikovej et al. 2009, ktorí sledovali hladiny rezíduí vybraných antikocidífk v tkanivách brojlerov počas stanovenej OL metódou LC/MS/MS.

ZÁVER

Veterinárne lieky sa vo všeobecnosti delia na látky systemické (s nízkou molekulovou hmotnosťou) a na látky nesytemické (s vysokou molekulovou hmotnosťou). Systemické látky sú absorbované do organizmu cez črevnú stenu a distribuované do celého tela krvným riečišťom. Nesytemické látky nie sú, resp. sú absorbované cez črevnú stenu len v stopových množstvách a riziko z prítomnosti rezíduí je u nich minimálne.

Antikocidiká sú považované za látky systemické, a ak sú podávané zvieratám určeným na produkciu potravín vo vode alebo v krmive, môžu indukovať rezíduá v ich živočíšnych produktoch. Použitie týchto látok či už za účelom prevencie alebo liečby kokcidiózy si preto vyžaduje striktné stanovenie ochranných lehôt.

Cieľom našej práce bolo sledovať dynamiku odbúravania maduramycínu a narazín/nikarnazínu z tkanív brojlerových kurčiat a bažantov počas stanovenej 5-dňovej ochrannej lehoty. Dynamika odbúravania rezíduí bola zhodnocovaná na základe veľkostí inhibičných zón vytvorených okolo vyšetrovaných vzoriek tkanív použitím úradne schválenej mikrobiologickej metódy STAR s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149. Z dosiahnutých výsledkov je zrejmé, že VIZ sa aj po vysadení maduramycínu a narazín/nikarnazínu z krmiva, často v prvých dňoch OL, dokonca aj v 1. deň po OL v niektorých tkanivách zväčšovali. V mnohých prípadoch sme pozorovali, že inhibičné zóny boli väčšie ako 4 mm, čo znamená, že tkanivá boli výrazne pozitívne na prítomnosť rezíduí antikokcidík. Vzhľadom na skutočnosť, že počas stanovenej OL nedošlo k predpokladanému poklesu rezíduí maduramycínu a narazín/nikarnazínu v niektorých tkanivách na požadovanú úroveň, doporučujeme prehodnotiť dĺžku OL pre obe sledované látky.

LITERATÚRA

CH 12.19, 2006. Screeningový test na stanovenie rezíduí antibiotík s použitím bakteriálnych kmeňov (STAR). In *Zoznam úradných metód laboratórnej diagnostiky potravín a krmív. Vestník MP SR, Ročník 38, Čiastka 13, 2006, 68–81.*

NARIADENIE (ES) č. 1831/2003 EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY Z 22. septembra 2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat. In *Úradný vestník Európskej únie L 268, 18. 10. 2003, 29–43.*

NARIADENIE RADY (EHS) č. 2377/90 z 26. júna 1990, ktorým sa stanovuje postup Spoločenstva na určenie

maximálnych limitov rezíduí veterinárnych liečiv v potravinách živočíšneho pôvodu. In *Úradný vestník Európskej únie L 224, roč.18, 1990, č. 8., s. 1–9.*

SALEM, D. A., 1998. Estimation of antibiotics, sulphonamides and nitrofurans residues in chicken meat. In *Assiut Veterinary Medical Journal*, roč. 39, 1998, s. 192–200.

SMERNICA RADY (ES) č. 96/23 z 29. apríla 1996 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS a 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/EHS. In *Úradný vestník Európskej únie L 125, 23. 5. 1996, 10–32.*

SOVÍK, L., HEDEROVÁ, J., BÍREŠ, J., et al. 2005. *Vademecum veterinárnych liekov a prípravkov v Slovenskej republike*. Bratislava: Pro-Trade, 2005, 639 s. ISBN 80-969010-4-4

TKÁČIKOVÁ, S., KOŽÁROVÁ, I., MATÉ, D. 2009. Sledovanie hladín rezíduí maduramycínu v tkanivách brojlerov v závislosti od dňa ukončenia podávania liečiva. In *Zborník prednášok a posterov z medzinárodnej konferencie Hygiena Alimentorum XXX*. Bratislava: ŠVPS SR, 13. – 15. máj 2009, Štrbské Pleso – Vysoké Tatry, 114-116, ISBN 978-80-7148-060-0

Pod'akovanie:

Spracovanie príspevku bolo podporené projektmi VEGA č. 1/4385/07, č. 1/0403/08 a č. 1/0658/09.

Kontaktná adresa:

MVDr. Ján Mačanga, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81, Košice, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, E-mail: jan.macanga@gmail.com

ZINOK – RIZIKOVÝ ALEBO PROSPEŠNÝ MIKROELEMENT V ZEMIAKoch?

ZINC – RISKY OR BENEFICIAL MICROELEMENT IN POTATOES?

Janette Musilová, Zuzana Poláková, Tomáš Tóth

ABSTRACT

Zinc belongs to important micronutrients and has significant biological functions in plant and animal organisms, but its higher concentration may cause extreme toxic effects. The accumulation of this element in peeled potatoes and in potato skin grown on soil with gradual dose of soil contamination with zinc was surveyed in our work (var. A: 0; var. B: 100; var. C: 200; var. D: 300 mg Zn.kg⁻¹). Four varieties of potato tubers: very early (Impala), early (Livera), medium early (Agria) and medium late (Désirée) were used in pot trial. The middle heavy, sandy-loam soil was used with following assessed parameters: pH/KCl 5,25, % humus 2,541, % C_{ox} 1,474, nutrients content: N 2100 mg.kg⁻¹, P 51,88 mg.kg⁻¹, K 297,0 mg.kg⁻¹, Ca 1356,0 mg.kg⁻¹, Mg 252,0 mg.kg⁻¹, pseudototal content Zn 47,9 v mg.kg⁻¹, content of potential available forms Zn 5,24 v mg.kg⁻¹ and the content of mobile forms Zn 0,09 mg.kg⁻¹ soil. The content of zinc in peeled potato tubers was determined after mineralization by wet way method; the content of zinc in potato skin was determined after mineralization of samples by dry way method. Analytical method for all determinations was AAS (AAS Varian AA Spectr Duo 240 FS/240Z/UltrAA). The cumulating of Zn was various in dependence on variety and with gradual doses of Zn into the soil had increased. The highest contents were found in potato skin of Impala variety (A: 34.85; B: 107.88; C: 218.53; D: 383.20 mg.kg⁻¹ dry matter). Similarly, the highest contents of Zn were in dry/fresh matter of potatoes Impala variety (A: 16.00/2.75; B: 30.18/5.81; C: 52.19/9.54; D: 63.39/11.93 mg.kg⁻¹). The contents higher than limit values for Zn given by Foodstuffs Codex SR was only in variant D in varieties Impala, Livera and Agria.

Keywords: zinc, potato tuber, contamination

ÚVOD

Jedným z ukazovateľov hygienicko-toxikologickej akosti potravín je obsah toxických minerálnych látok. (Velíšek, 2002) Zinok, ako jeden z esenciálnych prvkov pre rastliny, je dôležitý pre správny rast a vývoj rastlinných pletív.

Rastliny ho prijímajú vo forme Zn²⁺. Zinok je aktivátorom a stabilizátorom mnohých enzýmov, podieľa sa na biosyntéze bielkovín, vplýva na kumuláciu a transport sacharidov, ovplyvňuje tvorbu tryptofánu. Pokiaľ však dôjde k jeho zvýšenej koncentrácii, stáva sa extrémne toxickým. Vysoké obsahy zinku v rastlinných pletivách

inhibujú funkciu proteínov, obsahujúcich iné kovy, ktoré sú substituované zinkom. (Broadley et al., 2007) Toxicita iónov zinku má pravdepodobne príčinu v jeho schopnosti tvoriť cheláty s transportérmi železa. (Alloway, Ayres, 1993). Jeho neúmerne zvýšený obsah ovplyvňuje transpiráciu, fotosyntézu a enzymatickú aktivitu. (Rout, Das, 2003) Za toxickú sa pokladá koncentrácia 150 až 200 mg Zn.kg⁻¹ sušiny rastlinného materiálu (Sauerbeck, 1989).

Zinok je esenciálnym prvok i pre živočíšny organizmus. Zohráva úlohu v bielkovinovom a sacharidovom metabolizme, je súčasťou viac ako 60 metaloenzýmov, tvorí väzby s nukleovými kyselinami (Dabrowski, Sikorski, 2005).

Deficit zinku je zvyčajne zapríčinený znížením jeho absorpcie v gastrointestinálnom trakte, ktorá môže byť zapríčinená antagonistickou aktivitou Cd, Ca alebo fyátatov. Deficit spôsobuje spomalenie rastu, depigmentáciu tmavých vlasov a ochorenie pokožky. Akútny deficit vedie až k testikulárnej atrofii a k sterilite. (Dabrowski, Sikorski, 2005).

Jeho nadmerný príjem má však negatívny účinok na gastroendokrínologický systém a na respiračný systém človeka. Pri vysokých obsahoch pôsobí karcinogénne a má mutagénny a teratogénny účinok (Yong et al., 1992). Vyššie dávky zinku môžu zapríčiniť poruchy metabolizmu Fe a Cu, ktoré môžu vyústiť do anémie, poškodenia pankreasu a obličiek.

Cieľom tejto práce bolo zistiť mieru kumulácie zinku v zemiakových hľuzách a v zemiakových šupách v závislosti od kontaminácie pôdy týmto prvkom. V modelovom nádobovom pokuse sme modifikovali rôzne hladiny metalickej záťaže pôdy aplikáciou Zn vo forme ZnSO₄·7H₂O. Dávky Zn sme vo variantoch A-D stupňovali nasledovne 0; 100; 200; 300 mg Zn.kg⁻¹ pôdy.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment sme realizovali v modelových podmienkach vegetačného nádobového pokusu. V použitej pôde,

Tabuľka 3: Obsah ťažkých kovov v mg.kg⁻¹ pôdy

Zn	Extraktčné činidlo		
	lúčavka kráľovská 47,9 limitná hodnota* 150,0	HNO ₃ 5,24 referenčná hodnota A ₁ ** 40,0	NH ₄ NO ₃ 0,09 kritická hodnota* 2,0

* Zákon č. 220/2004 Z.z.

** Rozhodnutie MP SR č. 531/1994-540

odobretej z lokality Vyčapy-Opatovce sme stanovili hodnoty aktívnej a výmennej formy pH, C_{ox} a obsah humusu. Ide o pôdu stredne ťažkú, piesočnato-hlinitú, ktorá bola do nádob navažovaná s pieskom v pomere 21 kg pôdy : 4 kg kremičitého piesku. Základné živiny (N, P, K) boli pridávané v množstve 97,5 g NPK 15-10-10 na nádobu; zálievka bola na 70 % vodnej kapacity.

Obsah prístupných živín (P, K, Ca, Mg) v pôde bol stanovený metódou podľa Mehlicha (Mehlich II) a obsah dusíka metódou podľa Kjeldahla.

Pseudototálny obsah Zn, ktorý zahŕňa všetky jeho formy okrem reziduálnej frakcie kovov sme stanovili vo výluhu lúčavky kráľovskej, potenciálne uvoľniteľné formy Zn sme

stanovili v pôdnom extrakte HNO₃ (c = 2 mol.dm⁻³) a obsah mobilných foriem Zn v pôdnom extrakte NH₄NO₃ (c = 1 mol.dm⁻³). Získané výsledky sme vyhodnotili v zmysle Rozhodnutia MP SR č. 531/1994-540 (obsah potenciálne uvoľniteľných foriem) a Zákona č. 220/2004 Z.z. (pseudototálny obsah a obsah mobilných foriem).

V nádobovom pokuse sme použili 4 odrody zemiakov: veľmi skorú – Impala, skorú – Livera, stredne skorú – Agria a stredne neskorú odrodu – Désirée. Obsah Zn v ošúpaných zemiakových hľuzách sme stanovili po mineralizácii vzoriek mokrym spôsobom; obsah Zn v šupách sme stanovili po mineralizácii vzoriek suchým spôsobom. Získané výsledky sme vyhodnotili podľa Potravinového kódexu SR.

Analytickou koncovkou pre všetky stanovenia bola AAS (AAS Varian AA Spectr Duo 240 FS/240Z/UltrAA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zemiaky si vyžadujú pôdu s obsahom humusu nad 2 % a pôdna reakcia by sa mala pohybovať medzi hodnotami pH 5,5 až 6,5 Pôda použitá v pokuse bola kyslá, so strednou zásobou humusu (tabuľka 1), stredným obsahom fosforu, dobrým obsahom draslíka a vysokým obsahom horčíka (tabuľka 2).

Tabuľka 1: Charakteristika pôdy použitej v nádobovom pokuse

pH/H ₂ O	pH/KCl	C _{ox} (%)	Hum. (%)
6,94	5,25	1,474	2,541

Tabuľka 2: Obsah živín v mg.kg⁻¹ v pôde

N	P	K	Ca	Mg
2100,0	51,8	297,0	1356,0	252,0

Obsah Zn v pôde stanovený v uvedených extraktčných činidlách je uvedený v tabuľke 3.

Pre porovnanie miery kumulácie Zn v hľuzách a šupách zemiakov sme stanovili obsah Zn v sušine. Z výsledkov

uvedených v tabuľke 4 vyplýva, že zinok sa najvýraznejšie kumuloval v odrode Impala a najmenej v odrode Désirée, kde boli nielen najnižšie obsahy Zn v suchej hmote ale i najmenšie zvýšenia v porovnaní s kontrolným variantom. Po aplikácii 200 mg Zn.kg⁻¹ pôdy, resp. 300 mg Zn.kg⁻¹ pôdy sa v porovnaní s variantom A s prirodzeným obsahom Zn v pôde jeho obsah v čerstvej hmote zemiakových hľúz zvýšil viac ako dvojnásobne vo variante B a 3,5 až 4,4-násobne vo variante C. V žiadnom, prípade však nebola prekročená limitná hodnota pre obsah zinku v zemiakoch (10 mg.kg⁻¹), stanovená PK SR. Tieto výsledky korešpondujú s výsledkami Hlušeka et al., (1997), ktorí stanovili priemerné obsahy Zn v rôznych

Tabuľka 4: Obsah Zn v hľuzách a šupách rôznych odrôd ľuľka (mg.kg⁻¹)

	A (0 mg Zn.kg ⁻¹)			B (100 mg Zn.kg ⁻¹)			C (200 mg Zn.kg ⁻¹)			D (300 mg Zn.kg ⁻¹)		
	hľuzy		šupy	hľuzy		šupy	hľuzy		šupy	hľuzy		šupy
	ČH	SH	SH	ČH	SH	SH	ČH	SH	SH	ČH	SH	SH
Impala	2,75	16,00	34,85	5,81	30,18	107,88	9,54	52,19	218,53	11,93	63,69	383,20
Livera	2,15	12,64	24,58	5,77	28,62	104,43	9,38	43,35	209,78	10,76	51,91	344,93
Agria	2,40	11,22	24,50	5,31	24,79	99,28	9,13	42,56	190,45	10,29	49,70	315,65
Désirée	2,34	10,85	21,45	5,01	23,37	74,03	8,48	40,44	178,78	9,64	44,80	196,98

Potravinový kódex SR: 10 mg.kg⁻¹ čerstvej hmoty

ČH – čerstvá hmotnosť

SH – suchá hmotnosť

odrodách počas troch rokov v rozmedzí 1,49 (Impala)-4,39 (Impala) mg.kg⁻¹ čerstvej hmoty. Najvyššie obsahy Zn v odrode Impala v porovnaní s ďalšími skorými odrodami uvádzajú vo svojej práci Hlušek, Rop (1998), pričom na príjem a kumuláciu zinku pôsobí synergicky dávka dusíka aplikovaného do pôdy.

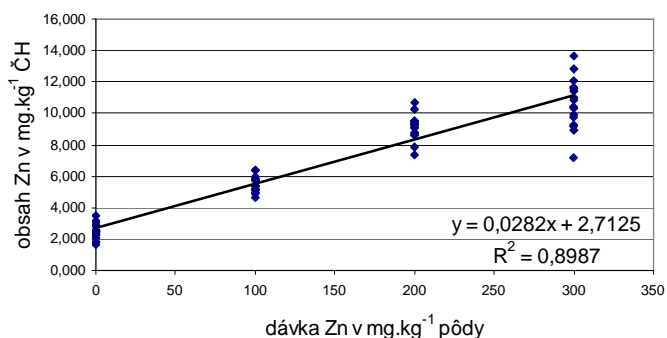
Vo variante D bol najvyšší obsah Zn stanovený v hľuzách odrody Impala, avšak najvyššie zvýšenie v porovnaní s kontrolným variantom bolo v odrode Livera (D/A: 5,00). Okrem odrody Désirée obsah Zn v tomto variante prekročil limitnú hodnotu.

Metódu regresnej a korelačnej analýzy sme zistili silnú pozitívnu závislosť medzi dávkou aplikovaným množstvom Zn do pôdy a jeho kumuláciou v čerstvej hmoty v rôznych odrodách zemiakov (hodnota korelačného koeficienta je 0,948). Z hodnoty regresného koeficienta 0,029 vyplýva, že zvýšením dávky Zn o jeden mg.kg⁻¹ pôdy sa zvýši jeho obsah v čerstvej hmoty o 0,03 mg. Hodnota P-value je 1,588.10⁻³² < 0,05, čo znamená, že regresný koeficient je štatisticky významný.

Z grafického zobrazenia je tiež vidieť, že variabilita obsahu Zn v mg.kg⁻¹ ČH je ovplyvnená nie len obsahom Zn v pôde, ale aj odrodou zemiakov. Tento výsledok je v rozpore s výsledkami Hluška et al., (1998), ktorí konštatujú že obsah zinku takmer nezávisí na pestovateľskej odrode a ako najvýznamnejší sa ukazuje vplyv lokality.

ZÁVER

Chemizáciou poľnohospodárstva a vysokou koncentráciou priemyslu sa rozšírilo množstvo látok, ktoré znečisťujú potraviny a negatívne ovplyvňujú ľudský organizmus. Preto je potrebné venovať pozornosť štúdiu prítomnosti



Graf Obsah Zn v mg.kg⁻¹ čerstvej hmoty

vplyvu kontaminujúcich látok na zdravie človeka. (Bystrická et al., 2007)

Zinok za bežných podmienok patrí medzi mikroelementy a v rastline plní významné fyziologické a biochemické funkcie. Cudzorodým prvkom sa stáva až v prípade, keď jeho koncentrácia v živnom prostredí prekročí stanovenú limitu. (Hlušek et al., 1998)

Obsah zinku v zemiakových hľuzách závisí od miery kontaminácie pôdy týmto prvkom. Avšak jeho vysoký obsah možno očakávať v zemiakoch dopestovaných v oblastiach s vysokou koncentráciou Zn v pôde. V našich experimentoch takúto koncentráciu predstavoval obsah 300 mg Zn.kg⁻¹ pôdy.

Problematickým sa môže javiť vyššia kumulácia Zn v šupách, preto by sa mala uprednostniť konzumácia ošúpaných zemiakov.

Je dôležité si uvedomiť, že uvedené výsledky sú získané z pestovania zemiakov v modelových podmienkach. Je preto potrebné ich porovnať s výsledkami, získanými z poľných pokusov.

LITERATÚRA

ALLOWAY, B. J., AYRES, D. C. 1993. *Chemical principles of Environmental Pollution*. Blackie Academic and Professional, London, 1993. s. 55-150.

BROADLEY, M., WHITE, P. J., HAMMOND, J. P., ZELKO, I, LUX, A. 2007. Zinc in plants. In *New Phytology*, 173, 2007, 4, s. 677-702.

BYSTRICKÁ, J., VOLLMANNOVÁ, A., HARANGOZO, L., ÁRVAY, J., ĎURICOVÁ, B. 2007. Vstup olova do sóje vo vzťahu k príjmu zinku. In *Kontrola bezpečnosť potravín*, 2007, s. 138-142.

DABROWSKI, W. M., SIKORSKI, Z. E. 2005. *Toxins in Food*. CRC PRESS LLC, p. 245

HLUŠEK, J., JÜZL, M., ZRŮST, J. 1997. Potato yields and cadmium, nickel and zinc contents in tubers. In *Rostlinná výroba*, 43, 1997, p. 263-267.

HLUŠEK, J., JÜZL, M., ZRŮST, J. 1998. Kvalita brambor v závislosti na odrúde, lokalitě a pestování. In *Úroda*, 1998, s. 23-26-5

HLUŠEK, J., ROP, O. 1998. Problematika obsahu cizorodých látok v raných bramborách. In *Bramborářství*, 1998, 3, s. 3-5.

ROUT, G. R., DAS, P. 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. In *Agronomie*, 23, 2003, s. 3-11

SAUERBECK, D. 1989. *Die transfer von Schwermetallen in die Pflanzen*. Dechema Arbeitsgruppe, Frankfurt n/Mohan, 1989, s. 281-316

POTRAVINOVÝ KÓDEX so súvisiacimi predpismi. II. diel. 1998. Vydal Ing. M. Mračko. 461 s.

ROZHODNUTIE MP SR o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde a o určení organizácií oprávnených zisťovať skutočné hodnoty týchto látok č. 531/1994-540.

VELÍŠEK, J. 2002. *Chemie potravin III*. Vyd. OSSIS – Tábor. 368 s.

YONG, R. N., MOHAMED, A. M. O., WARTENTIN, B. 1992. *Principles Contaminant in soils*. Elsevier, 1992.

ZÁKON č. 220/2004 Z. z. Kritériá pre identifikáciu rizikových oblastí kontaminácie pôd a metodické postupy ich hodnotenia.

Pod'akovanie:

Príspevok vznikol s finančnou podporou grantu VEGA 1/4428/07 a KEGA 3/5081/07

Kontaktná adresa:

Ing. Janette Musilová, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KCH, Tr. A. Hlinku 2, 949 74 Nitra. Tel. 0376414606, e-mail: janette.musilova@uniag.sk

KUMULÁCIA OLOVA V JEDNOTLIVÝCH ANATOMICKÝCH ČASTIACH ĽUĽKA ZEMIAKOVÉHO (*SOLANUM TUBEROSUM*, L.)

ACCUMULATION OF LEAD BY INDIVIDUAL ANATOMIC PARTS OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM*, L.)

Linda Peltznerová, Janette Musilová, Eva Margitánová

ABSTRAKT

The aim of the presented study was to survey the cumulation of lead in individual anatomic parts of potato (*Solanum tuberosum*, L.) - potato tops, potato skins and potato tubers. The experiment was realized by the form of pot vegetation trial. We used the soil from locality Výčapy – Opatovce, with addition of basic fertilizer with superphosphate, KCl, ammonium sulphate. Potato (*Solanum tuberosum* L.) was the tested crop. In this experiment 4 varieties of potatoes were evaluated. Heavy metals in these samples were analyzed by AAS method. In soil samples the analyses on the heavy metals content in the leach of aqua regia were realized. The exceeded limit value was determined for total content of lead by 53 %. In potato tops the highest content was observed in late potatoes variety Desiree. The highest lead concentration in potato skin was found in variety Livera. In samples of potato tubers the content of 0.2713 mg.kg⁻¹ Pb in variety Livera; 0.2275 mg.kg⁻¹ Pb in variety Impala; 0.1568 mg.kg⁻¹ Pb in variety Agria and 0.1088 mg.kg⁻¹ Pb in variety Desiree was determined. Obtained results of lead content were compared with their maximum admissible amounts by Slovak standards (0.1 mg.kg⁻¹). On the basis obtained results were claimed that the concentration of lead had overlimit the highest admissible amounts.

Keywords: potato, top, skin, tuber, lead

ÚVOD

Olovo je najrozšírenejším ťažkým kovom a jeho príjem z potravín vzhľadom k toxicite zlúčenín olova patrí k najrizikovejším (Tóth a Lazor, 1998). Prirodzeným zdrojom olova pre rastliny je jeho obsah v pôde, ktorý je podmienený geologickými vlastnosťami podložia. Olovo sa kumuluje v povrchových vrstvách pôdy, čo prispieva k jeho väčšiemu kolobehu v ekosystémoch, a tým sa podstatne zvyšuje jeho nebezpečie pre človeka a zvieratá (Fecenko a Ložek, 2000). Jedným z hlavných zdrojov olova v kontaminovaných pôdach sú imisie z hutí, aplikácie čistiareských kalov a hnojív do pôdy, doprava i gravitačné depozície (dažd'om, snehom, krúpami,...) (Cibulka, 1991). Vstup ťažkých kovov z pôdy do rastlín závisí od koncentrácie prvku v pôdnom roztoku (aktuálne a potenciálne mobilizovateľné formy), schopnosti pôdy zabezpečovať ďalší prísun prvku do pôdneho roztoku, prísunu pôdneho roztoku ku koreňovému systému. Transportné a interakčné reakcie medzi iónmi ťažkých kovov v pôdnom roztoku a koreňovou sústavou sú závislé ďalej od druhu plodiny a jej vegetačného štádia a kultivaru, zdrojov kontaminácie, veku rastlín, vyplavovania zrážkami, erózie, výparu a v neposlednom rade afinity koreňového systému vzhľadom k príjmu daného prvku (Tomáš et al., 2000). Väčšina kovov sa kumuluje práve v koreňovom systéme (Rippel, 1990). Olovo pôsobí na niektoré rastliny fyto toxicky až

v extrémne vysokých koncentráciách. Preto môžu veľmi úspešne vegetovať i rastliny, v ktorých obsah olova je z hľadiska nutrične – hygienického už úplne neprípustný (Fecenko a Ložek, 2000). Podľa Cibulku (1991) medzi agronomicky významné plodiny, ktoré sú schopné absorbovať stredne vysoké množstvá ťažkých kovov patria aj zemiaky, ktoré boli použité v našom experimente. Ľuľok zemiakový - *Solanum tuberosum*, L. sa pestuje pre svoje podzemkové hľuzy, ktoré poznáme pod názvom zemiaky. V ľudskej výžive majú zemiaky značný význam a ako potravina s vysokou nutričnou hodnotou sú lacným zdrojom energie. Už oddávna sú dôležitou súčasťou nášho zdravia a pestrého jedálneho lístka, pretože obsahujú veľa výživných látok, vitamínov a minerálov (Frančák, 2002). Cieľom nášho experimentu bolo na základe rozborov rastlinného materiálu sledovať kumuláciu ťažkých kovov, konkrétne olova, jednotlivými anatomickými časťami ľuľka zemiakového a posúdiť vzťah medzi kumuláciou olova a rôznymi odrodami ľuľka zemiakového.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment sme realizovali v modelových podmienkach vo vegetačnej kletke v areáli SPU Nitra. V experimente sme použili 25 kg zmesi hlinitej pôdy a kremičitého piesku v pomere 21:4. Pôda bola odobratá z lokality Výčapy-Opatovce. Na základe analýz bola stanovená pôdna reakcia, obsah humusu, obsah dusíka podľa Kjeldahla,

Tabuľka 1 Charakteristika pôdy z lokality Výčapy – Opatovce (obsahy N, K, Ca, Mg, P v mg.kg⁻¹)

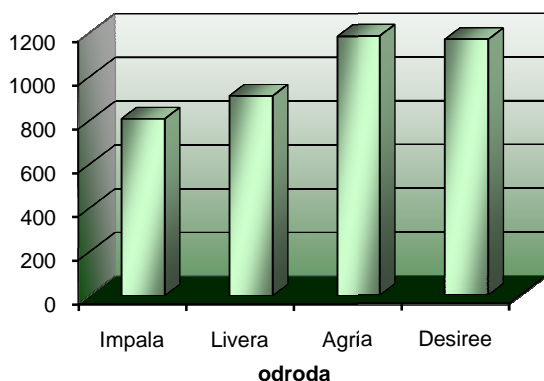
N	K	Ca	Mg	P	pH/H ₂ O	pH/KCl	C _{ox} %	Humus %
2887,5	236	2887,5	340	9,657	6,22	5,89	1,537	2,65

Tabuľka 2 Obsahy ťažkých kovov v pôde získané z výluhov v lúčavke kráľovskej (mg.kg⁻¹)

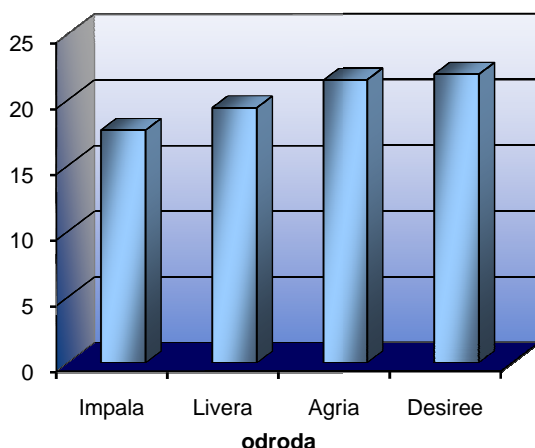
	Zn	Cu	Mn	Fe	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
lúčavka kráľovská	55,8	31,0	740	26280	32	0,56	107,2	1,4	37,4
lim. hodnota zákon 220/2004	150	60	-	-	70	0,7	70	15	50

obsah fosforu, draslíka, horčíka a vápnika podľa Mehlicha II. Z nameraných hodnôt sme vypočítali dávky základného hnojenia. Použili sme hnojenie: superfosfát – 7,54 g. kg⁻¹ pôdy, KCl (60 %) - 0,75 g. kg⁻¹ pôdy, síran amónny – 1,5 g. kg⁻¹ pôdy. Ďalej boli stanovené obsahy ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej (zmes HCl a HNO₃). Testovanou plodinou bol ľuľok zemiakový (*Solanum tuberosum L.*). V experimente boli použité 4 rôzne odrody veľmi skorá: odroda Impala, skorá: odroda Livera, stredne

vegetácie zalievané na 70 % maximálnu vodnú kapacitu. Plodiny sme zberali v čase úplnej zrelosti. Olovo v jednotlivých častiach ľuľka zemiakového sme stanovili metódou - plameňová AAS po predchádzajúcej mineralizácii suchou cestou. Hygienická nezávadnosť konzumnej časti zemiaka sa hodnotila podľa najvyššieho prípustného množstva (NPM) podľa Vestníka MZ SR č. 981/1996.



Graf 1 Hmotnosť čerstvých hľúz (g)



Graf 2 Obsah sušiny v zemiakových hľúzach (%)

skorá: odroda Agria a stredne neskorá: odroda Desiree. Do nádob sme vysádzali po 3 hľuzy a pre každú odrodu sme robili 4 opakovania. Nádobky so zemiakmi boli počas celej

VÝSLEDKY A DISKUSIA

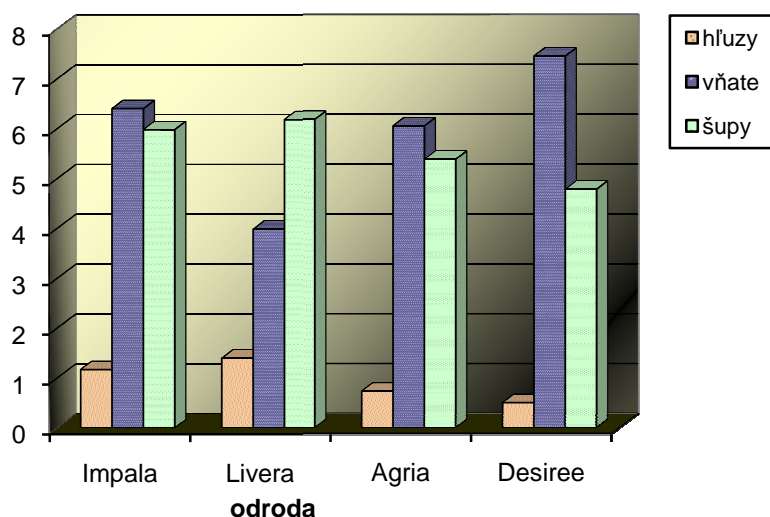
Charakteristika záujmovej pôdy a obsahy ťažkých kovov sú uvedené v tabuľkách 1 a 2. Zákon 220/2004. „O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a o zmene zákona č. 245/2003 Z. z. o integrovanej prevencii a kontrole znečisťovania životného prostredia a o zmene a doplnení niektorých zákonov, uvedený v tabuľke 2 nám uvádza najvyššie prípustné množstvá ťažkých kovov v pôde.

Pôda z vybranej lokality mala slabý kyslý charakter, ktorý výrazne ovplyvňuje prechod ťažkých kovov v systéme pôda – rastlina a vyznačovala stredným obsahom humusu. Analýzy pôdnej vzorky na obsahy ťažkých kovov dokumentujú, že len hodnota olova prekročila zákonom stanovený limit. Obsah olova bol zhruba o 53 % vyšší ako je uvedené v zákone.

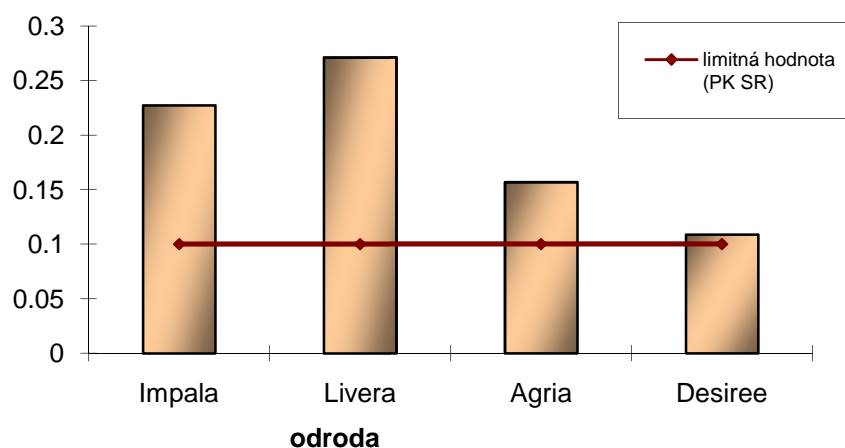
Výsledky z chemických analýz, ktoré sme vykonávali na hľúzach a vňatiach ľuľka zemiakového sú uvedené v nasledujúcich grafoch.

Graf 1 zobrazuje množstvo čerstvej hmoty a graf 2 uvádza množstvo získanej sušiny (%). Na oboch grafoch je viditeľná odrodová závislosť, pričom sme pri veľmi skorých a skorých odrodách (Impala a Livera) zaznamenali viditeľne nižšiu hmotnosť čerstvých hľúz, ako aj % sušiny ako pri stredne skorých a stredne neskorých odrodách (Agria, Desiree) Rastlina prijíma olovo z pôdy, pričom ovplyvňuje hlavne koreň, zatiaľ čo nadzemné časti rastliny sú značne ovplyvňované olovom absorbovaným z atmosféry (Scheffer a Schachtschabel, 1992).

Príjem olova rastlinami z pôdy závisí od obsahu organickej hmoty v pôde, hodnoty pH pôdy, kationovo - výmennej kapacity, od koncentrácie fosforu a uhličitanov, vápnika, horčíka a síranov. Na zníženie príjmu Pb rastlinami sa odporúča aplikácia organickej hmoty, fosforečných hnojív, úprava pôdnej reakcie vápnením, prekrytím kontaminovanej pôdy nekontaminovanou (Kozák a Jehlička, 1992).



Graf 3 Obsah Pb v anatomických častiach zemiakov v suchej hmote (mg.kg⁻¹)



Graf 4 Obsah Pb v čerstvých zemiakových hlúzach (mg.kg⁻¹)

Olovo sa vo zvýšenej miere môže nachádzať v niektorých okopaninách, ktoré je podľa najnovších štúdií možné využívať ako bioindikátory, t.z., že je možné na nich sledovať zmeny v prístupnosti kovov pre rastlinu, pričom sa sami vyznačujú pomerne ľahkým príjmom týchto prvkov do nadzemnej fytohmoty (Clemente et al., 2007).

Na nasledujúcich grafoch sú zobrazené obsahy olova v jednotlivých anatomických častiach zemiaka (graf 3) a hodnotenie hygienickej nezávadnosti konzumnej časti zemiaka limitnou hodnotou Pb stanovenou zákonom (0,1 mg.kg⁻¹) (graf 4).

Analýzy viacerých autorov potvrdili, že najviac ťažkých kovov obsahujú korene, listy a stonky a najmenej semená, hlúzy a buľvy (Zawadska, 1990; Jelínek, 1990). Toto sa potvrdilo aj v našom experimente. Zemiakové hlúzy sa vyznačovali najnižším obsahom olova, pričom sa jeho obsah pohyboval okolo 1 mg.kg⁻¹. Obsah olova zemiakových hlúzach a šupách takmer vo všetkých prípadoch presahoval hodnoty 5 mg.kg⁻¹.

Hygienická nezávadnosť konzumnej časti ľuľka zemiakového sa hodnotila najvyšším prípustným množstvom Pb podľa PK SR. V sledovaných vzorkách sme zaznamenali zvýšenú kumuláciu olova, z čoho

vyplýva, že záväzný limit (0,1 mg.kg⁻¹) bol prekročený vo všetkých odrodách.

Olovo sa vo všeobecnosti považuje za jeden z najtoxickjších prvkov pre všetky živé organizmy. Indukuje množstvo toxických symptómov v rastlinách, ako napr.: znižovanie prírastku hmoty vplyvom inhibície enzymatickej aktivity, brzdí rast a vývoj rastlín, fotosyntetické procesy, bráni príjmu makroživín a spôsobuje poškodenia na bunkovej úrovni. Olovo zapríčiňuje produkciu radikálov zo skupiny reaktívneho kyslíka, ktoré modifikujú aktivitu enzýmov antioxidantov (Verma a Dubey, 2003).

ZÁVER

Z výsledkov sledovania transferu olova z pôdy do rastlín a jeho kumulácie v jednotlivých anatomických častiach ľuľka zemiakového vyplýva jeho zvýšená kumulácia v nejedlých častiach (vnate) a šupách, preto sa odporúča konzumácia ošúpaných zemiakov. Viacnásobné prevýšenie referenčnej hodnoty obsahu Pb v pôde má za následok aj jeho zvýšený príjem konzumnými časťami ľuľka zemiakového, pričom hodnota olova v zemiakových hlúzach prekročila zákonom stanovené

limitné hodnoty (0,1 mg.kg⁻¹). Limitná hodnota bola najviac prekročená pri odrode Livera a to 2,7- násobne. Najmenej prekročená limitná hodnota bola pri stredne neskorej odrode Desiree (0,1088 mg.kg⁻¹). Preto sa na zaťažených pôdach odporúča pestovať zemiaky s dlhším vegetačným obdobím.

LITERATÚRA

CIBULKA, J. 1991. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biostéře. Praha : Academia, 1991. 427 s. ISBN: 80 – 200 – 0401 – 7

CLEMENTE, R., PAREDES, C., BERNAL, M. P. 2007. A field experiment investigating the effects of olive husk and cow manure on heavy metal availability in a contaminated calcareous soil from Murcia (Spain). In: *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 118, 2007 s.319-326

FECENKO, J., LOŽEK, O. 2000. Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra : SPU, 2000. 442 s. ISBN 80-7137-777-5.

FRANČÁK, J. 2002. Mechanizácia pestovania, zberu a pozberového spracovania zemiakov. Nitra: ÚVTIP, 2002. 103 s., ISBN: 80-89088-09-0

JELÍNEK, F. 1990. Praktické využití výsledků rozborů cizorodých látek u obilovin v systémech pěstování polních plodin. In: *Zemědělství a život. prostr.* ČSVTS při VÚRV Praha-Ruzyne, 1990, 89 s.

KOZÁK, J., JEHLIČKA, J. 1992. Retence vybraných ťažkých kovů půdami. *Pedológia a meliorace*. 28, 3, 1992. s.3-11

POTRAVINOVÝ KÓDEX SR, 2. časť, Hlava č. 10 Kontaminanty v potravinách (výnos č.608/3/2004-100 z 15. marca 2004, aktualizované výnosom č. 1907/2004 - 100 z 21. júla 2004,č. 3372/2004-100 z 17. januára 2005)

RIPPEL, A. 1990. Olovo a kadmium v poľnohospodárskych plodinách a v strave. In *Výživa a zdravie*, roč. 35, 1990, č. 5, s. 89 – 90.

SCHEFFER, P., SCHACHTSCHABEL, F. 1992. Lehrbuch der Bodenkunde, Enke Verlag, Stuttgart. 1992

TOMÁŠ, J., TÓTH, J., LAZOR, P. 2000. Stav pôdnej hygieny v regiónoch nížin SR z hľadiska obsahu ťažkých kovov v rôznych extrahovadlách. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, Nitra: SPU, roč. 3, č. 1, 2000. s. 16 – 20

TÓTH, J., LAZOR, P. 1998. Cudzorodé látky v požívatinách. Nitra: SPU, 1998. 83 s. ISBN 80-7137-544-6.

VERMA, S., DUBEY, R. S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant

enzymes in growing rice plants. In *Plant Science*, 164, 2003, s. 645-655

VESTNÍK MINISTERSTVA PÔDOHOSPODÁRSTVA SR, ročník XXXVIII, 31. máj 2006, čiastka 11

ZÁKON 220/2004. „O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a o zmene zákona č. 245/2003 Z. z. o integrovanej prevencii a kontrole znečisťovania životného prostredia a o zmene a doplnení niektorých zákonov. 2004.

ZAWADSKA, T. 1990. Contents of metals in vegetables from different regions of Poland in the years 1986-1988. I. Contents of lead, cadmium and mercury. In *Roczniki Panstwowejo Zakladu Higieny*, 41, 3-4, 1990, p.11-131

Pod'akovanie:

Práca vznikla v rámci projektu VEGA 1/4428/07.

Kontaktná adresa:

Ing. Linda Peltznerová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KCH, Trieda A. Hlinku 2. Tel.: 037 641 4497, E-mail: linda.peltznerova@gmail.com

NUTRIČNÉ UKAZOVATELE A RIZIKÁ U DETÍ ZÁKLADNÝCH ŠKÔL

NUTRITIONAL INDICATORS AND RISKS IN PUPILS FROM ELEMENTARY SCHOOLS

Katarína Fatrcová-Šramková, Alena Gregušová

ABSTRACT

The aim of the study was to collect and analyze dietary patterns in a group of 392 children; to evaluate differences in food consumption between girls (n = 204) and boys (n = 188) from elementary schools in Nitra, aged 8,82 to 15,87 years (average age 12,60 ± 2,02 years). Children's parents completed a questionnaire about food habits. Participants' age was calculated according to methodology of World Health Organization. Overweight and obesity prevalence were evaluated in randomly selected group of probands. Body mass index was calculated as kg.m². In the study several statistically significant differences between girls and boys were detected. More girls than boys consume müsli products and oat flakes nearly daily or 1-4 times a week (P < 0,05); and fruit minimal once a day (P < 0,05); more girls prefer hard cheeses (P < 0,05); and consume snack fruit, vegetable or dairy product (P < 0,01). More boys eat at second supper fruit, vegetable or dairy product (P < 0,05), more boys consume milk daily (P < 0,01) and less boys than girls eat sweets minimal once a week (P < 0,05). This work was supported by project „Healthy city Nitra“.

Keywords: nutrition, dietary patterns, anthropometry, pupils, elementary schools, Nitra

ÚVOD

Základy stravovacích návykov sa budujú v detskom veku, často pretrvávajú v ďalších vekových obdobiach a môžu tak následne ovplyvniť zdravotný stav, vznik a vývoj metabolických chorôb v dospelom i vo vyššom veku.

Početné štúdie dokumentujú vplyv nesprávnej výživy v patogenéze závažných zdravotných problémov súčasnej doby, akými sú kardiovaskulárne a nádorové choroby, obezita, *diabetes mellitus*, či osteoporóza. Ide o ochorenia, ktoré sa zväčša prejavujú v dospelom veku, vyvíjajú sa však roky až desaťročia a často sú dôsledkom nesprávnej výživy v detstve a mladosti (Kramárová et al., 2001; Fussenegger et al., 2008; Hlavatá, 2007; Capcarová et al., 2009).

Podľa medzinárodnej skupiny boja proti obezite (IOTF – International Obesity Task Force) má 14 miliónov detí v EÚ nadváhu a 3 milióny z nich sú obezité. Počet detí s nadváhou a obezitou sa v súčasnosti v celej EÚ zvyšuje o viac ako 400 tisíc ročne. Postihnuté je takmer jedno dieťa zo štyroch. Na Slovensku sa obezita konštatuje asi u 12 % detí a ďalších 6 % trpí miernou nadváhou (Béderová, 2003; Liba a Petrasová, 2006).

Cieľom práce bolo zhodnotiť porovnanie stravovacích návykov a vybraných nutričných parametrov detí základných škôl podľa pohlavia a poukázať na nedostatky v stravovaní detí školského veku s ohľadom na nutričné odporúčania a zásady správneho životného štýlu v prevencii civilizačných chorôb.

MATERIÁL A METODIKA

Stravovacie zvyklosti sme zisťovali a hodnotili u 392 detí školského veku zo základných škôl v Nitre, z ktorých bolo 204 dievčat a 188 chlapcov (52,04 % a 47,96 %) vo veku 8,82-15,87 rokov (priemerný vek 12,60 ± 2,02 rokov). Vek detí bol určený podľa WHO z dátumu narodenia a dátumu vyšetrenia. Súbor tvorilo 35,71 % detí vo veku 12 rokov a menej a zvyšných 64,29 % bolo starších ako 12 rokov.

Zvyklosti v stravovaní sme zisťovali použitím dotazníkovej metódy. Dotazník vyplňali rodičia náhodne vybraných detí. V práci sme využili modifikovaný dotazník, použitý v predchádzajúcej štúdiu stravovacích návykov žiakov základných škôl na Slovensku (Babinská et al., 2007; Babinská et al., 2008). Medzi dievčatami a chlapcami sme

Tabuľka 1. Základná charakteristika detí

	n = 392	
	dievčatá (n = 204)	chlapci (n = 188)
Vek (roky)		
priemer ± SD	12,60 ± 2,00	13,95 ± 0,35
medián	13,23	14,00
modus	14,01	14,00
Telesný tuk (%)		
priemer ± SD	25,08 ± 6,23	23,21 ± 8,90
medián	25,00	23,10
modus	25,00	23,10
Telesný tuk (kg)		
priemer ± SD	12,15 ± 5,19	11,92 ± 6,36
medián	11,25	10,10
modus	11,80	9,00

SD - smerodajná odchýlka

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pomer obvodu pásu a obvodu bokov bol u dievčat $0,78 \pm 0,05$ a u chlapcov $0,83 \pm 0,06$; čo je v oboch prípadoch v rámci normálnej hodnoty uvádzaného rozpätia do 0,8 u dievčat a do 0,9 u chlapcov. Hodnoty WHR indexu sú spoľahlivým ukazovateľom tzv. viscerálneho tuku (tuku v okolí vnútorných orgánov), ktorý je metabolicky najaktívnejším tukovým tkanivom. Slúži ako zásobáreň tukov a má súvislosť s poruchami metabolizmu lipidov a glukózy. Priemerný podiel telesného tuku bol u dievčat i u chlapcov (tab. 1) nad hornou hranicou uvádzaného rozpätia 16-22 % pre dievčatá a 14-20 % pre chlapcov vo veku 7-17 rokov (URL). Väčšina detí (66,7 % dievčat a 60,1 % chlapcov) mala podiel telesného tuku nad hornou hranicou uvedeného rozpätia (tab. 2). Pri hodnotení indexu telesnej hmotnosti (tab. 3) sme pozorovali v 4. – 6. percentilovom pásme stredných hodnôt o 5,93 % nižší podiel chlapcov ako dievčat. Vysoké až veľmi vysoké

hodnoty BMI však dosiahla viac ako tretina oboch podskupín žiakov. Približne každé piate dieťa sa vyznačovalo nízkou alebo veľmi nízkou hodnotou BMI.

V skupinách detí s rôznym pohlavím sme hodnotili nutričné zvyklosti. Z hodnotenia frekvencie denného príjmu stravy sme zistili, že dievčatá prijímajú stravu priemerne $4,63 \pm 0,99$ -krát

a chlapci $4,80 \pm 1,14$ -krát. Frekvencia príjmu potravy 1-2 krát za deň (u 2,45 % dievčat a 0,53 % chlapcov; $P \geq 0,05$) nie je pre rastúci organizmus dieťaťa, ale ani dospelého človeka vhodná aj z dôvodu ukladania tukových zásob v organizme a možného rizika nadhmotnosti a obezity.

Najväčšiu porciu jedla predstavuje u väčšiny detí (83,82 % dievčat a 77,13 % chlapcov) obed. Na druhom mieste tvorí najväčší podiel z dennej stravy večera u každého šiesteho žiaka. K alarmujúcim zisteniam patrí, že raňajky prijíma pravidelne len takmer každé druhé dieťa, a pritom raňajky majú tvoriť

základ celodenného stravovania. Výskumné práce z posledného obdobia poukazujú na riziká súvisiace s vynechávaním raňajok a prinášajú argumenty v prospech ich pravidelnej konzumácie. U detí, ktoré raňajkujú, sa pozorovalo celkovo lepšie nutričné zloženie stravy a vyváženejší príjem živín v porovnaní s deťmi, ktoré raňajky vynechávajú (Williams, 2007). Ovocie, zeleninu alebo mliečny výrobok pravidelne konzumuje na desiatu 44,12 % dievčat a 30,32 % chlapcov ($P < 0,01$). Pravidelne máva sladkosť alebo jedlo z bufetu (hot-dog, hamburger, bagetu...) na desiatu takmer každý siedmy a na olovrant každý šiesty žiak. Olovrant nejedáva 12 % žiakov. Nepravidelne obeduje 10 % detí. Nevečeria resp. nepravidelne večeria takmer každé šieste dievča a každý desiaty chlapec. Na druhú večeru jedáva nutrične hodnotné potraviny – ovocie, zeleninu alebo mliečny výrobok 24,02 % dievčat a 34,04 % chlapcov ($P < 0,05$).

Tabuľka 2. Podiel telesného tuku (%)

dievčatá			chlapci		
Tuk (%)	n	%	Tuk (%)	n	%
<16,0	13	6,37	<14,0	31	16,49
16,0 – 19,0	21	10,29	14,0 – 17,0	21	11,17
19,1 – 22,0	28	13,73	17,1 – 20,0	22	11,70
>22,0	142	69,61	>20,0	114	60,64
spolu	204	100,00	spolu	188	100,00

Tabuľka 3. Súhrnné hodnotenie indexu telesnej hmotnosti pomocou percentilových grafov

Percentilové pásmo	Percentil	Hodnoty	dievčatá (n = 204)		chlapci (n = 188)	
			n	%	n	%
1-3	< 24.	veľmi nízke/nízke	36	17,65	39	20,74
4-6	25. – 75.	stredné	100	49,02	81	43,09
7-9	> 76.	vysoké/veľmi vysoké	68	33,33	68	36,17

$P \geq 0,05$

porovnali vybrané nutričné parametre ako aj ďalšie stravovacie návyky detí.

U detí sme merali telesnú hmotnosť (na osobnej váhe), telesnú výšku, obvod pásu a bokov (pásovým meradlom), ako aj podiel telesného tuku (v percentách a v kilogramoch) tukomerom a metódou bioelektrickej impedancie. Na základe údajov o telesnej výške a hmotnosti sme vypočítali index telesnej hmotnosti (body mass index – BMI) ako podiel hmotnosti a druhej mocniny telesnej výšky ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$). BMI sme hodnotili podľa percentilových grafov (Ševčíková et al., 2004). Z obvodu pásu a bokov sme vypočítali index centrality, tzn. pomer pás-boky (WHR; waist to hip ratio) ako podiel obvodu pásu a bokov v centimetroch. Na štatistické hodnotenie sme použili software Statgraphics Centurion a výsledky sme hodnotili chí-kvadrát testom.

Tabuľka 4. Konzumácia mlieka

	dievčatá		chlapci	
	n	%	n	%
denne	84	41,18	106	56,38 ⁺⁺
1 až 6-krát/týždeň	64	31,37	48	25,53
menej ako raz/týždeň	31	15,20	18	9,57
nepije	25	12,25	16	8,51
spolu	204	100,00	188	100,00

⁺⁺P < 0,01

Celozrnný chlieb zvyčajne konzumuje približne každý siedmy a biely chlieb každý piaty žiak. Z pečiva zvyčajne jedáva biele pečivo každý štvrtý žiak, každý ôsmy celozrnné a každý 16. žiak sladké druhy pečiva (P ≥ 0,05). V konzumácii výrobkov typu mäsli, ovsených vločiek s frekvenciou takmer denne alebo 1- až 4-krát týždenne sme zistili štatisticky významné rozdiely medzi dievčatami (59,81 %) a chlapcami (47,87 %) (P < 0,05). Nedostatočný príjem strukovín (menej ako dvakrát za mesiac) sme zistili až u 40,96 % chlapcov a o 3,71 % menej dievčat (P ≥ 0,05). Aspoň raz denne prijíma ovocie 47,34 % chlapcov, čo predstavuje významný štatistický rozdiel oproti dievčatám, ktorých podiel s denným príjmom ovocia bol

Tabuľka 5. Konzumácia mliečnych výrobkov

	dievčatá		chlapci	
	n	%	n	%
denne	101	49,51	98	52,13 ⁻
1 až 6-krát/týždeň	72	35,29	71	37,76
menej ako raz/týždeň	31	15,20	19	10,11
spolu	204	100,00	188	100,00

⁻P ≥ 0,05

o 10,5 % vyšší (P < 0,05). Za absolútne nedostatočný príjem ovocia považujeme jeho konzum s frekvenciou menej ako raz za týždeň v prípade približne každého siedmeho žiaka v sledovanom súbore. Časť súboru, ktorá má ovocie zaradené v stravovaní denne, ho prijíma s priemernou frekvenciou dvakrát denne v množstve približne 4 kusy (dievčatá 2,10 ± 1,42 -krát a chlapci 1,85 ± 1,33 -krát v množstve 3,50 ± 2,60 ks a 3,76 ± 9,76 ks za deň). Tí študenti, pri ktorých bola uvádzaná nie denná, ale

Tabuľka 6. Konzumácia syrov

	dievčatá		chlapci	
	n	%	n	%
denne	64	31,37	58	30,85 ⁻
1 až 6-krát/týždeň	93	45,59	83	44,15
menej ako raz/týždeň	35	17,16	38	20,21
nejedáva	12	5,88	9	4,79
spolu	204	100,00	188	100,00

⁻P ≥ 0,05

týždenná spotreba ovocia, konzumujú ovocie v priemere takmer štyrikrát týždenne a to spolu päť kusov (dievčatá 3,51 ± 1,33 -krát a chlapci 3,56 ± 2,43 -krát v množstve 5,12 ± 2,95 ks a 5,19 ± 4,13 ks za týždeň).

Pri konzumácii zeleniny minimálne jedenkrát denne (u celkovo približne 40 % detí) sme medzi podskupinami nezistili štatisticky významné rozdiely. Menej ako jedenkrát týždenne, t.j. absolútne nedostatočne konzumuje zeleninu takmer každý štvrtý žiak. Zavárané ovocie a džemy prijíma niekoľkokrát za týždeň štvrtina dievčat i chlapcov (P ≥ 0,05) s frekvenciou dvakrát týždenne. Nepriaznivou skutočnosťou tiež je, že len približne štvrtina žiakov (23,53 % dievčat a 25 % chlapcov; P ≥ 0,05) konzumuje čerstvé zeleninové šaláty takmer denne a tiež zistenie, že ich vôbec nejedáva približne každý štvrtý člen sledovaného súboru (P ≥ 0,05). Na význam ovocia a zeleniny ako dôležitého zdroja antioxidantne účinných zložiek u detí poukazujú viaceré ďalšie práce (Fatrcová-Šramková a Gregušová, 2009, Gregušová a Fatrcová-Šramková, 2009). Význam príjmu mikronutrientov a ich vplyv na kognitívne funkcie u detí školského veku dokazuje aj štúdia Muthayya et al. (2009). Odporúčaním v zásadách racionálnej výživy je zníženie príjmu rafinovaného cukru a cukrárenských výrobkov (s ohľadom na prevenciu obezity detí, *diabetes mellitus* a zubného kazu) a potreba zvýšenia príjmu komplexných sacharidov (zo zdojov: zemiaky, strukoviny, čerstvé ovocie a zelenina, celozrnné pečárenské výrobky) (Liba, Petrasová, 2006). Sladkosť konzumovalo minimálne raz týždenne alebo dokonca denne 97,54 % dievčat a štatisticky preukazne menej (90,96 %) chlapcov (P < 0,05). Takmer nikdy ich nekonzumovalo len 0,98 % dievčat a 3,72 % chlapcov. Dievčatá zjedli v priemere za týždeň 4,31 ± 1,96 ks sladkostí a chlapci 4,98 ± 4,06 ks. V prípade hodnotenia konzumácie jednotlivých druhov sladkostí sa ukázalo, že neboli štatistické rozdiely medzi skupinami detí. Napolitánky a keksy preferuje 57,14 % detí, čokoládu a čokoládové tyčinky 49,23 %, celozrnné fit tyčinky 18,37 % a pečené torty a zákusky 8,93 % detí.

Denne konzumuje mlieko (tab. 4) štatisticky významne viac chlapcov ako dievčat (56,38 % versus 41,18 %; P < 0,01). Uvádzané denne skonzumované množstvo mlieka bolo 3,40 ± 2,35 dl u dievčat a 3,68 ± 2,45 dl u chlapcov. Mlieko nepije viac dievčat (12,25 % versus 8,51 %). Zvyšná časť súboru konzumuje mlieko týždenne v množstve od 9,96 ± 22,23 dl u dievčat do 11,60 ± 19,87 dl u chlapcov. Pri sledovaní druhu konzumovaného mlieka u detí, ktoré mlieko konzumujú, sme nezistili štatisticky významné rozdiely. Viac ako polovica dievčat i chlapcov prijíma polotučné mlieko (58,82 % a 57,45 %). Podiel žiakov, ktorí uvádzali dennú alebo týždennú konzumáciu mliečnych výrobkov (tab. 5), bol 84,80 % dievčat a 89,89 % chlapcov (P ≥ 0,05) s denne prijímaným množstvom od 1,88 ± 1,01 ks do 1,93 ± 1,37 ks a v prípade týždenného konzumu s uvádzaným množstvom 3,99 ± 1,75 ks a 3,89 ± 1,82 ks jednotlivo u dievčat a chlapcov. Konzumu mlieka a mliečnych výrobkov sa v detskom veku, vrátane školského veku, venuje zvláštna pozornosť. Táto problematika bola predmetom viacerých výskumov (Fatrcová-Šramková et al., 2009).

Pre tri štvrtiny žiakov (76,96 % dievčat a 75 % chlapcov) bola charakteristická denná alebo týždenná konzumácia

Tabuľka 7. Druh konzumovaných syrov

	dievčatá		chlapci	
	n	%	n	%
prevažne tvarohové*	8	4,41	10	5,32 ⁻
prevažne tvrdé	51	26,47	32	18,09 ⁺
prevažne tavené	39	20,10	43	23,94 ⁻
striedavo	94	49,02	94	52,66 ⁻
spolu	192*	100,00	179*	100,00

** napr. cottage, lučina a pod.,* Poznámka: len u detí, ktoré mlieko konzumujú

⁻P ≥ 0,05, ⁺P < 0,05

syrov (tab. 6). Nesignifikantný rozdiel bol zistený v dennej konzumácii syrov u takmer tretiny žiakov.

Štatisticky významné rozdiely neboli zistené medzi skupinami žiakov konzumujúcimi prevažne tvarohové (napr. cottage, lučina a pod.), tavené, resp. striedavo rôzne druhy syrov (tab. 7). Významný rozdiel bol zistený

Tabuľka 8. Druh konzumovaných syrov podľa obsahu tuku

	dievčatá		chlapci	
	n	%	n	%
prevažne nízkotučné	46	24,02	41	22,87 ⁻
prevažne plnotučné	73	38,24	69	38,30 ⁻
neviem	72	37,75	70	38,83 ⁻
spolu	192*	100,00	179*	100,00

* Poznámka: u detí, ktoré syry konzumujú

⁻P ≥ 0,05

u žiakov konzumujúcich prevažne tvrdé syry (P < 0,05). Tvrdé syry konzumovalo o 8,38 % viac dievčat.

U detí konzumujúcich syry neboli zistené žiadne štatisticky významné rozdiely v konzumácii rôznych druhov syra podľa obsahu tuku. Viac ako pätina si vyberá prevažne nízkotučné druhy, 38 % detí naopak plnotučné syry (tab. 8). Deti s vysokými hodnotami BMI nachádzajúce sa v percentilových pásmach vysokých a veľmi vysokých hodnôt by sa mali od detského veku vyhýbať potravinám obsahujúcim zvýšené množstvo tukov, a teda aj konzumu prevažne plnotučných syrov, lebo vyšší príjem tuku je jedným z rizikových faktorov rozvoja obezity a ďalších civilizačných chorôb resp. metabolických porúch.

U žiakov pozorujeme výraznú preferenciu hydínového mäsa, ktorá tvorí 86,27 %. Konzumácia hydínového mäsa zodpovedá výživovým požiadavkám. Naopak nepriaznivé

Tabuľka 9. Frekvencia konzumácie mäsa ($\bar{x} \pm s$)

	dievčatá	chlapci
bravčové za týždeň	2,00 ± 1,11	1,93 ± 1,42
hovädzie za mesiac	1,60 ± 1,09	1,53 ± 1,36
hydínové za týždeň	2,39 ± 1,14	2,39 ± 1,67

je zistenie, že až 6,37 % dievčat a 5,85 % chlapcov mäso nejedáva (P ≥ 0,05). Hovädzie mäso konzumuje viac ako tretina detí a bravčové viac ako polovica bez výrazných rozdielov podľa pohlavia detí. Frekvencia konzumu je v tab. 9. Mäso je významným zdrojom esenciálnych aminokyselín a dôležitého mikroelementu železa. Je potrebné, aby sa pri výbere mäsa zohľadňovali skryté tuky. Ryby poskytujú významné látky, ako sú n-3 mastné kyseliny, jód, potrebný na správnu funkciu štítnej žľazy a vitamín D. Zistili sme výrazný deficit pri konzumácii rýb. Konzumácia rýb deťmi nezodpovedá odporúčaniam podľa pyramídy zdravej výživy. Ryby konzumuje každý týždeň 9,80 % dievčat a 14,36 % chlapcov (P ≥ 0,05). Menej ako raz týždenne sú ryby súčasťou jedálneho lístka až polovice detí.

Zo sledovaní prisáľania jedál vyplýva, že takmer zakaždým konzumuje dosáľané jedlo 19 % detí a len ojedinele 57 % (P ≥ 0,05). Je dôležité, aby si deti neosvojili príliš časté používanie kuchynskej soli, ktorá sa môže podieľať na rozvoji hypertenzie.

ZÁVER

Z výsledkov sme dospeli k záveru, že deti zo základných škôl v Nitre prijímajú potravu v odporúčanej frekvencii príjmu stravy počas dňa, pričom obed tvorí u oboch pohlaví najväčšiu porciu jedla počas celého dňa. Nepriaznivé je zistenie, že raňajkuje len polovica žiakov. Vynechanie raňajok a následné nárazové dopĺňanie energie vo večerných hodinách môže mať za následok vyšší podiel telesného tuku v organizme. V skupine dievčat i chlapcov sme pozorovali percentuálny podiel telesného tuku nad hornou hranicou odporúčaného rozpätia. Vysokým až veľmi vysokým hodnotám BMI zodpovedala viac ako tretina dievčat i chlapcov. Pri sledovaní konzumácie celozrnných výrobkov sme zistili, že len malý podiel detí tieto výrobky konzumuje pravidelne každý deň, čo nezodpovedá odporúčaniam podľa potravinovej pyramídy a ich konzumácia by sa mala zvýšiť. Pozitívne hodnotíme konzumáciu ovocia u polovice detí a zeleniny u 40 % s frekvenciou minimálne raz denne. Negatívne hodnotíme spotrebu strukovín, ktoré konzumuje min. 2-krát týždenne len štvrtina dievčat a pätina chlapcov. Alarmujúca je konzumácia sladkostí. Ich konzumácia vedie okrem iného aj k zubnému kazu, ktorý možno tiež zaradiť k rozširujúcim sa civilizačným ochoreniam. U oboch pohlaví prevládala konzumácia napolitánok a keksov. Každý týždeň má ryby vo svojom stravovaní malý podiel žiakov. Súbor nezodpovedá odporúčaniam na konzum aspoň jednej porcie rýb týždenne.

Z preukázaných rozdielov medzi dievčatami a chlapcami vyplýva, že viac dievčat konzumuje výrobky typu mäsli, ovsených vločiek s frekvenciou takmer denne alebo 1 až 4-krát týždenne; tiež viac dievčat aspoň raz denne prijíma ovocie, konzumuje prevažne tvrdé syry a konzumuje na desiatu ovocie, zeleninu alebo mliečny výrobok. U chlapcov sme zase zistili vyšší podiel tých, ktorí na druhú večeru jedávajú nutrične hodnotné potraviny – ovocie, zeleninu alebo mliečny výrobok, ďalej vyšší podiel konzumujúcich mlieko denne a menší podiel konzumujúcich sladkosti minimálne raz týždenne.

Základom všetkých preventívnych opatrení je budovať správne stravovacie návyky a zdravý životný štýl už od detského veku s cieľom prevencie civilizačných

(metabolických) chorôb v nasledujúcich vekových obdobiach.

LITERATÚRA

- BABINSKÁ, K., VITÁRIUŠOVÁ, E., HLA VATÁ, A., ROSINSKÝ, J., BABINSKÁ, K. ml., KOŠŤÁLOVÁ, L., PRIBILINCOVÁ, Z., KOVÁCS, L. 2008. Stravovacie návyky žiakov základných škôl na Slovensku. In *Nové trendy vo výžive detí*. Bratislava : Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, 2008. s. 17-28. ISBN 978-80-223-2430-4.
- BABINSKÁ, K., VITÁRIUŠOVÁ, E., ROSINSKÝ, J., BABINSKÁ, K. ml., KOŠŤÁLOVÁ, L., HLA VATÁ, A., PRIBILINCOVÁ, Z., KOVÁCS, L. Stravovací režim školákov na Slovensku. In *Pediatrica pre prax*, roč. 8, 2007, č. 4, s. 217 – 220.
- BÉDEROVÁ, A. 2003. Príloha o racionálnej výžive v škole a rodine. Prevencia a učelia. In *Rodina a škola*, roč. 51, 2003, č. 7, s. 29.
- CAPCAROVÁ, M., KOVÁČIK, J., MELLEN, M. 2009. Zmeny biochemických ukazovateľov krvi hydiny po aplikácii probiotického preparátu. SPU : Nitra, v tlači, ISBN 978-80-552-0206-8.
- FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K., GREGUŠOVÁ, A. 2009. Potravinové zdroje antioxidantov vo výžive detí školského veku. In *Antioxidanty 2009*. Zborník recenzovaných prác z I. ročníka vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra : SPU, 2009. s. 56-63. ISBN 978-80-552-0209-9
- GREGUŠOVÁ, A., FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K. 2009. Zastúpenie prirodzených nízkomolekulových antioxidantov vo výžive detí školského veku v nitrianskom regióne. In *Antioxidanty 2009*. Zborník recenzovaných prác z I. ročníka vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra : SPU, 2009. s. 74-82. ISBN 978-80-552-0209-9
- FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, K., KOLESÁROVÁ, A., BABINSKÁ, K. 2009. Konzum mlieka a mliečnych výrobkov u detí školského veku. In *XXVI. Zoborský deň a VII. Západoslovenský deň o osteoporóze 2009*. Zborník vedeckých prác z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra : SPU, 2009. s. 41-49. ISBN 978-80-552-0169-6
- FUSSENEGGER, D., PIETROBELLI, A., WIDHALM, K. 2008. Childhood obesity: political developments in Europe and related perspectives for future action on prevention. In *Obesity Reviews*, vol. 9, 2008, no. 1, p. 76-82.
- HLAVATÁ, A. 2007. Obézne dieťa v ambulancii lekára pre deti a dorast. Klinické odporúčania I. In *Pediatrica pre prax*, roč. 8, 2007, p. S12-16.
- KRAMÁROVÁ, M., BUDÁČOVÁ, A., KOVÁČIK, J., SALAGO VÁ, Z. 2001. Dynamika vybraných biochemických ukazovateľov hydiny počas znáškového cyklu pri použití probiotík. In *V. Pracovní setkání biochemiků a molekulárních biologů*. Brno : MU, 2001, s. 46. ISBN 80-210-2538-7.
- LIBA, J., PETRASOVÁ, A. 2006. Stravovacie návyky žiakov mladšieho školského veku vo vzťahu k zdraviu. In *2. konferencie ŠKOLA A ZDRAVÍ 21*. [on line]. 2006. [cit. 2009-03-24]. Dostupné na internete : <http://www.ped.mudi.cz/z21/sbornik_06/pdf/073.pdf>
- MUTHAYYA, S., EILANDER, A., TRANSLER, C. et al. 2009. Effect of fortification with multiple micronutrients and n-3 fatty acids on growth and cognitive performance in Indian schoolchildren: the CHAMPION (Children's Health and Mental Performance Influenced by Optimal Nutrition) Study. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 89, no. 6, p. 1766-1775.
- ŠEVČIKOVÁ, L., NOVÁKOVÁ, J., HAMADE, J. et al. 2004. Percentilové grafy a antropometrické ukazovatele: Telesný vývoj detí a mládeže v SR. Úrad verejného zdravotníctva, 2004. s. 6-13.
- URL: Váha s orientačným meraním množstva telesného tuku. Dostupné na internete: <<http://www.lymfo.sk/vaha.html>> 10.3.2009
- WILLIAMS, P. 2007. Breakfast and the diets of Australian children and adolescents : an analysis of data from the 1995 National Nutrition Survey. In *J Food Sci Nutr 2007*. [on line]. 2007. [cit. 2009-03-24]. Dostupné na internete: <<http://ro.uow.edu.au/cgi/viewcontent.cgi?article=1052&context=hbpapers>>

Pod'akovanie:

Práca bola riešená v rámci projektu „Nitra-Zdravé mesto“.

Kontaktná adresa:

Ing. Katarína Fatrcová-Šramková, PhD., Katedra výživy ľuďí FAPZ SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: katarina.sramkova@gmail.com

SLEDOVANIE OBSAHU ŤAŽKÝCH KOVOV V MRAZENEJ ZELENINE

HEAVY METALS CONTENT MONITORING IN FROZEN VEGETABLES

Gabriela Szabóová, Ján Tomáš, Ľuboš Harangozo, Lívia Krížová, Július Árvay

ABSTRACT

Frozen vegetables such as fresh vegetables, as a group, are low fat, low energy, relatively low protein, but are high carbohydrate, high fibre foods which provide significant levels of certain micronutrients to the diet. The monitoring of heavy metals content in vegetables is very important because vegetable consumption is high. The aim of this research was to classify heavy metals (Cd, Pb, Zn, Cu and Hg) content of chosen kinds of freeze-dried frozen vegetables on the base of results chemical analysis. The metals are extracted from their matrix by using nitric acid in a closed-vessel microwave digestion system for their subsequent detection by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The mercury contents was determined direct at AMA 254 apparatus. Obtained results of heavy metals content were compared with their maximum admissible amounts by Slovak standards. The content of Cd has been excess in the samples frozen peas (0.08 mg.kg⁻¹), leek (0.10 mg.kg⁻¹), cauliflower (0.13 mg.kg⁻¹), broccoli (0.02 mg.kg⁻¹), sweet maize (0.13 mg.kg⁻¹). The content of Pb has been excess in the samples frozen peas (0.25 mg.kg⁻¹), brussels sprouts (0.17 mg.kg⁻¹), sweet maize (0.11 mg.kg⁻¹). Most significant allowable quantity of heavy metals, specified with the norms of Food codex of Slovak republic, was not discovered in other frozen vegetables samples.

Keywords: frozen vegetables, heavy metals, chemical analysis

ÚVOD

Zelenina predstavuje vo výžive človeka kvalitatívne veľmi dôležitú súčasť. Jej najvýznamnejšími zložkami je vysoký obsah vitamínov, minerálnych prvkov, vlákniny a ďalších látok, ktoré človek potrebuje pre svoj zdravotný vývoj (Meravá, 2003). V priemere obsahuje približne 30 % vitamínu C, 20 % vitamínu A (v podobe karotenoidov) a 10 % vitamínov B a železa (Bushway et al., 1989). Epidemiologické štúdie preukazujú, že vysoká spotreba ovocia a zeleniny môže prispieť k zníženiu ľudskej úmrtnosti, spôsobenú chronickými chorobami, takými ako sú kardiovaskulárne ochorenia, rakovina a obezita (Besa-Rastrollo et al., 2006). Svetová zdravotnícka organizácia doporučuje konzumáciu najmenej 400g alebo 5 porcií ovocia a zeleniny denne (WHO, 2003). Spotrebiteľia vidia čerstvú zeleninu ako prirodzenú, zdravú a preto plnú živín, zatiaľ čo na proces mrazenia sa pozerá ako spôsob, ktorý znižuje výživnú hodnotu. Makhlouf, Zee, Tremblay et al. (1995) uvádzajú, že surová zelenina varená za optimálnych podmienok má obsah nutrientov podobný s mrazenou zeleninou. Obsahy niektorých vitamínov (vitamín C, riboflavín a thiamín) a minerálnych látok (K,

Mg a Fe) boli vyššie v mrazených produktoch ako v konzervovanej zelenine.

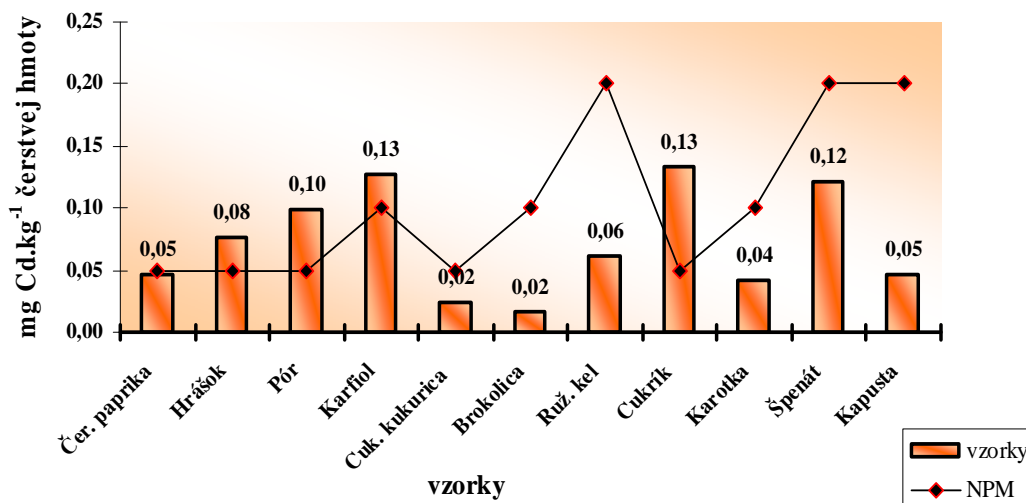
Pri vyzdvihovalí kladných účinkov zeleniny a ovocia nemôžeme nespomenúť i vplyvy negatívne. Ide hlavne o obsah ťažkých kovov. Na tieto súvislosti je potrebné upozorňovať, aby boli urobené všetky opatrenia potrebné k minimalizácii týchto látok a aby zelenina ako zdroj minerálnych látok nepredstavovali súčasne i potenciálne zdravotné riziko. Pre zdravú výživu obyvateľstva je nevyhnutným predpokladom konzumácia zdravotne neškodných potravín (Hruškovičová, 2005).

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť úroveň kontaminácie mrazenej zeleniny sledovanými ťažkými kovmi v porovnaní získaných obsahov s najvyššími prípustnými množstvami stanovenými v Potravinovom kódexe SR.

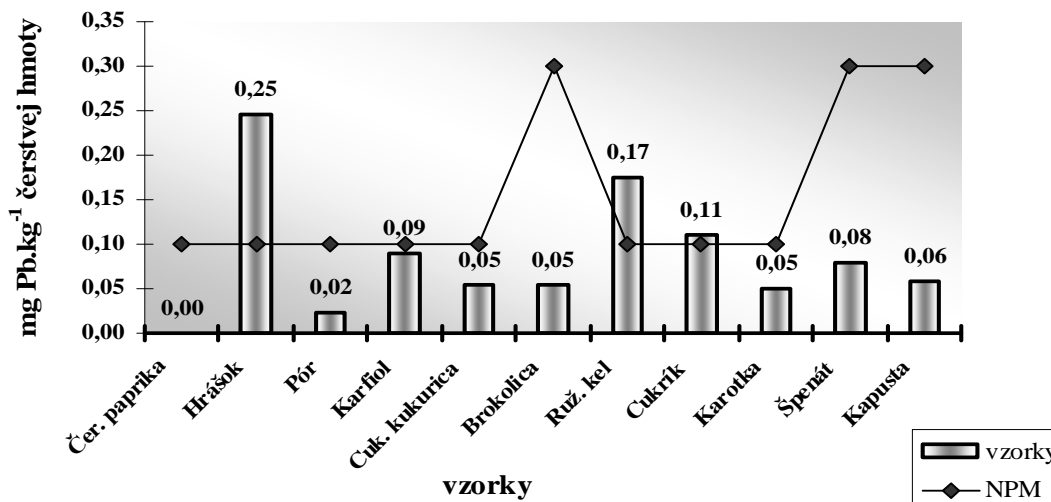
MATERIÁL A METÓDY

V predkladanej práci sme analyzovali vzorky mrazenej zeleniny, v ktorej sme zisťovali obsah rôznych ťažkých kovov (kadmium, olovo, zinok, meď, ortuť). Pred samotnou mineralizáciou sme vzorky zhomogenizovali a lyofilizovali. Lyofilizovanú zeleninu sme mineralizovali

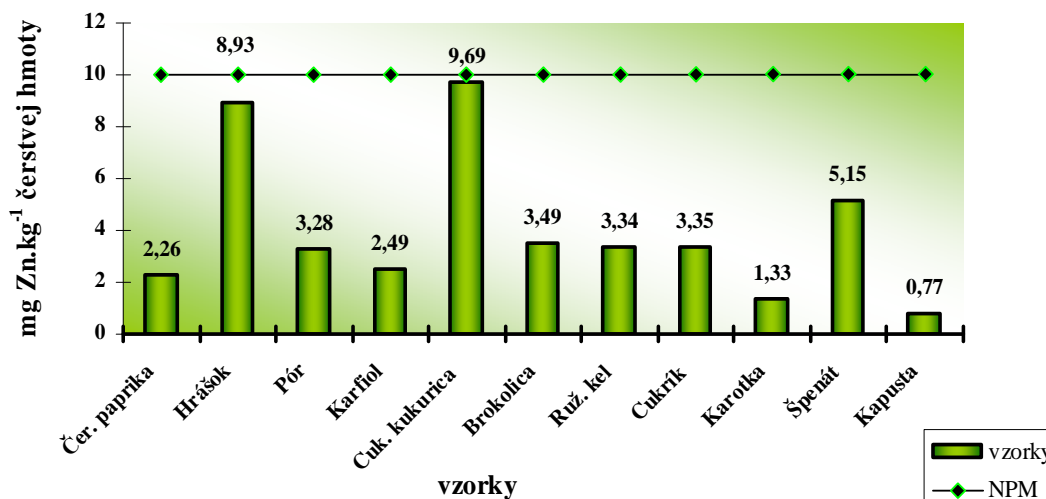
Graf 1: Obsah kadmia v sledovaných vzorkách mrazenej zeleniny



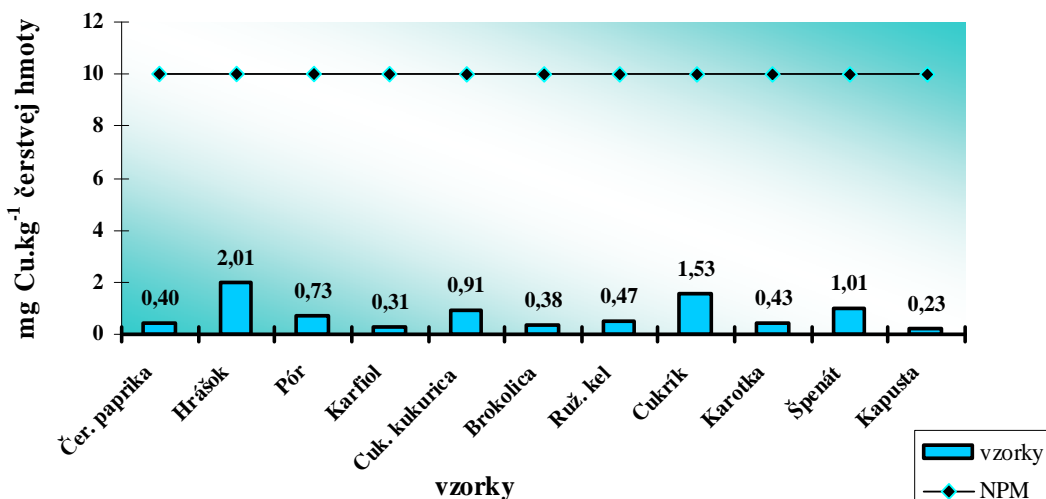
Graf 2: Obsah olova v sledovaných vzorkách mrazenej zeleniny



Graf 3: Obsah zinku v sledovaných vzorkách mrazenej zeleniny



Graf 4: Obsah medi v sledovaných vzorkách mrazenej zeleniny



mokrou cestou v prostredí koncentrovanej kyseliny dusičnej pomocou mikrovlnnej digescie na prístroji MARS X-press podľa príslušnej metodiky XprAG-1 (2004). Po rozklade sme mineralizáty prefiltrovali a zriedili destilovanou vodou na výsledný objem 50 cm³. Analytickou koncovkou bola atómová absorpčná spektrometria na prístroji VARIAN AA 240 FS. Obsah ortuti vo vzorkách zeleniny sme zisťovali na prístroji AMA 254. Získané výsledky sme vyjadrili v mg ťažkých kovov na kg čerstvej hmoty mrazenej zeleniny, ktoré sme následne porovnávali s najvyššími prípustnými množstvami (NPM) stanovenými v Potravinovom kódexe Slovenskej republiky (PK SR, 2004; PK SR, 1994).

Pre potreby práce sme si vybrali nasledovné druhy mrazenej zeleniny: červená paprika, hrášok, pór, karfiol, cukrová kukurica, brokolica, ružičkový kel, mrazená kukurica cukrík, karotka, špenát, kapusta.

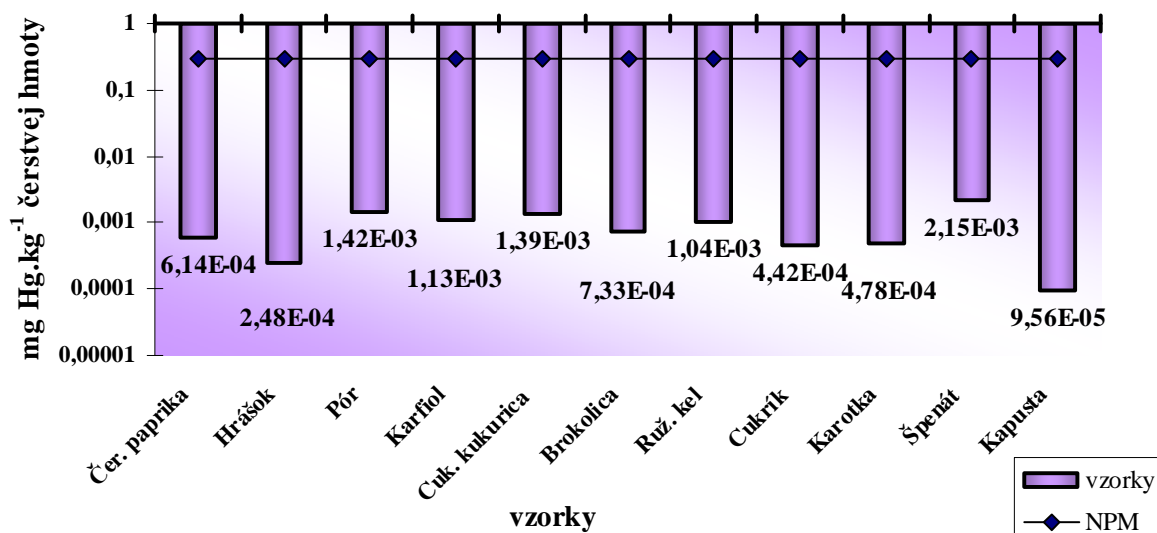
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Získané výsledky chemického rozboru mrazenej zeleniny získanej z mraziarenskeho podniku na Slovensku sme porovnávali s príslušnými legislatívnymi normami platnými na Slovensku a v Európskej únii.

Zhodnotenie obsahu kadmia: v sledovanej skupine mrazenej zeleniny prekročoval najvyššie prípustné množstvá v 36 % prípadov, pričom najvyššie množstvo sme zaznamenali v karfirole a kukurici cukrík. Pri poslednej spomenutej zelenine bola najvyššie prekročená legislatívna norma NPM (0,05 mg.kg⁻¹) a to o 160 %. Prekročenie NPM sme taktiež zaznamenali v hrášku a póre. Obsah sledovaného prvku v jednotlivých vzorkách zeleniny mal nasledovné poradie: cukrová kukurica cukrík ≈ karfiol > špenát > pór > hrášok > ružičkový kel > kapusta ≈ červená paprika > karotka > cukrová kukurica ≈ brokolica

Zhodnotenie obsahu olova: pri tomto prvku NPM bol obsah prekročený v 27 % prípadov, pričom najvyššie množstvo sme zistili v hrášku (0,25 mg.kg⁻¹), kde bola norma prekročená o 150 %. Prekročenie sme zaznamenali ešte pri ružičkovom keli a cukrovej kukurici cukrík. Obsah olova v jednotlivých vzorkách zeleniny mal nasledovné poradie: hrášok > ružičkový kel > cukrová kukurica cukrík > karfiol > špenát > kapusta > karotka ≈ brokolica ≈ cukrová kukurica > pór > červená paprika.

Graf 5: Obsah ortuti v sledovaných vzorkách mrazenej zeleniny



Zhodnotenie obsahu zinku: pri tomto prvku sme nezaznamenali ani pri jednej vzorke zeleniny prekročenie NPM (PK SR, 1994), ktorá je pre túto potravinovú skupinu určená na 10 mg.kg⁻¹. Najbližšie k tejto hodnote boli cukrová kukurica (9,69 mg.kg⁻¹) a hrášok (8,93 mg.kg⁻¹). Obsah zinku v jednotlivých vzorkách mal nasledovné poradie: cukrová kukurica > hrášok > špenát > brokolica > cukrová kukurica cukrík > ružičkový kel > pór > karfiol > červená paprika > karotka > kapusta.

Zhodnotenie obsahu medi: vzhľadom na to, že pri tomto prvku nebola prekročená NPM, ktorá je pre tento prvok určená na 10 mg.kg⁻¹, a taktiež sme nezaznamenali ani zvýšené množstvá, uvádzame len hodnoty obsahu medi v nasledovnom poradí: hrášok > cukrová kukurica cukrík > špenát > cukrová kukurica > pór > ružičkový kel > karotka > červená paprika > brokolica > karfiol > kapusta.

Zhodnotenie obsahu ortuti: pri tomto prvku v sledovanej mrazenej zelenine sme taktiež nezistili prekročenie NPM, určeného PK SR na 0,3 mg.kg⁻¹. Hodnoty obsahov v jednotlivých zeleninách boli dokonca hlboko pod limit. Majú nasledovné poradie: špenát > pór > cukrová kukurica > karfiol > ružičkový kel > brokolica > červená paprika > karotka > cukrová kukurica cukrík > hrášok > kapusta.

ZÁVER

Analýzou 11 vzoriek mrazenej zeleniny sme zistili, že 36 % vzoriek prekročilo najvyššie prípustné množstvá kadmia, 27 % vzoriek prekročilo najvyšší prípustný obsah olova. Zo stanovených hodnôt zinku a medi vyplýva, že všetky hodnotené druhy mrazenej zeleniny vyhovovali požiadavkám Potravinového kódexu SR, t.j. neprekročili najvyššie prípustné množstvo ani v jednom prípade. V prípade ortuti boli zistené množstvá hlboko pod normou. Pre podrobnejšie zhodnotenie kontaminácie mrazenej zeleniny by bolo potrebné vykonať dlhodobjší monitoring mrazenej zeleniny, resp. zistiť dodávateľa kontaminovanej suroviny a vzniknutú situáciu riešiť.

LITERATÚRA

BES-RASTROLLO, M., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., SÁNCHEZ-VILLEGAS, A., De LA FUENTE ARRILLAGA, C., MARTÍNEZ, J. A., 2006. Association of

fibre intake and fruit/ vegetable consumption with weight gain in a Mediterranean population. In *Nutrition*, roč. 5, 2006, č. 22, s. 504–511.

BUSHWAY, R. J., HELPER, P. R., KING, J., PERKINS, B., KRISHNAN, M., 1989. Comparison of ascorbic acid content of supermarket versus roadside stand produce. In *Journal of Food Quality*, roč. 12, 1989, s. 99-105

HRUŠKOVIČOVÁ, A. 2005. Sledovanie ťažkých kovov v niektorých druhoch zeleniny In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín 2005 : zborník vedeckých prác z 1. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou*, Nitra - 1. vyd. - Elektronický konferenčný zborník. - Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005.. s. 59-61. ISBN 80-8069-614-4.

MAKHLOUF, J., ZEE, J., TREMBLAY, N., BÉLANGER, A., MICHAUD, M., GOSSELIN, A. 1995. Some nutritional characteristics of beans, sweet corn and peas (raw, canned, frozen) produced in the province of Quebec. In *Food Research International*, roč. 28, 1995, č. 3, s. 253 – 259

MERAVÁ, E. 2003. Zelenina. *Situačná a výhľadová správa*. Bratislava: Ministerstvo pôdohospodárstva Slovenskej republiky. Výskumný ústav ekonomiky poľnohospodárstva a potravinárstva, 2003, s. 43. ISBN 80-8058-202-5

PK SR 1994. Potravinový kódex Slovenskej republiky zo súvisiacimi predpismi, vyhláška č. 2/1994. Príloha č. 2 vyhlášky Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky „Cudzorodé látky kontaminujúce, časť I. – chemické prvky“. ISBN: 80-88810-96-5

PK SR 2005. Potravinový kódex Slovenskej republiky, príloha č. 2 k desiatej hlave potravinového kódexu. Najvyššie prípustné množstvá kontaminantov v potravinách platné v Slovenskej republike, aktualizované výnosom č. 3372/2004-100 zo 17. januára 2005

Podakovanie:

Práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu V-08-023-00

Kontaktná adresa:

Ing. Gabriela Szabóová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KCH, Trieda Andreja Hlinku 3. Tel.: 037 641 4497, E-mail: gabriela.szaboova@post.sk

ENDOGENNA MYKOCENÓZA PŠENICE SO ZAMERANÍM NA DRUHÝ RODOV *ASPERGILLUS* A *PENICILLIUM*

ENDOGENOUS MYCOBIOTA OF THE WHEAT GRAINS WITH FOCUS ON THE SPECIES OF GENERA *ASPERGILLUS* AND *PENICILLIUM*

Dana Tančinová, Soňa Felšöciová, Mária Dovičičová, Zuzana Mašková, Roman Labuda, Zuzana Barboráková

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the occurrence of *Aspergillus* and *Penicillium* species (along with associated perfects) in the endogenous mycobiota of wheat grains and to determine their *in vitro* potency to produce relevant mycotoxins. A total of 30 wheat samples (*Triticum aestivum* L.) were harvested in the year 2007 in different regions of Slovakia. The endogenous infestation of grains was investigated by direct plating method on Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar (DRBC). In this study, we focused on the incidence of dominating potentially toxigenic storage fungi (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium* and *Emericella*). Particular genera were detected as follows: *Penicillium* in 50 %, *Aspergillus* in 26.66 %, *Eurotium* in 26.66 % and *Emericella* in 3 % of analysed samples. In 39 out of 41 isolates screened (i.e. 95 %) by means of thin layer chromatography (TLC), *in vitro* production of at least one mycotoxin, namely of citrinin, cyclopiazonic acid, griseofulvin, ochratoxin A, patulin and roquefortin C was confirmed. Production of toxicologically most important mycotoxin aflatoxin B₁ by *Aspergillus flavus* isolates was not confirmed by the method used.

Keywords: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Triticum aestivum* L., wheat

ÚVOD

Rast mikromycét v obilninách sa vyskytuje pred zberom (v poľných podmienkach) i počas skladovania. Ich rast v obilninách znižuje ich nutričnú hodnotu a môže tiež viesť k produkcii sekundárnych metabolitov – mykotoxínov, ktoré sú toxické pre človeka i zvieratá (Santin, 2005). Poznanie zloženia ako i zmien v zložení mykocenózy obilných zŕn počas zrenia, zberu a skladovania je významný krok vedúci k predikcii možnosti výskytu mykotoxínov (Andersen a Thrane, 2006). Huby sú dôležitými patogénmi rastlín a hmyzu, ale ich patogenita nie je zanedbateľná ani proti stavovcom, i keď medicínsky dôležitých húb je relatívne málo. Ochorenia vyvolané rastom mikroskopickej huby na živočíšnom hostiteľovi sa súhrnne nazývajú mykózy. Ochorenia vyvolané toxickými metabolitmi húb sa nazývajú mykotoxikózy. Mykotoxíny sa do organizmu môžu dostať diétou, vdýchnutím, pokožkou atď. (Bennett a Klich, 2003). Mnohé z mikroskopických húb, schopných produkovať mykotoxíny sa často vyskytujú ako kontaminanty potravín a poľnohospodárskych komodít. Mykotoxinogénne huby významné v potravinovom reťazci človeka sú zaraďované hlavne do troch rodov: *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* (D'Mello a Macdonald, 1997; Dalcero et al., 1997; Pitt et al. 2000; Pitt, 2000). Zatiaľ čo druhy rodu *Fusarium*, patria medzi patogénov rastlín, produkujú mykotoxíny predovšetkým pred alebo bezprostredne po žatve, druhy rodov *Aspergillus* a *Penicillium* kontaminujú komodity najmä počas sušenia a skladovania (Pitt et al., 2000). Druhy rodov *Aspergillus* Mich.: Fries a *Penicillium* Link: Fr. majú veľké zastúpenie na organických zvyškoch v celosvetovom meradle. Pri skladovaní substrátov s nízkou vlhkosťou ako sú napr. obilniny a krmivá zvierat, xerofilné druhy rodov *Aspergillus* a *Penicillium* sú zvyčajne úplne dominantné (Smith a Ross, 1991). Zberané obilné zrná sú kontaminované mikroorganizmami z viacerých zdrojov ako sú prach, voda, choré rastliny, hmyz, pôda, hnojivá a exkrementy živočíchov (Laca et al., 2006).

Cieľom práce bolo sledovanie endogénnej kontaminácie pšeničných zŕn so zameraním na druhovú diverzitu zástupcov rodov *Aspergillus* (vrátane asociovaných teleomorf) a *Penicillium*. Vybrané izoláty potenciálne toxigénnych druhov boli testované na schopnosť produkovať vybrané mykotoxíny v podmienkach *in vitro*.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky pšenice – tridsať vzoriek pšenice letnej formy ozimnej (*Triticum aestivum* L.) - pochádzalo z úrody roku 2007. Pšenica bola dopestovaná vo viacerých lokalitách Slovenska a odobraná pre mykologické analýzy po zbere alebo počas skladovania, najneskôr 4 mesiace od zberu. Vzorky boli odoberané z lokalít: Oponice (11 vzoriek) a Veľké Lovce (4 vzorky) – konvenčný spôsob obhospodarovania; Martin (6 vzoriek), Dunajská Streda (1 vzorka), Galanta (1 vzorka), Komárno (1 vzorka), Nitra (1 vzorka), Poprad (1 vzorka), Senec (1 vzorka), Stará Ľubovňa (1 vzorka). Hmotnosť jednej vzorky bola cca 5 kg. Endogénna kontaminácia bola zisťovaná po priamej kultivácii povrchovo sterilizovaných pšeničných zŕn na DRBC (agar s dichlóranom, chloramfenikolom a bengálskou červenou; Merck, Nemecko; 100 zŕn; 7 až 8 zŕn na jednu petriho misku). Povrchová sterilizácia bola urobená podľa Samson et al. (2002), pôsobením 0,4 % roztoku chloramínu po dobu dvoch minút. Následne boli zrná trikrát prepláchnuté sterilnou destilovanou vodou. Kultivácia prebiehala 5–7 dní v tme pri teplote 25 ± 1 °C. Na identifikáciu mikroskopických húb sme použili nasledovné živné pôdy (podľa jednotlivých rodov): CYA (Czapkov agar s kvasničným extraktom, Pitt, 1979; Pitt a Hocking, 1997), CY20S (Czapkov agar s kvasničným extraktom a 20 % sacharózy, Pitt a Hocking, 1997, Samson et al., 2002), MEA (agar so sladínovým extraktom, Pitt a Hocking, 1997, Samson et al., 2002), YES (agar s kvasničným extraktom a sacharózou, Samson et al., 2002), CREA (agar s kreatínom a sacharózou; Samson et al., 2002). Identifikácia izolátov sa robila podľa Pitt (1985), Pitt a Hocking (1997), Klich (2002),

Samson et al. (2002), Samson a Frisvad (2004), Samson a Varga (2007).

Stanovenie toxigenity *in vitro*

Schopnosť vybraných izolátov produkovať aflatoxín B₁ (AB₁), citrinín (C), cyklopiazónovú kyselinu (CA), grizeofulvín (G), patulín (P), a roquefortín C (RC) bola zisťovaná v podmienkach *in vitro* tenkovrstvovou chromatografiou (TLC) podľa Samson et al. (2002) modifikované Labudom a Tančinovou (2006). Tri agarové výseky s plochou približne 5 x 5 mm z CYA (pre intracelulárne mykotoxíny: CPA, RC) alebo z YES (pre extracelulárne mykotoxíny: AB₁, C, G, P) boli zmiešané s 500 µl extrakčným činidlom chlorofom metanol (2 : 1). Toxíny boli extrahované na Vortexe (G-560E, Scientific Industries, Bohemia) cca 3 min. Na štart chromatografickej platne (Alugram sil G Macherey-Nagel,

Nemecko) boli nanesené extrakty v množstve 30 až 50 µl a štandardy skrínovaných mykotoxínov 10 µl (Sigma, Nemecko). Po vysušení boli mykotoxíny vyvíjané v chromatografickej sústave TEF (toluén, etylacetát, kyselina mravčia 5 : 4 : 1) a po vysušení detegované na základe fluorescencie a retenčných hodnôt použitých štandard. Vizualizácia aflatoxínu B₁ (modrá škvrna), citrinínu (žltozelená škvrna s chvostom) a grizeofulvínu (modrá škvrna) bola priamo viditeľná pod UV svetlom 365 nm. Pri dennom svetle boli vizualizované cyklopiazónová kyselina – po nanesení Erlichovho činidla (fialová škvrna s chvostom), patulín – po nanesení 0,5 % MBTH (3-metyl-2-benzotiazolióňhydrazón hydrochlorid) v metanole, zahriatí pri 130 °C, 8 min. (žltoranžová škvrna); penitrém A – po nanesení 20 % AlCl₃ v 60 % etanole a zahriatí pri 130 °C, 8 min (tmavozelená až čierna

Tabuľka 1 Výskyt druhov rodov *Aspergillus* (vrátane teleomorf) a *Penicillium* v povrchovo sterilizovaných zrnách pšenice na DRBC*

Identifikované druhy	Počet endogénne kontaminovaných zrn	Frekvencia výskytu v %
<i>Aspergillus flavus</i>	34	20
<i>Aspergillus niger</i>	2	3,33
<i>Aspergillus ochraceus</i>	1	3,33
<i>Aspergillus sydowii</i>	2	6,66
<i>Aspergillus tritici</i>	2	3,33
<i>Aspergillus versicolor</i>	2	3,33
<i>Aspergillus</i> sp.	11	13,33
<i>Aspergillus</i>	54	26,66
<i>Emericella nidulans</i>	2	3,33
<i>Emericella</i>	2	3,33
<i>Eurotium amstelodami</i>	3	2,66
<i>Eurotium repens</i>	1	3,33
<i>Eurotium herbariorum</i> skupina	11	3,33
<i>Eurotium</i> sp.	6	16,66
<i>Eurotium</i>	23	26,6
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	17	23,33
<i>Penicillium brevicompactum</i>	12	6,66
<i>Penicillium citrinum</i>	2	6,66
<i>Penicillium chrysogenum</i>	8	13,33
<i>Penicillium coprophilum</i>	1	3,33
<i>Penicillium expansum</i>	3	6,66
<i>Penicillium hordei</i>	3	3,33
<i>Penicillium griseofulvum</i>	21	20
<i>Penicillium raistrickii</i>	7	6,66
<i>Penicillium thomi</i>	1	3,33
<i>Penicillium viridicatum</i>	1	3,33
<i>Penicillium</i> sp.	5	6,66
<i>Penicillium</i>	81	50
Počet analyzovaných zrn	3000	

* agar s dichlóranom, chloramfenikolom a bengálskou červenou

škvrna); roquefortín C – po nanesení $Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$ (oranžová škvrna).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo sme sledovali endogénnu kontamináciu 3 000 zrn. Počet endogénne kontaminovaných zrn druhmi detegovaných rodov a frekvenciu výskytu uvádzame v Tab. 1. V práci sme sledovali výskyt tzv. skladových húb zástupcov rodov *Aspergillus* a *Penicillium*, vrátane príslušných teleomorf. Zamerali sme sa na rody, ktoré nepredstavujú dominantnú zložku endogénnej mykocenózy. Tieto mikroskopické huby sú však v porovnaní s dominantnými zástupcami rodov *Alternaria* a *Fusarium* viac xerofilné a spôsobujú predovšetkým znehodnocovania skladovaných substrátov, kde zároveň môžu produkovať mykotoxíny. Zo sledovaných rodov sme najmenšie zastúpenie zaznamenali u rodu *Emericella* (teleomorfa rodu *Aspergillus*), ktorý bol detegovaný len z 3 analyzovaných zrn z celkového počtu 3 000. Druhy rodu *Eurotium* (teleomorfa rodu *Aspergillus*) sme detegovali z 23 zrn, s 26,6 % frekvenciou výskytu. Práve druhy rodu *Eurotium* sa najčastejšie podieľajú na znehodnocovaní skladovaných obilnín (Pitt a Hocking, 1997). Zástupcov rodu *Aspergillus* sme vyizolovali z 54 zrn a rodu *Penicillium* z 81 zrn. I keď počet endogénne kontaminovaných zrn zástupcami rodov *Aspergillus*, *Eurotium*, *Emericella* a *Penicillium* je relatívne nízky, práve táto skupina húb, ako je už uvedené aj vyššie sa predovšetkým podieľa na znehodnocovaní skladovaných obilnín. Zároveň druhy týchto rodov patria medzi významných potenciálnych producentov mykotoxínov. V Tab. 2 uvádzame schopnosť testovaných izolátov v podmienkach *in vitro* produkovať vybrané mykotoxíny. Z 41 testovaných izolátov 39 (t. j. 95 %) bolo schopných produkovať minimálne jednej mykotoxín. Detegovali sme producentov citrinínu, kyseliny cyklopiazónovej, grizeofulvínu, ochratoxínu A, patulínu a roquefortínu C. Výskyt citrinínu a ochratoxínu A v obilninách uvádzajú Lund a Frisvad (2003), Medina et al. (2006), Tangni a Pussemier (2006). Bragulat et al. (2008) však poukazujú na nedostatok informácií o výskyte citrinínu

ako i jeho potenciálnych producentoch v obilninách a produktoch z obilnín. V štúdiu sme nedetegovali produkčný kmeň aflatoxínov. Podobne aj Piecková a Jesenská (2001) nezistili ani jeden kmeň *A. flavus* schopný produkovať aflatoxíny z kukuričných produktov slovenského pôvodu. Napriek uvedenému je potrebné naďalej sledovať výskyt druhov u ktorých je známa potenciálna schopnosť produkovať mykotoxíny, pretože schopnosť produkovať mykotoxíny je geneticky zakódovaná, ale izoláty môžu túto schopnosť stratiť, ale i získať. Giorni et al. (2007) zaznamenali prvé problémy s výskytom aflatoxínov v severnom Taliansku až v roku 2003. Avšak 2 izoláty (50 %) *A. flavus* testované na schopnosť produkovať ďalší mykotoxín kyselinu cyklopiazónovú tento mykotoxín produkovovalo. Tančinová et al. (2007) testovali izoláty *A. flavus* vyizolované z pšeničných otrúb, pšenice, slnečnice a repky na produkciu kyseliny cyklopiazónovej. Z 86 testovaných izolátov *A. flavus* produkovovalo kyselinu cyklopiazónovú 59 izolátov, t. j. 68,6 %. Vaamonde et al. (2003) taktiež uvádzajú vysoké percento izolátov schopných produkovať tento toxín (94 % izolátov vyizolovaných z búrskech orieškov, 93 % z pšenice a 73 % zo sóje).

ZÁVER

Typické skladové huby *Aspergillus* (vrátane teleomorfných rodov *Emericella* a *Eurotium*) boli vyizolované z 2,6 % zrn a *Penicillium* z 2,7 % zrn. Avšak frekvencia výskytu bola pomerne vysoká *Aspergillus* (vrátane teleomorfných rodov *Emericella* a *Eurotium*) boli vyizolované z 43 % analyzovaných vzoriek a *Penicillium* z 50 %. Zo 41 testovaných izolátov bolo 39 (95 %) schopných produkovať minimálne 1 mykotoxín. Z analyzovaných vzoriek sme detegovali potenciálnych producentov citrinínu, kyseliny cyklopiazónovej, grizeofulvínu, ochratoxínu A, patulínu a roquefortínu C. Ani jeden izolát (*Aspergillus flavus*) nevykazoval schopnosť v podmienkach *in vitro* produkovať aflatoxín B₁.

Tabuľka 2 Testované izoláty rodov *Aspergillus* a *Penicillium* vyizolované z endogénnej mykocenózy na schopnosť produkovať vybrané mykotoxíny v podmienkach *in vitro*

Testovaný druh	Mykotoxíny						
	AB ₁	C	CA	G	OA	P	RC
<i>Aspergillus flavus</i>	0*/5**	n***	2/4	n	n	n	n
<i>Aspergillus niger</i>	n	n	n	n	0/1	n	n
<i>Aspergillus ochraceus</i>	n	n	n	n	1/1	n	n
<i>Penicillium citrinum</i>	n	2/2	n	n	n	n	n
<i>Penicillium coprophilum</i>	n	n	n	1/1	n	n	n
<i>Penicillium expansum</i>	n	0/3	n	n	n	2/3	3/3
<i>Penicillium griseofulvum</i>	n	n	20/20	20/20	n	20/20	20/20
<i>Penicillium hordei</i>	n	n	n		n	n	1/1
<i>Penicillium raistrickii</i>	n	n	n	7/7	nn	n	n

* počet pozitívnych izolátov

** počet testovaných izolátov

*** netestované

Použité skratky: AB₁ - aflatoxín B₁, C - citrinín, CA - kyselina cyklopiazónová, G - grizeofulvín, OA - ochratoxín A, P - patulín, RC – roquefortín C

LITERATÚRA

- ANDERSEN B., THRANE U. 2006. Food-borne fungi in fruit and cereals and their production of mycokotoxins. In *Advances in Food Mycology*, 571, 2006, p. 137-152.
- BENNETT, J. W., KLICH, M. 2003. Mycotoxins. In *Clin. Microbiol. Rev.* vol.16, 2003, p. 497-516.
- BRAGULAT, M. R., MARTÍNEZ, E., CASTELLÁ, G., CABAÑES, F. J. 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. In *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, vol.126, p. 43-48.
- DALCERO, A., MAGNOLI, C., CHIACCHIERA, S., PALACIOS, G., REYNOSO, M. 1997. Mycoflora and incidence of aflatoxin B₁, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. In *Mycopathologia*, vol. 137, 1997, p.179-184.
- D'MELLO, J. P. F., MAC DONALD, A. M. C. 1997. Mycotoxins. In *Animal Feed Science Technology*, vol. 69, 1997, p.155-166.
- GORNI, P., MAGAN, N., PIETRI, A., BERTUZZI, T., BATTILANI, P. 2007. Studies on *Aspergillus* section *Flavi* isolated from maize in northern Italy. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 113, 2008, p. 330-338.
- KLICH, M. A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Wageningen : Ponsen & Looijen, 2002. 116 p. ISBN 90-70351-46-3.
- LABUDA, R., TANČINOVÁ, D. 2006. Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity. In *Ann. Agric. Environ. Med.*, vol.13, 2006, p. 193-200.
- LACA, A., MOUSIA, Z., DÍAZ, M., WEBB, C., PANDIELLA, S. S. 2006. Distribution of microbial contamination within cereal grains. In *Journal of Food Engineering*, vol. 72, 2006, p. 332-338.
- LUND, F., FRISVAD, J. C. *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. In *J. Appl. Microbiol.*, vol. 95, 2003, p. 1117-1123.
- MEDINA, Á., VALLE-ALGARRA, F. M., MATEO, R., GIMENO-ADELANTADO, J., MATEO F., JIMÉNEZ, M. 2006. Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*. In *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, vol. 108, p. 196-203.
- PIECKOVÁ, E. - JESENKÁ, Z. 2001. *Fusarium moniliforme*, *F. subglutinans* and *Aspergillus flavus* in maize products in Slovakia. In *Czech Mycology*, vol. 53, 2001, p. 229-235.
- PITT, J. I. 1979. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London : Academic Press, 1979. 634 p.
- PITT, J. I. 1985. *A laboratory guide to common Penicillium species*. North Ryde : CSIRO Division of Food Research, 1985. 184 p. ISBN 0-643-03949-X.
- PITT, J. I., HOCKING, A. D. 1997. *Fungi and food spoilage*. 2nd ed. London : Blackie Academic & Professional, 1997. 593 p. ISBN 0-8342-1306-0.
- PITT J. I. 2002. Biology and ecology of toxigenic *Penicillium* species. In *Mycotoxins and Food Safety Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 504, 2002, pp. 29-41.
- PITT, J. I., BASÍLICO, J. C., ABARCA M. L., LÓPEZ, C. 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. In *Medical Mycology*, vol. 38, Supplement I., 2000. p.41-46.
- SAMSON, R. A., FRISVAD, J. C. 2004. *Penicillium subgenus Penicillium: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites*. Utrecht : CBS, 2004. 260 p. ISBN 90-70351-53-6.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C., FILTENBORG, O. 2002. *Introduction to food- and airborne fungi*. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmecultures, 2002. 389 p. ISBN 90-70351-42-0.
- SAMSON, R. A., VARGA, J. 2007. *Aspergillus systematics in the genomic era*. Utrecht : CBS, 2007. 206 p. ISBN 978-90-70351-69-4.
- SANTIN, E. 2005. *Mould growth and mycotoxin production*. In DIAZ, D. E.(editor) *The mycotoxin blue book*. Nottingham : University Press, 2005. p. 225-234.
- SMITH, J. E., ROSS, K. 1991. *The toxigenic aspergilli*. In SMITH, J. E., HENDERSON, R.S.(editors): *Mycotoxins and Animal Foods*. CRS Press, Boca Raton Boston. Chapter 5. 1991, p. 101-118.
- TANČINOVÁ, D., DOVIČIČOVÁ, M., LABUDA, R. 2007. *Aspergillus* sekcia *flavi* – potenciálny producent mykotoxínov. In *Zb. z medz. konf. Rizikové faktory potravinového reťazca*. Nitra : SPU Nitra, 2007, s. 219-223. ISBN 978-80-8069-948-2.
- TANGNI, E. K., PUSSEMIER, L. 2006. Ochratoxin A and citrinin loads in stored wheat grains: Impact of grain dust and possible prediction using ergosterol measurement. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 23, 2006, 2, p. 181-189.
- VAAMONDE G., PATRIARCA, A., PINTO, V. F., COMERIO, R., DEGROSSI, C. 2003. Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus* section *flavi* from different substrates in Argentina. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 88, 2003, p 79-84.

Pod'akovanie:

Práca vznikla s finančnou podporou projektov KEGA 3/5080/07, VEGA 1/0404/09, Projektu GA SPU č. 739/05330

Kontaktné adresy:

doc. Ing. Dana Tančinová, PhD. Katedra mikrobiológie, FBP SPU Nitra, dana.tancinova@uniag.sk
 Ing. Roman Labuda, PhD. ²Biopure Referenzsubstanzen GmbH, Technopark 1, A-3430 Tulln, Austria

PORUCHY PLODNOSTI MUŽOV V NITRIANSKOM KRAJI A ICH VZŤAH K RIZIKOVÝM FAKTOROM PROSTREDIA

MEN'S FERTILITY DISORDERS AND THEIR RELATION TO THE ENVIRONMENTAL RISK FACTORS IN NITRA REGION

Róbert Toman, Peter Massányi, Norbert Lukáč, Jozef Golian, Slavomír Mindek, Jozef Války

ABSTRACT

In this study the men's ejaculate quality with fertility disorders were investigated. The aim of this work was to find the most frequent sperm change and relationship between the fertility disorders and eventual environmental sources of chemical contamination. Ejaculates of 1013 men were analysed and the sperm concentration, motility, morphology and presence of leukocytes were evaluated. The relative occurrence of individual changes of sperm quality throughout Nitra region and age profile category was stated. Oligoteratoasthenozoospermia was recorded almost in all districts as the most frequent change of sperm quality with occurrence of 29,3 % throughout Nitra region. The highest occurrence was found in Topoľčany districts 32,69 %. Oligoteratoasthenozoospermia presented most frequently cause failures fertility almost in all the age profile groups. The highest occurrence was found in age group of 31-40 years. Important sources of environmental contamination which can be considered as one of the reasons of these disorders origin are located in the vicinity of the districts which men are coming from. The highest percentage of disorder occurrence was found in Komárno, Šala and Nitra districts which are located in the important contaminated areas of region Nitra.

Keywords: man, fertility, sperm pathology, risk factors, environment

ÚVOD

Problematika vplyvu prostredia na reprodukciu človeka je veľmi široká. Zahŕňa všetky aspekty problémov plodnosti a ich vzťah k prostrediu. U mužov zahŕňa zlu kvalitu ejakulátu, znížený počet alebo oplodňovaciu schopnosť spermií a malformácie pohlavných orgánov. Význam vplyvu prostredia na reprodukciu by sa nemal podceňovať. V posledných desaťročiach klesá kvalita ejakulátu v jednotlivých populáciách (Menkveld et al., 1986; Bendvold et al., 1991; Swan et al., 1997; Swan et al., 2003a). Za hlavné znečisťujúce látky prostredia, ktoré potenciálne vplývajú na plodnosť človeka, sa považujú priemyselné emisie, fajčenie, automobilové emisie, kovy, pesticídy, vedľajšie produkty dezinfekcie vody, emisie zo spaľovania biomasy a odpadov, emisie z elektrární, žiarenie, kontaminanty potravín a exogénne hormóny (Saldiva, 2007).

Podľa analýzy dát, ktoré realizovali Carlsen et al. (1992), od roku 1938 do roku 1990 klesol objem ejakulátu o 26 % a počet spermií o 50 %. Semenník je cieľový orgán niekoľkých kontaminantov prostredia. Spermatogéza a všeobecne funkcie semenníka sú veľmi zraniteľné. Kovy, ako kadmium, kobalt, chróm a olovo, sú často prítomné v čiastočkách v okolitom prostredí, kumulujú sa v semenníkoch a spôsobujú poškodenie jeho tkaniva (Danielsson et al., 1984; Massányi et al., 2007a,b,c; Lukáč et al., 2007, Toman et al., 2008). Organické látky, ako polychlórované bifenyly (PCB), sa akumulujú v ejakuláte aj vo folikulárnej tekutine (Schelebusch et al., 1989). Pesticídy tiež znižujú počet spermií v ejakuláte, ich pohyblivosť a tým aj plodnosť (Hruska et al., 2000; Toman et al., 2008). Znečistenie ovzdušia je komplexná zmes kontaminantov. Určiť jednu konkrétnu látku, ktorá by bola zodpovedná za poškodenie semenníkov je preto veľmi zložitá. Muži žijúci v priemyselných oblastiach preukazujú poškodenú kvalitu spermií, ako aj endokrinné poruchy, pretože sa v prostredí vyskytujú látky narúšajúce endokrinné funkcie (Dhooge et al., 2001). Okrem toho sa opísalo množstvo zlúčenín, ktoré prejavujú antiandrogénne účinky prostredníctvom rôznych mechanizmov, keď sú

prijímané pred alebo po narodení u laboratórných zvierat (Gray et al., 1999). Súčasná informácia však nie sú dostatočné na potvrdenie spojitosti s vyššie uvedenými alarmujúcimi reprodukčnými účinkami niektorých chemikálií vytvorených človekom u ľudí. Tento nedostatok informácií je spôsobený komplexnosťou endokrinného systému a nízkymi hladinami, pri ktorých chemické látky môžu vplývať na tento systém. Aj napriek tomu, súčasné epidemiologické štúdie odhalili vzťahy medzi parametrami spermií a pesticídmi (Swan et al., 2003b), ftalátmi (Duty et al., 2003) a PCB (Hauser et al., 2003). Látky poškodzujúce endokrinné funkcie spôsobujú znížený počet a kvalitu spermií, ako aj plodnosť žien, ale indukujú aj niekoľko typov rakoviny pohlavného systému mužov i žien. V takých prípadoch môže byť neplodnosť dôsledkom rakoviny. Vo väčšine rozvinutých krajín sa rodí 3 – 6 % detí prostredníctvom metód asistovanej reprodukcie. Existuje viac príčin, prečo sa ľudia obracajú na tieto metódy, ale mnoho z nich súvisí s neplodnosťou (Corsolini, 2007).

Rôzne drogy, ktoré zahŕňajú tabak, alkohol, marihuanu a narkotiká sú potenciálne antispermatogénne (Tas et al., 1996; Baker, 1998).

Na území Nitrianskeho kraja sú vymedzené aktualizovanou environmentálnou regionalizáciou SR dve zaťažené oblasti – Dolnopovažská oblasť a Ponitrianska oblasť. Až 57 % územia NSK je hodnotené ako narušené až silne narušené. V zaťažených oblastiach je problémom najmä kvalita ovzdušia v okresoch Šaľa a Nitra. Hlavný podiel na znečisťovaní ovzdušia má chemický priemysel (organická výroba hnojív a gumárenských chemikálií), potravinársky priemysel, energetika a automobilová doprava.

Cieľom práce bolo vyhodnotiť formy poruchy plodnosti mužov žijúcich v Nitrianskom kraji s určením najčastejšej zmeny ejakulátu podľa okresov a veku mužov, ako aj zmapovať najdôležitejšie možné zdroje cudzorodých látok v prostredí, ktoré by potenciálne mohli negatívne vplývať na plodnosť mužov v sledovanom regióne.

Tabuľka 1 Výskyt zmien ejakulátu mužov (%) v Nitrianskom kraji zo všetkých nálezov.

Nález	n	Výskyt
A	135	13,32
AL	4	0,39
AT	64	6,31
ATL	9	0,88
AZOO	53	5,23
LE	8	0,78
NL	1	0,098
O	66	6,51
Oa	3	0,29
OA	39	3,84
OT	14	1,38
OTA	194	19,15
OTAL	2	0,19
OTA-Ĥ	25	2,46
T	41	4,04
TL	4	0,39
N	351	34,64

A - astenozoospermia, AL - astenoleukocytozoospermia, AT - astenoteratozoospermia, ATL - astenoteratoleukocytospermia, AZOO - azoospermia, LE - leukocytozoospermia, NL – normoleukocytozoospermia, O – oligospermia, Oa - oligospermia s progresívnym pohybom dopredu, OA - oligoastenozoospermia, OT - oligoteratozoospermia, OTA - oligoteratoastenozoospermia, OTAL – oligoteratoastenooleukocytozoospermia, OTA-Ĥ - ťažká oligoteratoastenozoospermia, T - teratozoospermia, TL - teratoleukocytozoospermia, N - normozoospermia

MATERIÁL A METODIKA

V štúdiu sa spracovali údaje o ejakulátoch 1013 mužov vo veku 20-64 rokov zo 7 okresov Nitrianskeho kraja, ktorí boli diagnostikovaní v Centre asistovanej reprodukcie, ISCARE, a.s. Bratislava s poruchou plodnosti. Odber vzoriek sa realizoval rutinným spôsobom v Centre asistovanej reprodukcie. Ejakuláty sa rutinne ďalej vyšetrili metódou Maklerovej komôrky v svetelnom mikroskope, kde sa hodnotila pohyblivosť spermíí, koncentrácia spermíí a výskyt patologických spermíí a iných anomálií ejakulátu (výskyt leukocytov). Podľa výsledkov hodnotenia ejakulátu, sa jednotlivé vzorky zaradili do skupín podľa poruchy, a to ako astenozoospermia (A), oligozoospermia (O), teratozoospermia (T), leukocytozoospermia (L), prípadne ako ich jednotlivé kombinácie. Normálne ejakuláty tvorili skupinu normozoospermia (N). Normozoospermia vyjadruje množstvo 20 mil. spermíí v ml ejakulátu alebo 40 mil. spermíí v celom objeme ejakulátu. Porucha pohyblivosti vyjadrená ako astenozoospermia znamená počet menej ako 50% pohyblivých spermíí. Oligozoospermia predstavuje koncentráciu spermíí nižšiu ako 20 mil. v 1 ml ejakulátu, teratozoospermia je ejakulát s viac ako 70% patologickými spermiami a leukocytozoospermia predstavuje ejakulát s výskytom leukocytov viac ako 2 mil. v 1 ml ejakulátu.

Získané hodnoty sa vyjadrili ako relatívny výskyt jednotlivých zmien v Nitrianskom kraji, v jednotlivých okresoch Nitrianskeho kraja a podľa veku mužov. Zároveň sa určili možné zdroje kontaminácie potravinového reťazca v jednotlivých okresoch Nitrianskeho kraja, ktoré môžu mať vplyv na výskyt porúch plodnosti mužov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýzou ejakulátu všetkých mužov sme zistili, že porucha plodnosti mužov sa najčastejšie vyskytovala ako kombinácia oligozoospermie, teratozoospermie a astenozoospermie (OTA). Výsledky sú uvedené v tabuľke 1. Pri hodnotení porúch plodnosti v Nitrianskom kraji zo všetkých analyzovaných vzoriek sme zistili, najčastejší výskyt oligoteratoastenozoospermie 19,15 %. Druhou najčastejšou poruchou plodnosti bola astenozoospermia 13,32 %. Normospermia sa zaznamenala u 34,64 % mužov. Pri hodnotení porúch z celkového počtu 662 vzoriek ejakulátov mužov s poruchou plodnosti bol zistený najčastejší výskyt oligoteratoastenozoospermie 29,30 % a druhou najčastejšou anomáliou bola astenozoospermia 20,39 %. Najčastejšia príčina mužskej neplodnosti je znížená kvalita spermíí, ktorá v ľudskej populácii predstavuje veľký problém. V našich analýzach sme dospeli k rovnakému záveru, ako uvádza (Isidori et al., 2005), že zvyčajne najčastejšou príčinou mužskej subfertility je kombinácia oligoastenoteratozoospermia (Tabuľka 1).

Zmeny ejakulátu mužov v jednotlivých okresoch Nitrianskeho kraja zo všetkých analýz, vrátane normospermatikov, vyjadruje tabuľka 2. Vo väčšine okresov Nitrianskeho kraja je najčastejšou poruchou plodnosti oligoteratoastenozoospermia. Najvyšší výskyt nízkej koncentrácie, pohyblivosti a vyššieho výskytu patologických spermíí z celkového počtu porúch plodnosti sa zistil v okrese Topoľčany (32,69 %), Nové Zámky (31,93 %), Nitra (31,44 %), Zlaté Moravce (29,62 %), Komárno (29,35 %) a Šaľa (25,97 %). V okrese Levice bola OTA druhou najčastejšie sa vyskytujúcou poruchou plodnosti (21,42 %). Znížená pohyblivosť spermíí bola okrem Levíc, vo všetkých okresoch druhou najčastejšie sa vyskytujúcou poruchou plodnosti (Tabuľka 2). U 44,1 % mužov z hypofertilných párov býva prítomná oligoastenoteratozoospermia (Diallo et al., 2007). Vyššie riziko vzniku oligospermie je aj u mužov, ktorí sú vystavení účinkom pesticídov (Wong et al., 2003). Príčinou poklesu počtu spermíí môže byť pracovná expozícia olovom. Olovo okrem zníženého počtu spermíí spôsobuje tiež poškodenie štruktúry spermíí a integritu membrán, pohyblivosť a funkčnú aktivitu spermíí (Naha a Chowdhury, 2006). Celkový počet a koncentrácia spermíí sa znižuje so stúpajúcou hladinou olova v krvi (Alexander et al., 1998).

Analýzou profesionálnej expozície CS₂ u mužov sa až v 81 % prejavili znaky abnormálnej kvality spermíí. Avšak až 69 % kontrolnej populácie z rovnakej oblasti vykázali zlú kvalitu ejakulátu, zvlášť zvýšený počet spermíí s abnormálnou morfológiou (Dhooge et al., 2007).

Z celkového počtu patologických spermíí bol výskyt teratozoospermie najvyšší v Nitrianskom okrese (8,24 %), za ním nasledoval okres Šaľa (7,79 %), Topoľčany (7,69 %), Levice (5,95 %) a vzhľadom na počet vyšetrených

potravinarstvo

vzoriek najnižší výskyt bol v okresoch Komárno (3,7 %) a Zlaté Moravce (3,36 %).

Astenozoospermia alebo nízka pohyblivosť spermíí je bežná príčina mužskej neplodnosti (Curi et al., 2003). Z celkového počtu patologických nálezov v štyroch okresoch Nitrianskom kraji predstavovala astenozoospermia najčastejšie sa vyskytujúcu poruchu plodnosti, pričom najvyšší výskyt zníženej pohyblivosti spermíí vzhľadom k počtu vyšetrení bol zistený v okrese Levice (26,19 %), po ňom nasledovalo Komárno (24,77 %), Zlaté Moravce (22,22 %) a najnižší výskyt bol v Šali (16,88 %). V Topoľčanoch (19,23 %), Nitre (19,07 %) a Nových Zámkoch (16,8 %) predstavoval výskyt astenozoospermie druhú najčastejšie sa vyskytujúcu poruchu plodnosti

mužov. Jednou z príčin vzniku astenozoospermie môže byť aj chronická expozícia kadmium. Po chronickej expozícii nízkych dávok kadmia dochádza k zníženiu pohyblivosti spermíí, ktoré závisí od doby a dávky pôsobenia. Astenozoospermia môže byť teda spojená so zvýšeným obsahom kadmia v semenníkoch (Benoff et al., 2008). Významným zdrojom kadmia je aj fajčenie. V ejakuláte mužov, fajčiarov, s astenozoospermiou boli zistené významne vysoké hladiny kadmia (Omu et al., 1995).

Pri hodnotení porúch plodnosti podľa veku bol zistený najvyšší výskyt oligoteratoastenozoospermie takmer vo všetkých vekových skupinách. Najvyšší výskyt OTA bol zistený vo vekovej skupine 31 - 40 roční (30,76 %), 20 - 30

Tabuľka 2: Výskyt zmien ejakulátu mužov (%) zo všetkých nálezov v jednotlivých okresoch Nitrianskeho kraja.

OKRES	Komárno		Levice		Nitra		Nové Zámky	
počet analýz	153		153		279		195	
nález	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
A	27	17,64	22	14,37	37	13,26	20	10,3
AL	1	0,65	1	0,65	1	0,35	0	0
AT	9	5,88	8	5,22	20	7,16	12	6,15
ATL	0	0	1	0,65	1	0,35	0	0
AZOO	10	6,53	4	2,61	18	6,45	7	3,6
LE	1	0,65	0	0	0	0	2	1,03
NL	0	0	0	0	1	0,35	0	0
O	13	8,49	16	10,45	15	5,37	10	5,15
Oa	0	0	0	0	3	1,07	0	0
OA	8	5,22	3	1,96	6	2,15	12	6,18
OT	2	1,307	5	3,26	0	0	5	2,57
OTA	32	20,91	18	11,76	61	21,86	38	19,48
OTAL	0	0	1	0,65	1	0,35	0	0
OTA-Ĥ	1	0,65	0	0	14	5,01	9	4,63
T	5	3,26	5	3,26	16	5,73	4	2,06
TL	0	0	0	0	0	0	0	0
N	44	28,75	69	45,09	85	30,46	75	38,46
OKRES	Šaľa		Topoľčany		Zlaté Moravce			
počet analýz	110		82		42			
nález	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
A	13	11,8	10	12,19	6	14,28		
AL	0	0	0	0	1	2,38		
AT	7	6,36	5	6,09	3	7,14		
ATL	6	5,45	1	1,21	0	0		
AZOO	6	5,45	7	8,53	1	2,38		
LE	3	2,72	1	1,21	1	2,38		
NL	0	0	0	0	0	0		
O	8	7,27	3	3,65	1	2,38		
Oa	0	0	0	0	0	0		
OA	4	3,63	4	4,87	2	4,76		
OT	2	1,81	0	0	0	0		
OTA	20	18,18	17	20,73	8	19,04		
OTAL	0	0	0	0	0	0		
OTA-Ĥ	0	0	0	0	1	2,38		
T	6	5,45	4	4,87	1	2,38		
TL	2	1,81	0	0	2	4,76		
N	33	30	30	36,58	15	35,71		

roční (28,31 %) a 41 - 50 roční (28,14 %). Vo vekovej skupine 51 a viac roční bol najvyšší výskyt ťažkej oligoteratoastenozoospermie (33,33 %). Druhou najčastejšie sa vyskytujúcou poruchou vo všetkých vekových skupinách bola astenozoospermia, pričom najvyšší výskyt bol vo vekovej skupine 41-50 r. (22,22 %), potom nasledovala veková skupina 51 a viac roční (20,66 %), 31 – 40 r. (20,25 %) a skupina 20 - 30 r. (18,58 %). Kvalitatívne znaky ejakulátu mužov klesajú aj v relatívne zdravej populácii. Degeneratívne zmeny sa zisťujú vo vekovej kategórii mužov od 20 do 40 rokov. Pokles celkovej pohyblivosti, progresívneho pohybu a morfológie spermií belgických mužov preukazuje klesli (**Van Waeleghem et al., 1996**). Analýzami 456 darcov vo veku 20 - 40 rokov sa zistil slabší pokles koncentrácie spermií, čo bolo kompenzované vyšším objemom ejakulátu. Avšak funkčné vlastnosti spermií, ako lineárny pohyb a morfológia boli natoľko porušené, že podiel normálnych mužov so suboptimálnou kvalitou spermií vzrástol z 5 na 45 % a podiel infertilných mužov vzrástol 5-násobne (**Comhaire et al., 1996**). **Pajarinen et al. (1997)** uvádza vážne poškodenie histológie semenníka počas 10 rokov.

Až 57 % hodnoteného územia je označené ako narušené až silne narušené. V okrese Komárno je najväčším znečisťovateľom prostredia poľnohospodárstvo a petrochemický priemysel. Z hľadiska fyzikálno-chemických ukazovateľov je kvalita povrchovej vody zaradená do II.-III. triedy (zvýšená koncentrácia Mn), z hľadiska nutričov do II.-III. triedy (kvôli koncentrácii dusičnanov a organický dusík). V rámci pririečnej zóny tejto oblasti boli namerané v podzemných vodách zvýšené obsahy Fe, Mn, amónnych iónov, vplyvom poľnohospodárskej činnosti došlo k prekročeniu limitov pre sírany, dusičnany a chloridy, ojedinele boli namerané zvýšené koncentrácie ortuti a nepolárnych extrahovateľných látok (NELuv). Okrem toho bola detegovaná aj zvýšená koncentrácia Mn, As, Ni a 1,1-dichlóreténu. Ako uvádza **Wirth et al. (2007)**, mangán spôsobuje pokles koncentrácie a pohyblivosti spermií. Problematika výskytu ortuti v prostredí a v potravinách na Slovensku je často analyzovaná (**Kimáková, Bernasovská, 2005a,b**). Ortuť sa považuje za jediný známy etiologický faktor Youngovho syndrómu, pri ktorom sa vyskytuje azoospermia (**Arya et al., 2009**). Vplyvom intenzívnej poľnohospodárskej výroby sa používanie rôznych agrochemikálií prejavuje miernym zvýšením koncentrácie niektorých rizikových prvkov v pôdach nad referenčnú hodnotu. Ide najmä o Cd, Ni, Cu, Zn

(<http://www.niton.sk/szack/index.php?t=&=&p=&xp&MIId=&Lev=&Ind=7&MIId=&P=index,sl,&Ind=6>, **2004**). Zvýšený výskyt týchto prvkov v prostredí môže byť jedným z faktorov, ktoré by mohli spôsobiť poruchy spermatogenézy. U oligoastenoospermických mužov bola dokázaná významná negatívna korelácia medzi obsahom Cd v ejakuláte a pohyblivosťou a koncentráciou spermií (**Pant et al., 2003**). Jedným z faktorov, ktoré môžu byť zodpovedné za pokles pohyblivosti a počtu spermií je aj nikel (**Pandey et al., 1999**).

Hlavnými producentami tuhého odpadu v okrese Levice sú najmä nábytkársky a chemický priemysel, ktoré produkujú vo väčšej miere aj SO₂, NO_x a CO. V rámci pririečnej zóny tejto oblasti boli namerané v podzemných vodách

zvýšené obsahy Fe, Mn, amónnych iónov, vplyvom poľnohospodárskej činnosti došlo k prekročeniu limitov pre sírany, dusičnany a chloridy. Vplyvom intenzívnej poľnohospodárskej výroby sa používanie agrochemikálií prejavuje miernym zvýšením koncentrácie niektorých rizikových prvkov v poľnohospodárskych pôdach nad referenčnú hodnotu. Ide predovšetkým o zvýšené koncentrácie kadmia, niklu, medi a zinku (<http://www.niton.sk/szack/index.php?t=a&p=&xp=&MIId=&Lev=&Ind=6&MIId=&P=index,sl,&Ind=16>, **2004**). Práve v okrese Levice vzhľadom k počtu vyšetrení bol zistený najčastejší výskyt zníženej pohyblivosti spermií (26,19 %).

V okrese Nitra medzi najväčších znečisťovateľov prostredia patrí výroba a spracovanie kovov a chemický priemysel (www.unsk.sk/showdoc.do?docid=1884, **2006**). Najväčším znečisťovateľom pôdy na území okresu Nitra je poľnohospodárstvo, ktoré znečisťuje pôdu najmä používaním pesticídov a priemyselných hnojív. V okrese Nové Zámky medzi najväčších znečisťovateľov prostredia patrí papiernický, chemický a elektrotechnický priemysel. Jeden z najväčších znečisťovateľov prostredia nie len v okrese Šaľa, ale v celom Nitrianskom kraji, je chemický priemysel. Z hľadiska priemyselnej výroby má v okrese dominantné postavenie mesto Topoľčany s potravinárskym, nábytkárskym a elektrotechnickým priemyslom (<http://www.isrra.sk/index.php?Doc=349>, **2005**).

V okrese Zlaté Moravce sa nachádza jeden veľký zdroj znečisťovania ovzdušia. Ďalej je evidovaných 66 prevádzkovateľov, ako stredný zdroj znečisťovania ovzdušia. Kvalita pôdy je dobrá a jej znečistenie bolo zaznamenané len v katastroch obcí ležiacich v južnej časti územia, kde je rozvinutá intenzívna poľnohospodárska výroba

(www.isrra.sk/getfile.php?Doc=331&At=Attach&Im=Attach_331_412, **2008**).

Okrem kontaminácie prostredia sa v sledovanom regióne vyskytuje aj kontaminácia potravín. Nadlimitné hodnoty chemických prvkov boli namerané v okrese Nitra, Levice, Komárno, Topoľčany a Šaľa. V roku 2002 bolo v rámci Nitrianskeho samosprávneho kraja vykonaných 103 357 analýz, z ktorých 2,93 % bolo nevyhovujúcich. Nadlimitné hodnoty boli zistené v Nitre. V roku 2002 bolo vykonaných 1 538 analýz poľovnej a voľne žijúcej zveri a rýb, u ktorých sa zistilo 230 prípadov nadlimitných hodnôt a to v okrese Levice a v Šali. V rámci Kontroly cudzorodých látok v potravinovom reťazci sa v roku 2002 vyhodnotilo 40 172 vzoriek, z ktorých 2 717 nevyhovelo platným hygienickým normám (**Adamčíková et al., 2002**).

ZÁVER

Poruchy plodnosti mužov v Nitrianskom kraji sa najčastejšie vyskytujú ako kombinácia oligozoospermie, teratozoospermie a astenozoospermie. Z celkového počtu analýz vrátane normálnych ejakulátov sa táto porucha najčastejšie vyskytovala v okrese Nitra, Komárno a Topoľčany a z počtu analyzovaných porúch to bolo v okrese Topoľčany, Nové Zámky a Nitra. Z hľadiska veku mužov, najvyšší výskyt OTA bol zistený vo vekovej skupine 31 - 40 roční. V Nitrianskom kraji sa nachádza niekoľko potenciálnych zdrojov kontaminácie prostredia látkami, ktoré majú negatívny vplyv na plodnosť mužov.

LITERATÚRA

- ADAMČIKOVÁ, A., BEDEJ, J., BOĐOVÁ, E. et al., 2002. Správa o stave životného prostredia Nitrianskeho kraja k roku 2002. SAŽP : Banská Bystrica, 2002, 186 s.
- ALEXANDER, B. H., CHECKOWAY, H., FAUSTMAN, E. M., VAN NETTEN, C., MULLER, C. H., EWERS, T. G., 1998. Contrasting associations of blood and semen lead concentrations with semen quality among lead smelter workers. In *Am. J. Ind. Med.*, roč. 34, 1998, s. 464-469.
- ARYA, A. K., BEER, H. L., BENTON, J., LEWIS-JONES, I., SWIFT, A. C., 2009. Does Young's syndrome exist? In *J. Laryngol. Otol.*, roč. 123, 2009, s. 477-481.
- BAKER, H. W. G., 1998. Reproductive effects of nontesticular illness. In *Endocrinol. Metabolism Clin. NA*, roč. 27, 1998, s. 831-850.
- BENDVOLD, E., GOTTLIEB, C., BYGDEMAN, M., ENEROTH, P., 1991. Depressed semen quality in Swedish men from barren couples: A study over three decades. In *Arch. Androl.*, roč. 26, 1991, s. 189-194.
- BENOFF, S., AUBORN, K., MARMAR, J. L., HURLEY, I. R., 2008. Link between low-dose environmentally relevant cadmium exposures and asthenospermia in a rat model. In *Fertil. Steril.*, roč. 89, 2008, s. 73-79.
- CARLSEN, E., GIWERCMAN, A., KEIDING, N., SKAKKEBAEK, N. E., 1992. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. In *BMJ*, roč. 305, 1992, s. 609-613.
- COMHAIRE, F., WAELEGHEM, K. V., DE CLERCQ, N., SCHOONJANS, F., 1996. Declining sperm quality in European men. In *Andrologia*, roč. 28, 1996, s. 300-301.
- CORSOLINI, S., 2007. Non-pesticide endocrine disrupters and reproductive health. In NICOPOULOU-STAMATI, P., HENS, L., HOWARD, C. V.: *Reproductive health and the environment*. Springer : The Netherlands, 2007, s. 161-186. ISBN 978-1-4020-4828-9
- CURI, S. M., ARIAGNO, J. I., CHENKO, P. H. et al., 2003. Asthenozoospermia: analysis of lakye population. In *Androl.*, roč. 49, 2003, s. 343-349.
- DANIELSSON, B. R., DENCKER, L., LINDGREN, A., TJÄLVE, H., 1984. Accumulation of toxic metals in male reproduction organs. In *Arch. Toxicol. Suppl.*, roč. 7, 1984, s. 177-180.
- DHOOGHE, W., EERTMANS, F., MAHMOUD, A., COMHAIRE, F., 2007. Male reproductive status and its relationship with man-made, hormone-disrupting substances: Studies in Flanders, Belgium. In NICOPOULOU-STAMATI, P., HENS, L., HOWARD, C. V.: *Reproductive health and the environment*. Springer : The Netherlands, 2007, s. 75-94. ISBN 978-1-4020-4828-9
- DHOOGHE, W., STUYVAERT, S., KAUFMAN, J. M., KOPPE, G., NELE, V., SCHOETERS, G., VAN LAREBEKE, N., COMHAIRE, F., 2001. Observations as to male fertility in the Flemish environment and health studies. In *Folia Histochem. Cytobiol.*, roč. 39, 2001, s. 38-39.
- DIALLO, A. S., DIARRA, M., SOW, A., MBODJ, M., AFOUTOU, J. M., 2007. Ultrastructural aspect of the spermatozoon abnormalities on infertile men in Senegal. In *Dakar Med.*, roč. 52, 2007, s. 17-22.
- DUTY, S. M., SILVA, M. J., BARR, D. B., BROCK, J. W., RYAN, L., CHEN, Z., HERRICK, R. F., CHRISTIANI, D. C., HAUSER, R., 2003. Phthalate exposure and human semen parameters. In *Epidemiology*, roč. 14, 2003, s. 269-277.
- GRAY, L. E., JR, WOLF, C., LAMBRIGHT, C., MANN, P., PRICE, M., COOPER, R. L., OSTBY, J., 1999. Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolinate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. In *Toxicol. Ind. Health*, roč. 15, 1999, s. 94-118.
- HAUSER, R., CHEN, Z., POTHIER, L., RYAN, L., ALTSHUL, L., 2003. The relationship between human semen parameters and environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE. In *Environ. Health Perspect.*, roč. 111, 2003, s. 1505-1511.
- HRUSKA, K. S., FURTH, P. A., SEIFER, D. B., SHARARA, F. I., FLAWS, J. A., 2000. Environmental factors in infertility. In *Clin. Obstet. Gynecol.*, roč. 43, 2000, s. 821-829.
- INFORMAČNÁ DATABÁZA O POTENCIÁLI ZLATOMORAVECKÉHO REGIÓNU, 2008. [cit. 2009-06-10]. Dostupné na internete: <http://www.isrra.sk/getfile.php?Doc=331&At=Attach&lm=Attach331412>.
- ISIDORI, I., LATINI, M., ROMANELLI, F., 2005. Treatment of male infertility. In *Contraception*, roč. 72, 2005, s. 314-318.
- KIMÁKOVÁ, T., BERNASOVSKÁ, K., 2005a. Monitoring ortuti vo vybranej palete potravín na Slovensku. In *Slov. Vet. Čas.*, roč. 30, 2005a, s. 376-377.
- KIMÁKOVÁ, T., BERNASOVSKÁ, K., 2005b. Zatiaženie životného prostredia ortuťou na priemyselne exponovanom území Slovenska. *Slov. Vet. Čas.*, roč. 30, 2005b, s. 369-370.
- KOMÁRNO, 2004. [cit. 2009-06-10]. Dostupné na internete: <http://www.niton.sk/szack/index.php?t=a&p=&xp=&Mid=&Lev=&Ind=6&Mid=&P=index,sl&Ind=15>
- LUKÁČ, N., MASSÁNYI, P., ZAKREWSKI, M., TOMAN, R., CIGANKOVA, V., STAWARZ, R., 2007. Cobalt-induced alterations in hamster testes in vivo. In *J. Environ. Sci. Health*, roč. A42, 2007, s. 389-392.
- MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., KOVACIK, J., TRANDZIK, J., NAD, P., SKALICKA, M., TOMAN, R., KROCKOVA, J., STAWARZ, R., KOLESAROVA, A., FORMICKI, G., 2007c. Environmental contaminants in animal semen and spermatozoa quality. In WANG, Y., LI, S., HUANG, P. et al.: *Progress in environmental Science and technology*, Science Press USA Inc. : Beijing, 2007c, s. 165-171.
- MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., MAKAREVICH, A. V., CHRENEK, P., FORGACS, Z., ZAKRZEWSKI, M., STAWARZ, R., TOMAN, R., LAZOR, P., FLEŠÁROVÁ, S., 2007a. Lead-induced alterations in rat kidneys and testes in vitro. In *J. Environ. Sci. Health*, roč. A41, 2007a, s. 671-676.
- MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., SLIVKOVÁ, J., KOVÁČIK, J., MAKAREVICH, A. V., CHRENEK, P., TOMAN, R., FORGACS, Z., SOMOSY, Z., STAWARZ, R., FORMICKI, G., 2007b. Mercury-induced alterations in rat kidneys and testes in vivo. In *J. Environ. Sci. Health*, roč. A42, 2007b, s. 865-870.
- MENKVELD, R., VAN ZYL, J. A., KOTZE, T. J., JOUBERT, G., 1986. Possible changes in male fertility over a 15-year period. In *Arch. Androl.*, roč. 17, 1986, s. 143-144.
- SALDIVA, P., 2007. Environment and fertility. In NICOPOULOU-STAMATI, P., HENS, L., HOWARD, C. V.: *Reproductive health and the environment*. Springer : The Netherlands, 2007, s. 57-71. ISBN 978-1-4020-4828-9
- NAHA, N., CHOWDHURY, A. R., 2006. Inorganic lead exposure in battery and paint factory: effect on human sperm structure and functional activity. In *Yuoeh.*, roč. 28, 2006, s. 157-171.
- NITRIANSKY SAMOSPRÁVNÝ KRAJ, 2007. [cit.2009-06-10]. Dostupné na internete: www.unsk.sk/showdoc.do?docid=1884.
- OMU, A. E., DASHTI, H., MOHAMED, A. T., MATTAPPALLIL, A. B., 1995. Significance of trace

- elements in seminal plasma of infertile men. In *Nutrition*, roč. 11, 1995, s. 502-505.
- PAJARINEN, J., LAIPPALA, P., PENTTILA, A., KARHUNEN, P. J., 1997. Incidence of disorders of spermatogenesis in middle aged finnish men, 1981-91: two necropsy series. In *BMJ*, roč. 314, 1997, s. 13-18.
- PANDEY, R., KUMAR, R., SINGH, S. P., SAXENA, D. K., SRIVASTAVA, S. P., 1999. Male reproductive effect of nickel sulphate in mice. In *Biometals*, roč. 12, 1999, s. 339-346.
- PANT, N., UPADHYAY, G., PANDEY, S., MATHUR, N., SAXENA, D. K., SRIVASTAVA, S. P., 2003. Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of emen in the general population: corelation with sperm quality. In *Reprod. Toxicol.*, roč. 17, 2003, s. 447-450.
- SCHLEBUSCH, H., WAGNER, U., VAN DER VEN, H., AL-HASANI ,S., DIEDRICH, K., KREBS, D., 1989. Polychlorinated biphenyls: the occurrence of the main congeners in follicular and sperm fluids. In *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, roč. 27, 1989, s. 663-667.
- SWAN, S. H., ELKIN, E. P., FENSTER, L., 1997. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. In *Environ. Health Perspect.*, roč. 108, 1997, s. 961-966.
- SWAN, S. H., BRAZIL, C., DROBNIS, E. Z., LIU, F., KRUSE, R. L., HATCH, M., REDMON, J. B., WANG, C., OVERSTREET, J. W., STUDY FOR FUTURE FAMILIES RESEARCH GROUP, 2003a. Geographic differences in semen quality of fertile U.S. males. In *Environ. Health Perspect.*, roč. 111, 2003a, s. 414-420.
- SWAN, S. H., KRUSE, R.L., LIU, F., BARR, D. B., DROBNIS, E. Z., REDMON, J. B., WANG, C., BRAZIL, C., OVERSTREET, J. W., STUDY FOR FUTURE FAMILIES RESEARCH GROUP, 2003b. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. In *Environ. Health Perspect.*, roč. 111, 2003b, s. 1478-1484.
- TAS, S., LAUWERYS, R., LISON, D., 1996. Occupational hazards for the male reproductive system. In *Crit. Rev. Toxicol.*, roč. 26, 1996, s. 261-307.
- TOMAN, R., MASSÁNYI, P., HLUCHÝ, S., GOLIAN, J., PIVKO, J., LUKÁČ, N., ŠÍŠKA, B., MARTINIAKOVÁ, M., STAWARZ, R., FORMICKI, G., JANČOVÁ, A., 2008. Ultrastructural changes in the testes of rabbits after intraperitoneal and peroral administrations of cadmium. In *Met. Ions Biol. Med.*, roč. 10, 2008, s. 651-657.
- TOMAN, R., ŠÍŠKA, B., MASSÁNYI, P., HLUCHÝ, S., GOLIAN, J., SLIVKOVÁ, J., LUKÁČ, N., MARTINIAKOVÁ, M., STAWARZ, R., FORMICKI, G., ČUPKA, P.: Effect of diazinon on rat sperm motility evaluated with computer assisted semen analyzer. In *Slovak J. Anim. Sci.*, roč. 41, 2008, č. 4, s. 213.
- VAN WAELEGHEM, K., DE CLERCQ, N., VERMEULEN, L., SCHOONJANS, F., COMHAIRE, F., 1996. Deterioration of sperm quality in young healthy Belgian men. In *Hum. Reprod.*, roč. 11, 1996, s. 325-329.
- VŠEOBECNÁ CHARAKTERISTIKA OKRESU TOPOLEČANY, 2005. [cit.2009-06-10]. Dostupné na internete: <http://www.isrra.sk/index.php?Doc=349>.
- WIRTH, J. J., ROSSANO, M. G., DALY, D. C., PANETH, N., PUSCHECK, E., POTTER, R. C., DIAMOND, M. P., 2007. Ambient manganese exposure is negatively associated with human sperm motility and concentration. In *Epidemiology*, roč. 18, 2007, s. 270-273.
- WONG, W. Y., ZIELHUIS, G. A., THOMAS, C. M., MERKUS, H. M., STEEGERS-THEUNISSEN, R. P., 2003. New evidence of the influence of exogenous and endogenous factors on sperm count in men. In *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, roč. 110, 2003, s. 49-54

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Róbert Toman, Dr. - Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, KVD, Trieda Andreja Hlinku 2, Tel.: 037 641 4479, E-mail: robert.toman@uniag.sk

**OBSAH ŤAŽKÝCH KOVŮ V PÔDE A DOPESTOVANEJ PRODUKCII
Z METALICKY ZAŤAŽENEJ OBLASTI**

**THE CONTENT OF HEAVY METALS IN SOIL AND CROPPED PRODUCTION
FROM HEAVY METALS POLLUTED AREA**

Ján Tomáš, Július Árvay, Tomáš Tóth, Gabriela Szabóová, Ľuboš Harangozo

ABSTRACT

The aim of this work is to show the importance of monitoring and of soil hygienic quality evaluation in Slovak Republic area. In the past, when on ecology was not such an emphasis, as it is nowadays, there was an uncontrolled emission of pollutants from different fields of anthropic activities. The consequences are manifested also nowadays, but immediate and expensive solutions are needed. In this work are presented the results of soil contamination research range of monitored locality Štiavnica Hills by heavy metals and their availability for plants in dependance at soil reaction. The chose of this locality relates with specificity of mentioned area, which is characteristic by anthropic, but also natural (geochemical) contamination. In all soil samples the analyses of changeable reaction were realized. Also the analyses on the heavy metals content in the leach of aqua regia (pseudototal leach) and 1 mol.dm⁻³ ammonium nitrate (available content). In gained production the heavy metals content after mineralization by dry way method. The results were prepared into content maps with software ArcView 3.2. As the result colourful maps showing content variability of elements on monitored area are presented. Analyses of plant material – corn seed (*Zea mays, L.*) show on whole locality enhanced limit values of Cd content in maize corn. The content of other monitored metals were not enhancing the hygienic limits, defined by Foodstuffs Codex SR. But there is positive correlation between the heavy metals content in extract of 1mol.dm⁻³ NH₄NO₃ and the content in final production on monitored parcel.

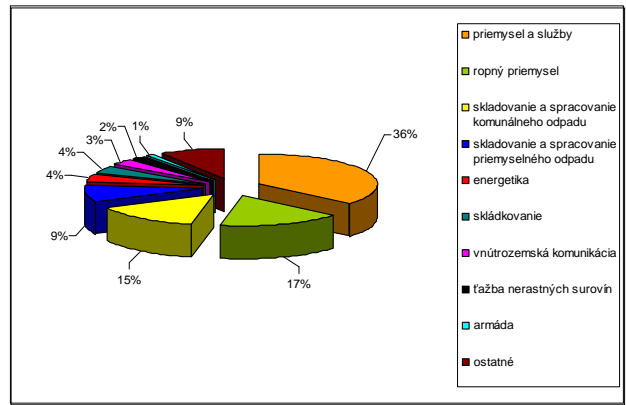
Keywords: soil and plants contamination, quality, agriculture products

ÚVOD

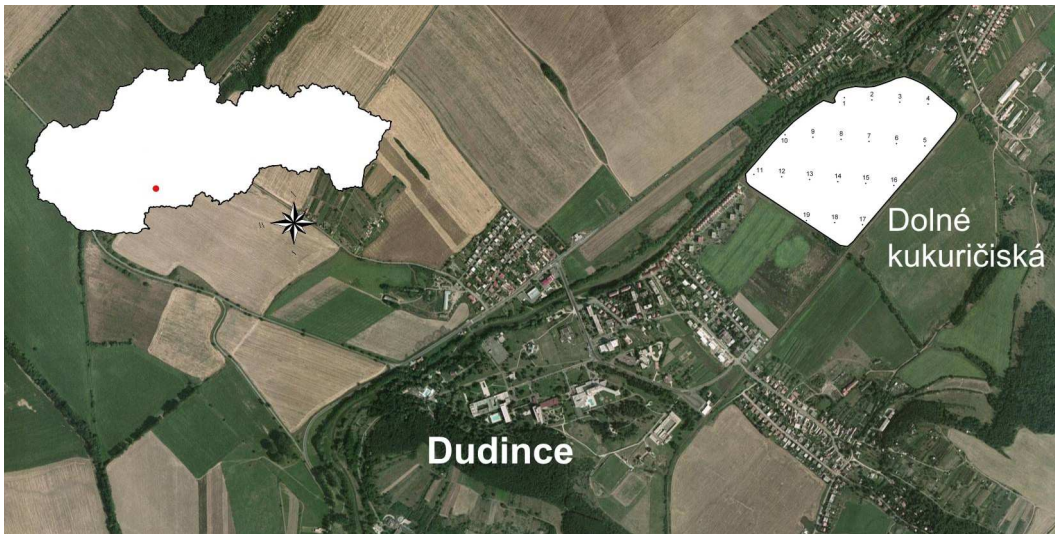
Kontaminácia nášho životného prostredia sa v poslednej dobe stala jedným z hlavných spoločenských problémov. Zhoršený stav životného prostredia s rozličným stupňom devastácie v jednotlivých regiónoch sa negatívne spolupodieľa na strednej dĺžke života, zdravotnom stave obyvateľstva a na kvalite ekosystému vôbec.

Zmeny vlastností pôd prebiehajú už veľmi dlho, ale najintenzívnejšie od začiatku rozvoja priemyslu, intenzívneho spaľovania fosílnych palív, ťažby nerastných surovín a od začiatku moderného poľnohospodárstva používajúceho agrochemikálie. V súčasnosti sa na kontaminácii pôdy ťažkými kovmi podieľa veľká skupina ľudských činností (obr. 1).

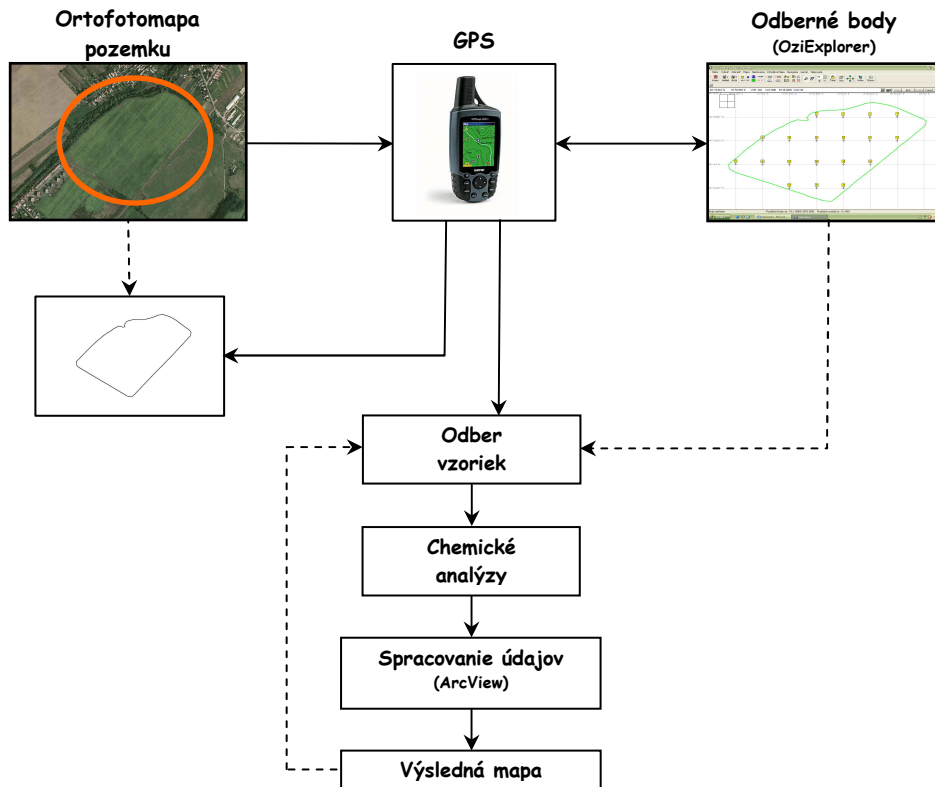
Jednou z najzávažnejších skupín rizikových látok v životnom prostredí sú ťažké kovy. Ťažké kovy patria



Obrázok 1 percentuálne zastúpenie jednotlivých zdrojov kontaminácie pôdy v štátoch EU v roku 2006



Obrázok 2 Umiestnenie pozemku, hranice a odberné body



Obrázok 3 Prúdový diagram operácií

medzi neodegradovateľné kontaminanty, ktoré sa vyznačujú rozdielnym zdrojom pôvodu, vlastnosťami ako aj pôsobením na živé organizmy (Tóth et al., 2005a). K rizikovým prvkom patria biologicky nezastupiteľné mikroelementy (napr. Cu, Zn, Mn a i.) ako i početné neesenciálne chemické prvky (Cd, Pb, Hg a i.) (Vollmannová et al., 2007), pričom ich riziká spočívajú v ekotoxicite a kumulácií v biotických a abiotických zložkách životného prostredia.

Štiavnické vrchy boli už v minulosti perfektnou lokalitou na štúdium obsahov ťažkých kovov v pôdnom a rastlinnom materiáli, čo potvrdzujú aj výsledky práce Tótha et al. (2005a) ktorí hodnotia pôdy nachádzajúce sa v tomto regióne ako kontaminované. Rizikovosť týchto pôd sa odrzrkadľuje aj na kvalite dopestovaných produktov, či už z pohľadu potravinárskej hodnoty, ako aj ich hygienickej nezávadnosti (Tóth et al., 2005b). Oblasť je charakteristická častým výskytom hydrotermálne premenených hornín obsahujúcich zlúčeniny, ktoré obsahujú sledované rizikové prvky. Z historického pohľadu je tento región charakteristický takmer tisícročnou banskou činnosťou (prvé zmienky z 12. storočia), ktorú možno považovať za majoritný zdroj kontaminácie.

Rieka Štiavnica je tok, ktorý predstavuje najväčší zdroj kontaminácie sledovaného územia o čom svedčí aj fakt, že najviac kontaminované pôdy sa nachádzajú v jej inundačnom pásme. Odvodňuje veľké územie Štiavnických vrchov a teda bola a je recipientom banských a technologických vôd, resp. priesakov. Pozdĺž celého toku sa nachádzajú poľnohospodársky využívané pozemky, ktoré sú z času na čas zaplavované vodou z hlavného toku. Pedochemické analýzy týchto inundačných území dokazujú vysokú úroveň metalickej kontaminácie (najmä Pb, Cd, Zn, Mn) (Tóth et al., 2005a) a z toho dôvodu je veľmi dôležité sledovať prechod rizikových prvkov v systéme pôda – rastlina, resp. v systéme pôda – rastlina – potravinárska surovina.

Cieľom predkladanej práce bolo zhodnotiť úroveň kontaminácie sledovaného územia alúvia riečky Štiavnica, ako vektora pre pôdnu kontamináciu, ktorej zdrojom bola banská činnosť v neďalekých Štiavnických vrchoch. Dôležitých faktorom bolo stanovenie úrovne prechodu rizikových ťažkých kovov systémom pôda – rastlina, ako potenciálneho rizika prechodu kontaminantov do potravinárskeho reťazca.

MATERIÁL A METÓDY

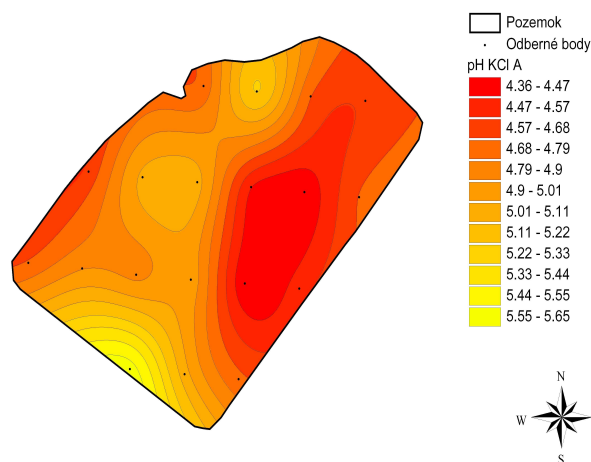
Ako záujmový sme vybrali pozemok nachádzajúci sa v severnej časti extravilánu obce Dudince v Ipeľskom regióne, ktorý je pravidelne ovplyvňovaný priesakmi spodnej vody z riečky Štiavnica. Lokalizačné koordináty pozemku sú 48° 10,765' severnej šírky (φ) a 18° 53,686' východnej dĺžky (λ). Rozloha pozemku je 27,3 ha. Na pozemku sme na základe 2 sekundového rastra určili 19 odberných miest, z ktorých sme odobrali vzorky pôdy (0,0 – 0,2 m) /Linkeš, 1997/ a vzorky rastlinného materiálu (zrno kukurice siatej – *Zea mays*, L.). Identifikačné číslo pozemku je 0904/1. Bonitovaná pôdno-ekologická jednotka pozemku je 0111005. Pôdny typ FMm – fluvizem modálna a pôdny druh stredne ťažká – piesočnatohlinitá. Hranice pozemku boli definované 73 bodmi a nadmorská výška týchto bodov sa pohybovala v intervale 110,1 –

117,3 m n. m.. Hranice, odberné body a umiestnenie sledovaného pozemku znázorňuje obr. 2.

Pre potreby práce sme vykonali analýzy na zistenie výmennej pôdnej reakcie ako dôležitého faktora, ovplyvňujúceho správanie sa sledovaných ťažkých kovov a ich mobilitu v systéme pôda – rastlina. V práci sledujeme obsah, mobilitu a translokáciu kadmia, olova, medi a zinku z pôdy do nadzemnej biomasy (zrno). Konkrétne sme vykonali nasledovné analýzy pôdy a rastlinného materiálu:

- výmenná pôdna reakcia (pH_{KCl}),
- obsah Cd, Pb, Zn a Cu v extrakte lúčavky kráľovskej,
- obsah Cd, Pb, Zn a Cu vo výluhu NH_4NO_3 s $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$,
- obsah Cd, Pb, Zn a Cu v v zrne kukurice siatej (*Zea mays*, L.) stanovený suchou cestou.

Odber pôdných a rastlinných vzoriek sme vykonávali podľa vopred určeného metodického postupu vytipovania, zamerania pozemku a lokalizácie odberných bodov systémom dvojsekundového rastra a následnej navigácie pomocou príručného navigačného zariadenia GPS Garmin 60 Cx, ktorého presnosť sa pohybovala min. ± 2 m. Spojnice súradníc rastra predstavovali odberné body. Celú metodiku odberu vzoriek a tvorby výsledných obsahových máp znázorňuje obrázok 3.



Obrázok 4 plošné znázornenie výmennej pôdnej reakcie v horizonte A na sledovanom pozemku

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vzorky pôdy sme odobrali na jar v roku 2006, ktoré sme po úprave podrobili analýzám na zistenie sledovaných pôdných parametrov. Výmenná pôdna reakcia sa na pozemku „Dolné kukuričiská“ vo vrchnom horizonte A (0,0 – 0,2 m) pohybovala v intervale 4,40 – 5,62. Takéto nízke pH je spôsobené premenami sulfidických bázičkových minerálov (Bajčan et al., 2007) a následným uvoľňovaním rizikových prvkov do pôdneho roztoku, pričom vznikajú roztoky siričitanov a síranov, ktoré zapríčiňujú slabo až extrémne kyslé pôdne prostredie na sledovanom pozemku. Takéto nízke pH je dôvodom ich väčšej mobility a ľahšej

bioprístupnosti pre rastliny. Plošné znázornenie zmien výmennej pôdnej reakcie v horizonte A znázorňuje obr. 4. Pre posúdenie úrovne kontaminácie sledovaného pozemku ťažkými kovmi sme vykonali analýzy na zistenie celkového množstva rizikových prvkov vo vrchnom – orníčovom horizonte. Ako extrakčné činidlo sme použili lúčavku kráľovskú (zmes HNO_3 a HCl v pomere 1:3). Získané výsledky obsahu ťažkých kovov sme porovnávali s limitnými hodnotami, ktoré určuje zákon 220/2004. Intervaly obsahov, limitné hodnoty a percentuálne prekročenia znázorňuje tab. 1.

Tabuľka 1 intervaly celkových obsahov sledovaných rizikových prvkov a ich percentuálne prekročenia limitných hodnôt

prvok	lúčavka kráľovská (mg.kg^{-1})	limit (mg.kg^{-1})	prekročenie limitu (zákon 220/2004) (%)
Cd	7,12 – 15,04	0,7	1 017 – 2 148
Pb	672,0 – 1 526,0	70	960 – 2 180
Zn	822,0 – 2 084,0	150	548 – 1 389
Cu	65,0 – 120,8	15	108 – 201

Na základe získaných výsledkov obsahu sledovaných ťažkých kovov je možné konštatovať, že sledovaný pozemok je možné zaradiť medzi silne kontaminované. Obsah kadmia sa vo vrchnom horizonte pohyboval v intervale 7,12 – 15,04 mg.kg^{-1} . Takéto extrémne vysoké hodnoty poukazujú na fakt, že pomerné veľké množstvá tohto prvku budú v pôdnom profile mobilné a teda bude vo zvýšenom množstve prechádzať aj do dopestovanej produkcie. Podobne je to aj pri ostatných sledovaných prvkoch, pričom relatívne najslabší prechod bude charakteristický pre meď, ktorej obsah sa pohyboval v intervale 65,0 – 120,8 mg.kg^{-1} . Plošnú interpoláciu sledovaných prvkov znázorňuje obrázok 5.

Na obrázku 5 sú znázornené jednotlivé vrstvy sledovaných rizikových prvkov v poradí Cu, Pb, Zn a Cd. Pri porovnaní ich plošnej variability je vidieť vzájomnú podobnosť medzi kadmim a zinkom, resp. olovom a meďou. Táto jav je pravdepodobne dôsledkom ich synergických vzťahov.

Pre translokáciu ťažkých kovov do rastlinného materiálu nie je dôležitý ich celkový obsah v pôdnom profile, ale koncentrácia rizikových prvkov v pôdnom roztoku. Ich

množstvo v kvapalnej pôdnej fáze je ovplyvňované rôznymi faktormi, pričom najdôležitejší je pôdna reakcia. Ako extrakčný roztok sme použili jednomolárny dusičnan amónny. Získané výsledky sme porovnávali so zákonom 220/2004 stanovenými kritickými hodnotami (tab. 2).

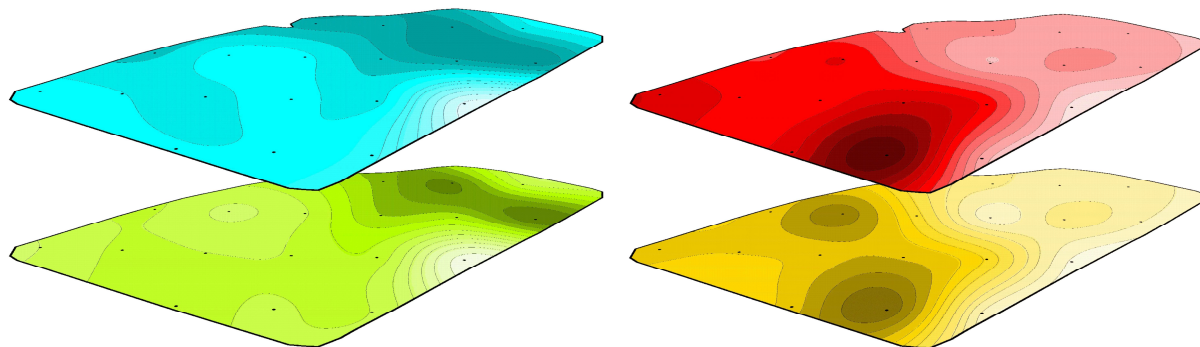
Tabuľka 2 intervaly obsahov mobilných foriem sledovaných rizikových prvkov a ich percentuálne prekročenie kritických hodnôt (KH)

prvok	NH_4NO_3 $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$ (mg.kg^{-1})	KH (mg.kg^{-1})	prekročenie KH (zákon 220/2004) (%)
Cd	0,97 – 2,59	0,1	870 – 2 490
Pb	0,31 – 7,30	0,1	210 – 7 200
Zn	38,9 – 151,4	2,0	1845 – 7 470
Cu	0,15 – 0,39	1,0	< KH

Obsah sledovaných rizikových prvkov prekračoval na všetkých odberných bodoch zákonom stanovené kritické hodnoty, určené pre extrakt $1 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{NO}_3$. Obsah Cd v horizonte A sa pohyboval v intervale 0,97 – 2,59 mg.kg^{-1} , pričom takéto hodnoty prekračujú kritickú hodnotu (0,1 mg.kg^{-1}) až takmer 26 násobne. Obsah Pb sa pohyboval v intervale 0,31 – 7,30 mg.kg^{-1} , čo poukazuje na prekročenie kritickej hodnoty (0,1 mg.kg^{-1}) až 73 násobne. Pri zinku bola kritická hodnota (2 mg.kg^{-1}) prekročená takmer 76 násobne, pričom sa hodnoty pohybovali v intervale 38,9 – 151,4 mg.kg^{-1} . Takéto vysoké hodnoty obsahu mobilnej formy sledovaných rizikových prvkov poukazujú na vysoké riziko kontaminácie dopestovanej produkcie a následne na vysoké riziko prechodu do potravinového reťazca.

Zo získaných výsledkov vyplýva, že aj keď celkový obsah sledovaných prvkov v pôdnom prostredí niekoľkonásobne prekračuje vo všetkých prípadoch kritické hodnoty stanovené zákonom, obsah mobilnej formy v prípade meďi neprevyšuje ani v jednom prípade zákonom stanovenú kritickú hodnotu (1,0 mg.kg^{-1}). Plošnú variabilitu obsahov mobilných foriem sledovaných prvkov znázorňuje obr. 6.

Vzorky rastlinného materiálu (zrno kukurice siatej) sme odobrali v rokoch 2006 a 2007 z tých istých odberných miest ako pôdu. Po ich úprave sme vykonali analýzy na zistenie obsahu sledovaných ťažkých kovov po mineralizácii „suchou cestou“. Získané výsledky z jednotlivých ročníkov poukazujú na fakt, že prechod



Obrázok 5 vzájomné porovnanie jednotlivých vrstiev celkových obsahov sledovaných rizikových prvkov (tyrkysová – Cu; zelená – Pb; červená – Zn; žltá – Cd)

Tabuľka 3 intervaly obsahov sledovaných prvkov v zrne kukurice siatej (*Zea mays*, L) v rokoch 2006 a 2007 a intervaly prekročenia najvyšších prípustných množstiev (NPM) v %

prvok	zrno kukurice 2006 (mg.kg ⁻¹)	zrno kukurice 2007 (mg.kg ⁻¹)	NPM (mg.kg ⁻¹)	prekročenie NPM 2006 (%)	prekročenie NPM 2007 (%)
Cd	0,11 – 0,36	0,06 – 0,31	0,1	10 - 260	< NPM – 210
Pb	0,05 – 0,50	0,30 – 0,95	1,0	< NPM	< NPM
Zn	34,10 – 48,90	25,95 – 54,40	50	< NPM	< NPM – 8,8
Cu	1,80 – 2,55	1,65 – 2,85	25	< NPM	< NPM

ťažkých kovov do nadzemnej fytohmoty nebol v jednotlivých rokoch rovnaký.

V roku 2006 sa obsah kadmia pohyboval v intervale 0,11 – 0,36 mg.kg⁻¹, čo znamená, že NPM prekročovalo celoplošne. Najvyššia koncentrácia bola lokalizovaná na odbernom mieste 10 (severozápadná strana pozemku). V roku 2007 mala kontaminácia rastlinného materiálu kadmium lokálny charakter, ale na východnej strane pozemku, čo vôbec nepotvrdzovalo hypotézu, ktorú predpovedal celkový obsah a obsah mobilnej formy tohto prvku v pôde. Obsah olova vo všetkých vzorkách rastlinného materiálu neprekročoval NPM. Vyznačovalo sa lokálnou kontamináciou v priebehu oboch rokov. V obidvoch prípadoch v rastlinnom materiáli obsah olova koreluje s celkovým obsahom tohto prvku v pôde, avšak toto tvrdenie neplatí pre jeho mobilnú formu.

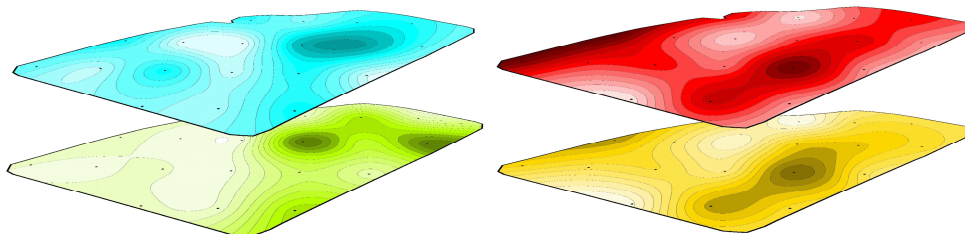
V prípade zinku boli plošné interpolácie odlišné, pričom v žiadnom prípade obsahy v rastlinnom materiáli nekorelovali ani s celkovým obsahom ani s obsahom mobilnej formy. V roku 2007 prekročovala najvyššia hodnota obsahu medi v zrne NPM o 8,8 %. Obsah medi

ani v jednom prípade neprekročoval najvyššie prípustné množstvo stanovené PK SR. Intervaly obsahov sledovaných rizikových prvkov a prekročenie najvyššieho prípustného množstva znázorňuje tabuľka 3.

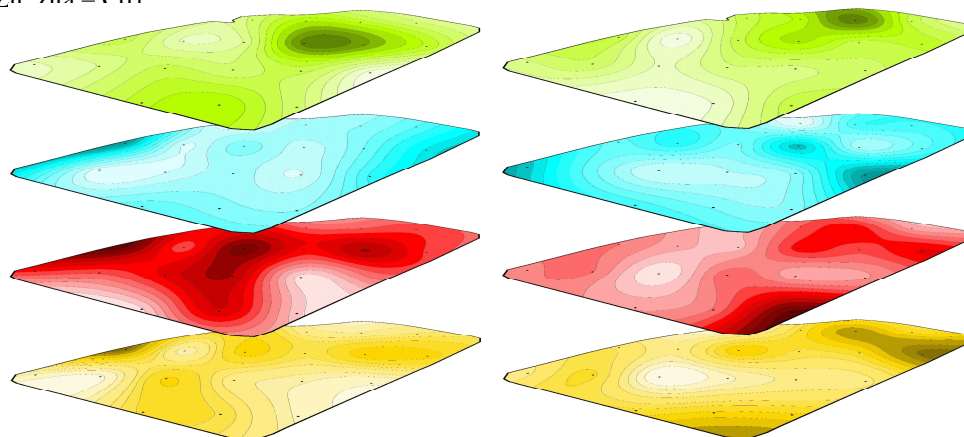
ZÁVER

Celkový obsah sledovaných prvkov vo vrchnej vrstve ornice vo všetkých štyroch prípadoch celoplošne prekročoval limitné hodnoty stanovené príslušnou legislatívou vyhláškou. Takéto vysoké obsahy zaraďujú sledovaný pozemok medzi kontaminované a nevhodné na poľnohospodársku produkciu. Tento fakt podporujú aj analýzy na zistenie obsahu mobilných foriem rizikových prvkov, ktoré korelujú s celkovými obsahmi a taktiež prekročujú celoplošne kritické hodnoty stanovené zákonom 220/2004. Výnimku predstavuje meď, ktorá ani v jednom prípade neprekročovala kritickú hodnotu.

Silná translokácia sledovaných rizikových prvkov v systéme pôda – rastlina bola príčinou kontaminácie zrna kukurice siatej kadmium celoplošne (okrem odberných bodov 1, 13 a 14 v roku 2007) a zinkom lokálne (odberný



Obrázok 6 plošná variabilita obsahov mobilných foriem sledovaných rizikových prvkov (tyrkysová – Cu; zelená – Pb; červená – Zn; žltá – Cd)



Obrázok 7 plošná variabilita vrstiev reprezentujúcich obsah ťažkých kovov v zrne kukurice v roku 2006 (vľavo) a 2007 (vpravo) (tyrkysová – Cu; zelená – Pb; červená – Zn; žltá – Cd)

bod 17 v roku 2007). Obsah olova a medi ani v jednom roku neprekročil NPM daný Potravinovým kódexom SR. Zo získaných výsledkov vyplýva, že sledovaný pozemok „Dolné kukuričiská“ je silne kontaminovaný sledovanými ťažkými kovmi. Pôdne prostredie vytvára optimálne podmienky pre zvýšený prechod rizikových prvkov v systéme pôda – rastlina. Z toho dôvodu by sa vo všeobecnosti mali uplatňovať také agrotechnické opatrenia, ktoré by v čo najväčšej miere zabránili prechodu kontaminantov do potravinového reťazca.

LITERATÚRA

BAJČAN, D., LAHUČKÝ, L., STANOVIČ, R., ÁRVAY, J. 2007. Hygiena poľnohospodárskych plodín dopestovaných na metalicky zaťažených aluviálnych pôdach. In IX. Banskotiavnické dni 2007. s. 33 – 38. ISBN: 978-80-228-1786-8

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY, 2007. Europe's environment – 4th assessment, 2007, s. 114 – 125. ISBN: 978-92-9167-932-4.

LINKEŠ, V.: 1997. Monitoring pôd Slovenskej republiky. In Súčasný stav monitorovaných vlastností pôd. VÚPÚ, Bratislava, 1997, 128 s.

TOMÁŠ, J., HRONEC, O. 2007. Poškodzovanie pôd a rastlín ľudskými činnosťami – monografia. SPU v Nitre. ISBN: 978-80-8069-902-4

TÓTH, T., POSPÍŠIL, R., PARILÁKOVÁ, K., MUSILOVÁ, J., BYSTRICKÁ, J. 2005. Distribúcia ťažkých kovov v pôdach aplikáciou substrátu po výrobe biokalu. In *ChemZi*, 1, (1), 2005a, s. 108 - 109

TÓTH, T., TOMÁŠ, J., LAZOR, P., CHLPÍK, J., JOMOVÁ, K., HEGEDUSOVÁ, A. 2005b. Rizikové prvky v pôdach a plodinách Štiavnického regiónu. In *ChemZi* 2005, s. 285, ISSN 1336 – 7242

VOLLMANNOVÁ, A., MUSILOVÁ, J., BYSTRICKÁ, J. 2007. Safety of some forage plants grown on the metallic burden soil from the aspect of risk element content. In 27. *International symposium „industrial toxicology 07“*. Bratislava: STU Bratislava, 2007, pp. 437 – 441. ISBN 978-80-227-2654-2

ZÁKON 220/2004 Z.Z. O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy z 10. marca 2004. In Zbierka zákonov SR, čiastka 69 z 28. apríla 2004, MP SR Bratislava, s. 2278 – 2315

Pod'akovanie:

Práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu VEGA 08-023-00

Kontaktná adresa:

prof. Ing. Ján Tomáš; Katedra chémie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra; Email: jan.tomas@uniag.sk

VYUŽITIE ALTERNATÍVNYCH POSTUPOV PRI TESTOVANÍ HODNOTITEĽOV V SENZORICKEJ ANALÝZE

ALTERNATIVE METHODS FOR TESTING EVALUATORS IN SENSORY ANALYSE

Andrea Václavová, Vladimír Vietoris, Peter Zajác, Jozef Čapla, Jozef Golian, Pavol Maľa,

ABSTRACT

The experiment consisted of a color word reading and ink color naming tests based on the original Stroops tests. There were a total of 31 mistakes in the optical illusions made by the participants. The most errors occurred when defining brown color where the incidence ratio was 0,258. The probability of such a phenomenon was 9%. The least mistakes occurred when defining pink color, with the incidence ratio 0,0645. To sum up, according to our results of naming, basic colors we can say that students were wrong when defining blue (0,258). And black color (0,258). The most errors were made at the end of optical illusion effect when defining pink color (0,37). Which was confused with red color. Probability of such a phenomenon was 9%. The lowest ratio was reached when defining red, white and yellow color 0,161.

Keywords: color, Stroop effect, optical illusion effect

ÚVOD

Vykonávanie rôznych mentálnych úkonov je ovplyvnené mnohými objektívnymi a subjektívnymi faktormi. Niektoré aktivity (napr. riadiť auto a počúvať rádio) vieme vykonávať súbežne bez toho, aby sa navzájom akokoľvek ovplyvňovali. Na druhej strane existujú kognitívne úkony, ktoré sa ovplyvňujú, aj keď na prvý pohľad spolu vôbec nesúvisia, interakcia medzi jednotlivými pamäťovými procesmi (Porubánová, 2008; Sternberg, 1996). Fenomén vzájomného ovplyvňovania sa kognitívnych procesov alebo aktivít sa nazýva interferencia alebo inhibícia. Jedným z najznámejších príkladov interferencie je Stroopov efekt (Stroop, 1935), ktorý ilustruje interferenciu medzi kognitívnymi procesmi čítania a rozpoznavania farieb. Stroop nadviazal na Bergströma a

dokázal, že schopnosť človeka pomenovať farbu, akou je napísaný text, je ovplyvnená tým, čo je napísané, t.j., textom samotným. Stroop študoval interferencie pomocou úloh zameraných na čítanie názvov farieb a pomenovávanie farieb. V prvej úlohe porovnával čas potrebný na prečítanie názvov farieb vytlačených čiernou farbou a vytlačených nezodpovedajúcou farbou (slovo červená vytlačené zelenou farbou – správna odpoveď je červená). Taktiež porovnával čas potrebný na rozoznanie farby slova znamenajúceho nezodpovedajúcu farbu (slovo červená vytlačené zelenou farbou – správna odpoveď je zelená) a rozoznanie farby jednofarebného obdĺžnika. Stroopov efekt funguje aj v prípade, že subjekt neidentifikuje farbu verbálne. Dá sa teda usudzovať, že interferencia medzi kognitívnym procesom čítania a

určenia farby nastáva už vo fáze, keď subjekt farbu rozpoznáva, nie až keď ju pomenúva (Holotňák, 2004). Stimulmi, reakčným časom a fenoménom vnímania sa venoval aj Simon (1963,1967), ktorý nadviazal na Stroopove práce v oblasti analýzy vnímania.

MATERIÁL A METODIKA

Metodika testu Stroopovho efektu vychádza z princípu sústredenosti hodnotiteľa, ktorému sa predkladajú farebné testovacie moduly náhodne vybrané z počítačového programu. Na štúdiu sa zúčastnilo 18 študentov III. ročníka študijného odboru Hygiena potravín UVL v Košiciach s vekovým priemerom 21 rokov, z toho bolo 12 dievčat a 6 chlapcov a 34 študentov VI. ročníka študijného odboru Hygiena potravín UVL v Košiciach s vekovým priemerom 24 rokov. Z toho bolo 21 dievčat a 13 chlapcov. Vytvorili sme 11 testovacích modulov (optoklamov). Každému študentovi sme na počítači prezentovali jeden z náhodne vybraných testovacích modulov (optoklamov) a jeho úlohou nebolo prečítať slovo, ale pomenovať farbu akou je slovo napísané. Registrovali sme chyby, ktorých sa dopustil pri pomenovaní farieb a súčasne merali celkový čas, ktorý potreboval na splnenie úlohy. Výsledky sme zaznamenali do tabuľky a následne štatisticky vyhodnotili pomocou rozhodovacích stromov (Berry a Linoff, 1997; William, S. Cleveland, 1994, Výrost a Slaměník, 2001). Hlavným cieľom bolo zistiť, nakoľko ťažké je vedome

potlačiť či kontrolovať proces natoľko automatický ako je čítanie a zistiť sústredenosť subjektu.

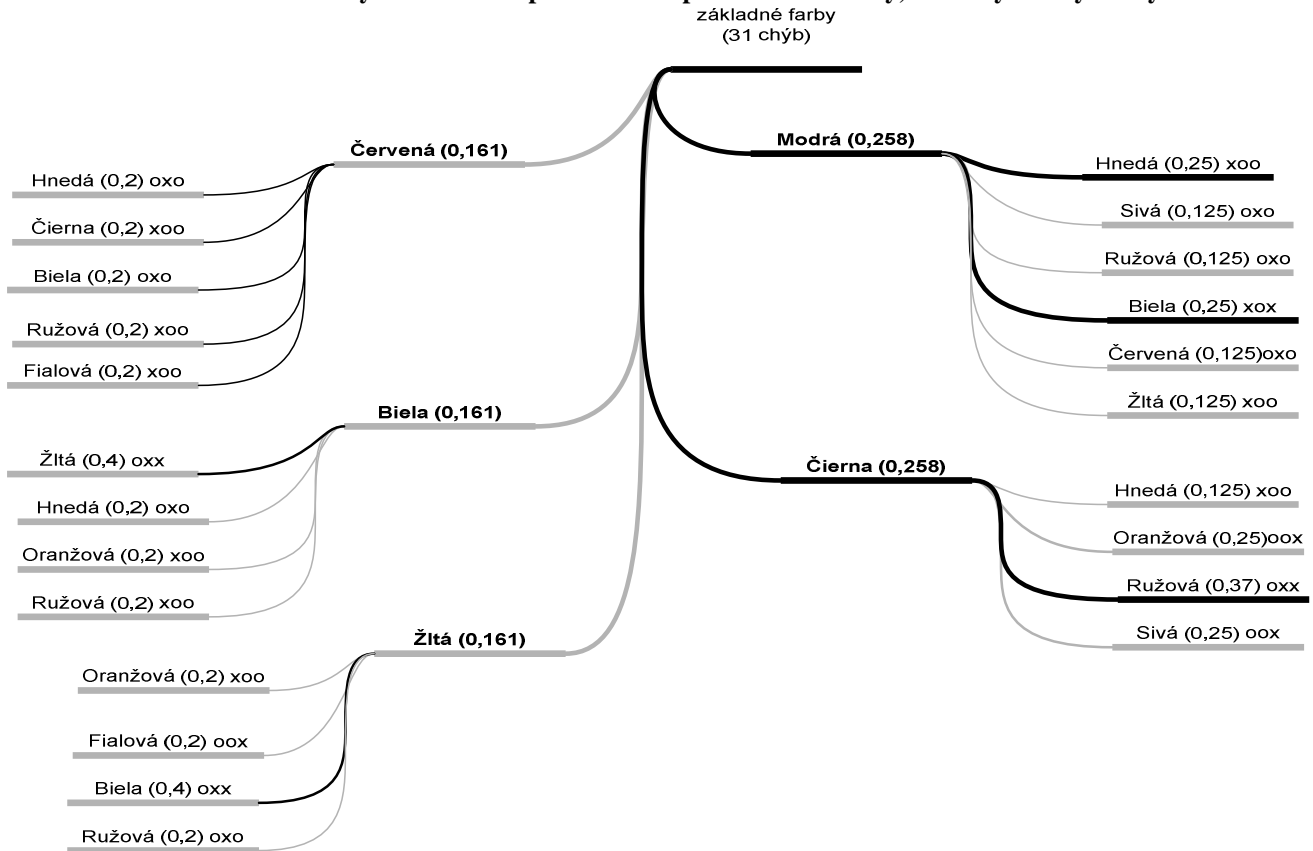
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že dochádza k rušeniu, keď sa snažíme upútať pozornosť iba na farbu písma. Je to spôsobené tým, že skúsenosť nás naučila, že význam slova je oveľa dôležitejší, ako farba písma a čítanie je proces viac automatický ako vedomé rozpoznávanie farieb. Rušivý efekt poukazuje na to, že sústredenie našej pozornosti nie je vždy pod našou kompletnou kontrolou. Stroop predpokladá, že osoby s vyšším stupňom kontroly, pokojné a dobre znášajúce frustráciu, ľahko prekonajú záťaž vyvolanú interferenčným testom (Tomko a Bevilaqua, 2000; Daniel, 1984, Výrost a Slaměník, 1998).

Schéma č. 1 znázorňuje výsledky chýb Stroopovho efektu pre základné farby. Celkový počet analyzovaných chýb v optoklamoch u jednotlivých študentov bol 31. Pre jednotlivé farby sme vypočítali koeficienty vzniku chyby pri ich určovaní. Na základe týchto koeficientov môžeme vypočítať aká je pravdepodobnosť pomýlenia si jednotlivých farieb navzájom.

Študenti sa dopúšťali nesprávnych určení (chýb) najmä pri modrej (0,258) a čiernej farbe (0,258). Na začiatku optoklamu si najčastejšie mýlili bielu (0,25) a hnedú farbu (0,25) s modrou farbou. Pravdepodobnosť pomýlenia si

Schéma 1. Rozhodovací strom výsledkov Stroopovho efektu pre základné farby, 31 analyzovaných chýb



x – pozícia chyby v jednotlivjej časti optoklamu (1 časť: 1 – 15 slovo optoklamu, 2 časť: 16 – 30 slovo optoklamu, 3 časť: 30 – 49 slovo optoklamu)

týchto farieb je 6 %. Najčastejšie mýlenou farbou bola ružová (0,37), ktorú si študenti ku koncu optoklamu mýlili s čiernou farbou (0,258). Pravdepodobnosť výskytu tohto javu je 9 %. Najmenší koeficient chyby sa dosiahol pri červenej, bielej a žltej farbe 0,161.

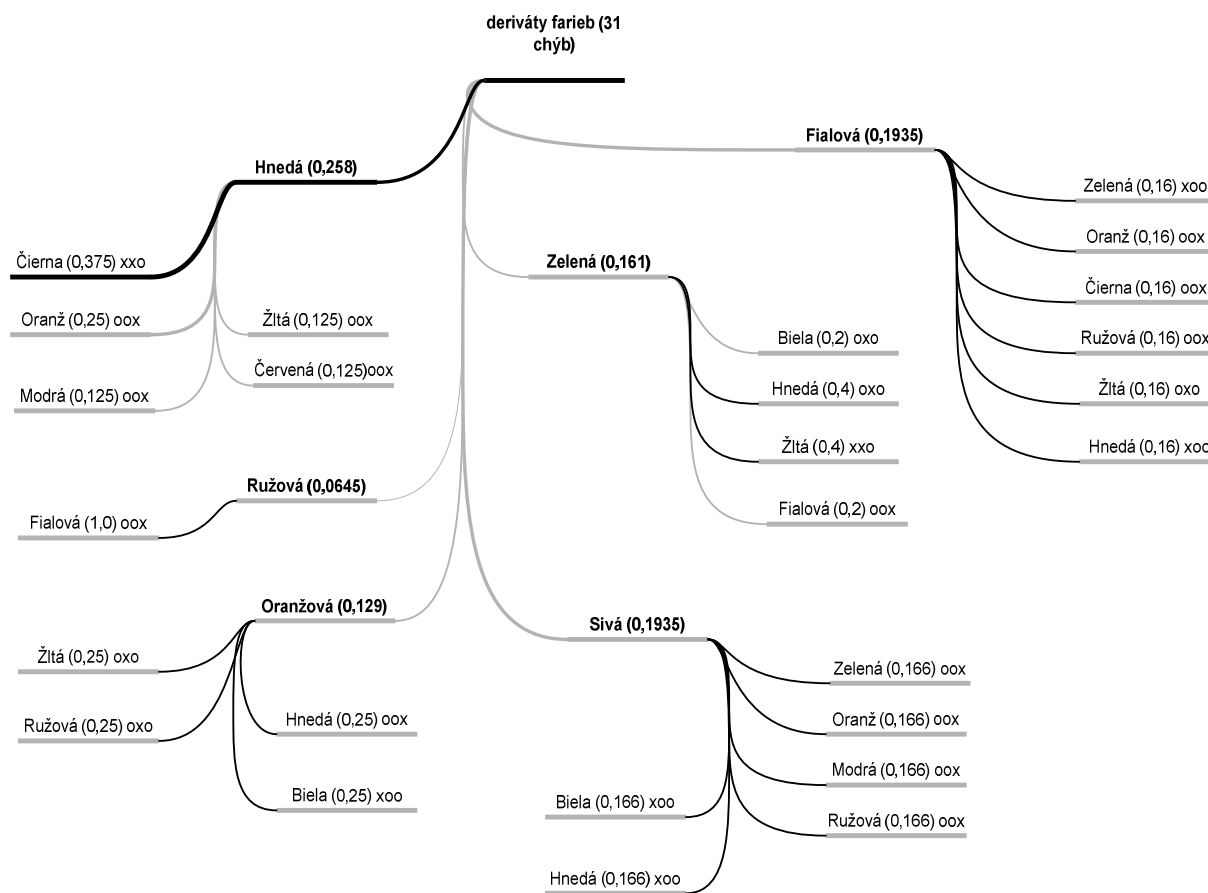
Z výsledkov uvádzaných v schéme č. 2 vyplýva, že najväčší počet nesprávnych určení nastávalo pri hnedej farbe, kde sa dosiahol najvyšší koeficient výskytu chyby 0,258. V prvých častiach optoklamu ju nesprávne určilo najviac študentov namiesto správnej čiernej farby (0,375). Pravdepodobnosť výskytu tohto javu je 9 %. Rovnaký počet chýb (0,1935) sa dosiahol pri určovaní sivej

školení hodnotiteľov pre zvyšovanie ich sústredenosti a sebakontroly.

LITERATÚRA:

BERGSTRÖM, J. A., 1893. Experiments upon physiological memory. *Amer. J. Psychol.*, 1893, 5, s. 356-359.
 BERGSTRÖM, J. A., 1894. The relation of the interference of the practice effect of an association. *Amer. J. Psychol.*, 1894, 6, s. 433-442.
 BERRY, M., LINOFF, G., 1997. *Data Mining Techniques*, John Wiley, 1997, s. 1 - 39
 DANIEL, J., 1984. *Psychická záťaž v laboratórnych a*

Schéma 2. Rozhodovací strom výsledkov Stroopovho efektu pre deriváty farieb (miešateľné farby), 31 analyzovaných chýb



x – pozícia chyby v jednotlivjej časti optoklamu (1 časť: 1 – 15 slovo optoklamu, 2 časť: 16 – 30 slovo optoklamu, 3 časť: 30 – 49 slovo optoklamu)

a fialovej farby. K ich nesprávnym určeniam dochádzalo väčšinou na konci optoklamu. Najmenej chýb vzniklo pri ružovej farbe s koeficientom výskytu chyby (0,0645).

ZÁVER

Na základe dosiahnutých výsledkov testu a celkového hodnotenia môžeme konštatovať, že je potrebné formou udržiavacích testov na rôznych úrovniach zdokonaľovať okrem teoretických znalostí aj fyziologicko-psychologické parametre senzorických orgánov posudzovateľov. Vhodnou kombináciou farieb a ich koeficientov môžeme zostaviť optoklamy s najťažšie určujúcimi farbami, ktoré sa môžu využiť pri následnom

terénnych podmienkach, SAV Bratislava, 1984
 HOLOTNÁK, O., 2004. *Automatické spracovanie informácií*, Kongitívna veda, Bratislava, 2004, s. 1-12.
 Porubánová, M., 2008. *Detekovanie zmien v percepčnom poli vo vzťahu ku kapacite pracovnej pamäte*, Brno, 2008, s.1 – 19.
 R Development Core Team. R, 2006. *A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2006. ISBN 3-900051-07-0
 SIMON, J. R. , AND WOLF, J. D., 1963. Choice reaction times as a function of angular stimulus-response correspondence and age. *Ergonomics*, 6, s. 99-105.

SIMON, J. R. & RUDELL, A. P., 1967. Auditory S-R compatibility: the effect of an irrelevant cue on information processing. *Journal of Applied Psychology*, 51, s. 300-304.

STROOP, J. R.: Studies of interference in serial verbal reactions, *Journal of Experimental Psychology*, 1935, 28, s. 643-662.

STERNBERG, R., 1996. *Kognitívna psychológia*, Praha: Portál, 1996

TOMKO, Ľ., BEVILAQUA, P., 1996. Stroopov efekt, Bratislava, 2000, s.1 – 8.

VÝROST, J., SLAMĚNÍK, I. (Eds.) 1997. *Sociálna psychológia – sociálna psychológia*. 1. vyd. Praha : ISV – nakl., 1997. 453 s.

VÝROST, J., SLAMĚNÍK, I. (Eds.) 1998. *Aplikovaná sociálna psychológia I*. 1. vyd. Praha : Portál, s. r. o., 1998. 383 s.

VÝROST, J., SLAMĚNÍK, I. (Eds.) 2001. *Aplikovaná sociálna psychológia II*. 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 2001. 260 s.

WILLIAM, S., 1994. *Cleveland: The Elements of Graphing Data*, revised, Hobart Press, 1994

Kontaktná adresa:

Ing. Vladimír Vietoris PhD. SPU Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia.

Email: vietoris@afnet.uniag.sk

INTENSIVE MILK PRODUCTION AND COW HEIFER BREEDING

Karol Węglarzy, Irena Skrzyżala, Julia Stekla

ABSTRACT

Cow heifers milk yield in first 100 days of lactation influence on cows ability to calving and breeding indexes analysis was the main goal of the investigation. The research were carried out on herd of 132 calved cows and 13 cows culled because of the infertility, kept in loose system. Data which were constituted as a base of analysis, were collected during four succeeding years, 2005-2008. Milk, fat and protein levels has not differ between calved and culled cow groups. Calved cow milk yield did not have an influence on breeding indexes. Value of correlation quotient between milk yield and intercalves period length was 0,04 with 0,677 as significance level.

Keywords: milk production,

INTRODUCTION

Recently in dairy cattle husbandry high level of cow lacking on the ground of their dryness (Dymnicki et al. 1985, Sablik 2002, Sawa and Maciejewski 2000, Różańska-Zawieja et al. 2008) and intercalving period extension is observed (Ocena i hodowla bydła mlecznego 2008). This condition substantial for agricultural practice arouses interest and prompt to searching of its reason. Milk yield increment has a potential meaning for this condition (Gnyp et al. 1999, Jankowska 2002, Małpecki-Tepicht et al. 2000). In national publications output data from many farms – herds are analysed, without succeeding lactations allowing. According to these researches were taken to be limited the factors that have a potential influence on breeding index. Results gained in short period in herd of cow heifers were analysed.

Disadvantageous influence of high milk yield in starting phase of lactation on breeding has been assumed as an investigational assumption.

Main goal of analysis was to determine a milk yield in first 100 days of lactation influence on breeding indexes of cow heifers.

MATERIAL AND METHODS

Milk production results and cow heifers breeding indexes in Kostkowice farm belonging to Experimental Station of National Research Institute of Animal Production at Grodziec Śląski have been a research material. Limitation of analysis to cow heifers has allowed to elimination of previous lactation influence. Animals which have calved twice in four years period, from January 2005 to December 2008, have been classified to analysis. It was 132 cows. For a comparison 13 cow heifers culled because of the infertility in the same time were taken.

Milk yield in first 100 days of lactation, kilogram of milk, fat and protein were analysed. Postpartum downtime,

service, intergestational and intercalves periods and insemination rate for a calving were analysed as a breeding indexes.

Descriptive statistic methods were used in calculation.

RESULTS

Causal-effect relationship between cows milk yield increment and fertility indexes worsen seems to be probable. This influence is possible mainly at the beginning of lactation and its essence can be related to energy deficiency what can lead to pregnancy hormone – progesterone, decrement. Low progesterone level has not allowed to keeping pregnancy. Some data in macroscale has confirmed this idea. For example in country during 3 years, from 2005 to 2007, average cow yield under performance control has grown at 536 kg, from 6152 to 6688 kg. Concurrently in cows HO variety intercalving period length has grown at 10 days – from 417 to 427 days. Another example is form Saxony (Germany), where cows culling because of infertility in general pool of cullings has increased from 8,3% in 1995, through 12,3% in 2000 and to 16,1% in 2007 (Jaheresbericht 2007). Jankowska (2002) has the same conclusions that “production level is fertility limitative index”. Custom research results has not confirmed this assumption.

Average yield for first 100 days of lactation for culled cow heifers was 2578 kg and was 33 kg higher comparing to not culled cows (tab. 1). Individual differences in culled cows group oscillated between 1159 to 4020 kg. Equally high differences were confirmed in cows group that have not been culled – from 1367 to 3369 kg. Average fat and protein efficiencies (kg) were nearly identical in both groups. These results indicate that yield level at the beginning of lactation has not got influence on cows ability to culling. Differences between custom research results and cited data from practice and literature ensue

from unlike starting material. In custom research starting data were unified, because production results from cow

Table 1 Milk yields in cows for 100 days of lactation.

Cow group	Cows		Average yield - kg		
	N	%	Milk	Fat	Protein
A - culled with milk yield:					
A1 - less than 2000	16	12,1	1656	71,8	54,2
A2 - 2001 - 2500	41	31,1	2278	94,3	74,3
A3 - 2501 - 3000	44	33,3	2730	108,1	86,9
A4 - more than 3001	31	23,5	3235	126,6	101,7
<i>Average for the herd</i>	<i>132</i>	<i>100</i>	<i>2578</i>	<i>103,7</i>	<i>82,6</i>
B - not culled	13	100	2545	103,2	81,7

heifers from one herd from relatively short period of time (4 succeeding years) were used. Performance control results show also that good fertility as well as high yield can be obtained (Ocena i hodowla bydła mlecznego 2008). In one herd with 10 000 kg of average milk yield the differences in intercalves period length between herds amount to two, three or even four months (Ocena i hodowla bydła mlecznego 2008). Equally in Saxony in 2007 culling share according to infertility was independent from herd yield (Jahresbericht 2007).

The average postpartum downtime length was lowest in group with high milk yield – A4, amount to 99,2 days. In other groups milk yield was very similar, about 115 days (tab. 2). This index, established by herd owner, is an element of herd breeding attendance evaluation. It was notices that in whole herd it was much longer comparing to recommendation (Anonim 1997).

Average service period in A2 and A3 was about 70 days at 2,05 and 2,32 as number of inseminations per calving (tab. 2). This results show average calving efficiency. Service period noticed in group A4 at culling number 2,52 was more than 1 month longer. The worst results were obtained in cows group with lowest milk yield – A1. Culled cows number after first insemination was the best

in group A2 – over 50%, in groups A3 and A4 it amounts to 40% and it was worst in group A1 – less than 10%. All three indexes: service period, insemination number per culling and percentage of animals culled after first insemination were not noticed to be declined with milk, fat and protein yield increment in first 100 days of lactation.

Average intergestational period in groups A2 and A3 was about 6 months, in group A4 almost 7 months and in group A1 – 8 months.

As it was confirmed by Juszczak and Hubner (2000) optimal intergestational period amounts 2 to 4 months. In consequence also intercalves period was long in all four groups, much longer then average value in Silesian vivodeship in 2007 – 432 days (Ocena i hodowla bydła mlecznego 2008). Low value of correlation quotient – 0,04 with 0,677 as significance level was a proof of lack od milk yield in starting phase of lactation influence on intercalves period length in examined herd.

To sum up, the assumption that decrement of milk, fat and protein yield at the beginning of lactation has and a negative influence on all fertility indexes and on ability to fertiltization.

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań była analiza wpływu wydajności krów pierwiastek w pierwszych 100 dniach laktacji na zdolność do zacielenia oraz wskaźniki rozrodu. Badania przeprowadzono na stadzie 132 krów zacielenych oraz 13 krów brakowanych ze względu na jałowosć, które utrzymywane były w systemie wolnostanowiskowym. Dane, na których oparto analizę zebrano w czterech kolejnych latach, 2005-2008. Poziomy wydajności mleka, kg tłuszczu i białka u krów zacielenych i jałowych nie różniły się między sobą. Poziom wydajności krów zacielenych nie miał wpływu na żaden ze wskaźników płodności. Współczynnik korelacji między wydajnością mleka a długością okresu międzywycieleniowego wyniósł 0,04 przy poziomie istotności 0,67.

LITERATURE:

ANONIM 1997. Wskaźniki rozrodu bydła, Biuletyn Informacyjny Wielkopolskiej Izby Lekarsko-Weterynaryjnej, 4,21-25.

DYMNICKI E., OSIŃSKA M., SOBCZYŃSKA M., JASIOROWSKI T. 1985. Czynniki wpływające na długość okresu międzywycieleniowego oraz przyczyny brakowania

Table 2 Basic cow heifers breeding indexes according to milk yield for 100 days of lactation.

Cow group	Average period - days				Insemination number per calving
	Postpartum downtime	Service	Intergestational	Intercalving	
A1	116,3	130,0	246,3	520,5	3,06
A2	113,5	68,6	182,0	456,4	2,05
A3	115,0	69,7	184,7	463,0	2,32
A4	99,2	106,4	205,6	478,9	2,52
<i>Average for the herd</i>	<i>111</i>	<i>85,3</i>	<i>196,3</i>	<i>471,7</i>	<i>2,37</i>

krów, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 300, 257-262.

GNYP J., MAŁYSKA T., KAMIENIECKI K., KOWALSKI P. 1999. Wpływ wydajności mleka pierwiastek czarno-białych na ich użytkowość mleczną, płodność i długość użytkowania w kolejnych laktacjach, Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego, 44, 117-124.

Jahresbericht 2007. Saechsischer Landeskontrollverband e. V.

JANKOWSKA M. 2002. Wpływ genotypu oraz poziomu produkcji krów na ich rozrodność na ich brakowanie z powodu jałowości, Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego, 62, 11-19.

JUSZCZAK J., HIBNER A. 2000. Biologiczny okres spoczynku rozrodczego w świetle badań na efektywnością użytkowania mlecznego krów, Zeszyty Naukowe PTZ, 51, 101-108.

MAŁECKI-TEPICHT J., BARAŃSKI W., JANOWSKI T., CZAPLICKA M. (2000). Procesy rozrodu oraz płodność importowanych krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, Przegląd Hodowlany, 2, 1-3.

Ocena i hodowla bydła mlecznego. (2008). Dane za rok 2007, PFHBiPM – Warszawa.

RÓŻAŃSKA-ZAWIEJA J., NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA A., NOWACKI P., SOBEK Z. (2008). Długowieczność i przyczyny brakowania, Prace i Materiały Zootechniczne IGiHZ, Jastrzębiec, 65, 59-66.

SABLIK P. 2002. Przyczyny brakowania krów mlecznych oraz wpływ podawania im probiotyku *yea-sacc*¹⁰²⁶ i mieszanki mineralnych biopleksów na poprawę cech produkcyjnych w warunkach Pomorza Zachodniego, Wyd. AR Szczecin, Rozprawy nr 213.

SAWA A., MACIEJEWSKI P. 2000. Przyczyny brakowania krów w zależności od poziomu produkcyjnego i liczebności stada w byłym województwie wrocławskim w latach 1991-1998, Zeszyty Naukowe PTZ, 51, 171-176.

Contact adress:

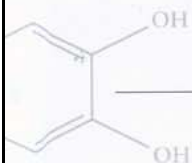
Karol Węglarzy, Irena Skrzyżala, Julia Stekla, National Research Institute of Animal Production, Balice, ul. Krakowska 1, Section of Technology, Ecology and Economics of Animal Production



Katedra higieny a bezpečnosti potravín

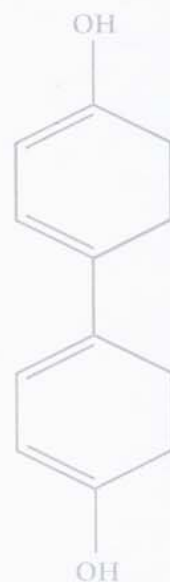
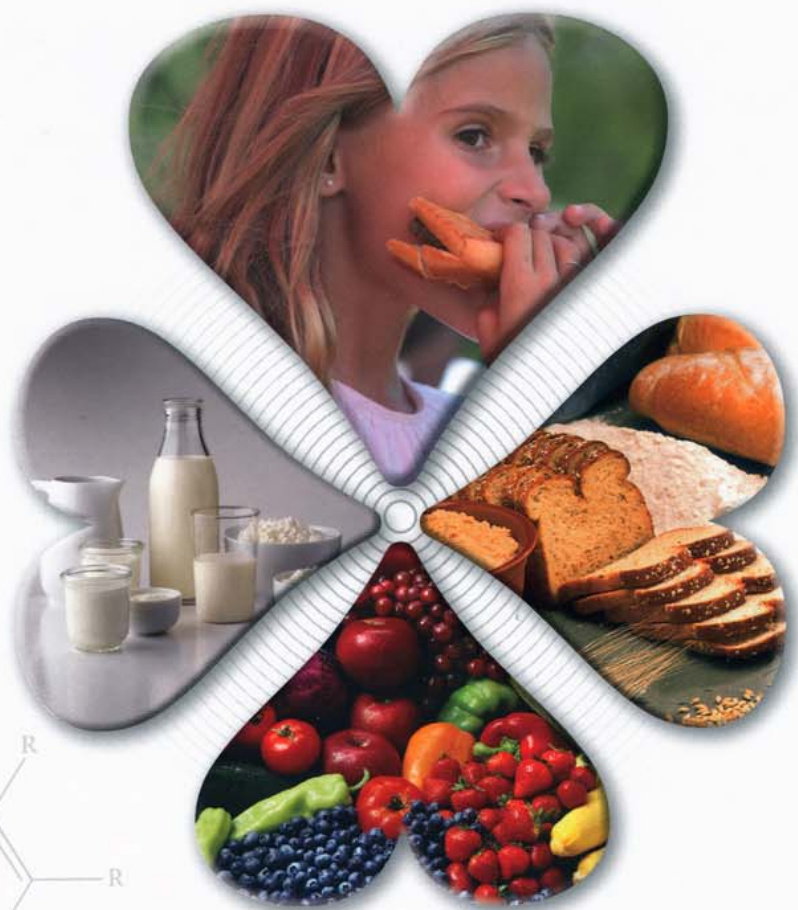


ĽUBOMÍR BELEJ, JOZEF GOLIAN, ALICA BOBKOVÁ AUTENTIFIKAČNÉ PARAMETRE VHODNÉ NA ODHLAĽOVANIE FALŠOVANIA OVOCNÝCH NÁPOJOV	1
ČUBOŇ JURAJ, PRÍVARA ŠTEFAN, HAŠČÍK PETER, ARPÁŠOVÁ HENRIETA, KAČÁNIOVÁ MIROSLAVA, SCHNEIDGENOVÁ MONIKA, VAGAČOVÁ TATIANA VPLYV PRÍDAVKU BIOLOGICKY AKTÍVNYCH LÁTKOK DO KŔMNEJ ZMESI NOSNÍK NA OBSAH CHOLESTEROLU VO VAJCI	4
MILAN DOBIAŠ, JOZEF GAŠPARÍK, JOZEF BUJKO, JOZEF VENGLARČÍK OBSAH KONTAMINANTOV VO SVALOVINE A VYBRANÝCH VNÚTORŇNÝCH ORGÁNOCH DIVIAČEJ ZVERI V POĽOVNEJ OBLASTI JXXXIII TRÍBEČ	8
TERÉZIA FILIPEJOVÁ, JAROSLAV KOVÁČIK KVALITA Mlieka A JEHO ZLOŽENIE VO VZŤAHU K METABOLICKÝM OCHORENIAM DOJNÍK PROSTREDNÍCTVOM METABOLICKÉHO PROFILOVÉHO TESTU	13
PETER HAŠČÍK, MIROSLAVA KAČÁNIOVÁ, JURAJ ČUBOŇ, JÁN LOPATA, MICHAL MIHOK, KLÁRA VAVRIŠINOVÁ, HENRIETA ARPÁŠOVÁ HODNOTENIE KVALITY LESNÝCH A KVETOVÝCH MEDOV Z RÔZNYCH KRAJÍN PÔVODU	17
MIROSLAVA KAČÁNIOVÁ, MARTIN MELICH, PETER HAŠČÍK, VLADIMÍRA KŇAZOVICKÁ, SIMONA PAVLIČOVÁ PROPOLIS A JEHO ANTIMIKROBIÁLNE ÚČINKY	23
ANNA KALAFOVÁ, PETER MASSÁNYI, PETER CHRENEK, JAROSLAV KOVÁČIK, NORBERT LUKÁČ, ĽUDMILA CHRASTINOVÁ, MONIKA SCHNEIDGENOVÁ, PETER ČUPKA, RASTISLAV JURČÍK THE EFFECT OF SINGLE NICKEL AND COMBINED NICKEL AND ZINC PERORAL ADMINISTRATION ON SELECTED MINERAL BLOOD PARAMETERS IN FEMALE RABBITS	26
ADRIANA KOLESÁROVÁ, JANA SLIVKOVÁ, SHUBHADEEP ROYCHOUDHURY, PETER MASSÁNYI, ALEXANDER SIROTKIN, MARCELA CAPCAROVÁ, MARÍNA MEDVEĎOVÁ, JAROSLAV KOVÁČIK OLOVOM INDUKOVANÉ ZMENY PROLIFERÁCIE A APOPTÓZY GRANULÓZNYCH BUNIEK VAJEČNÍKOV PRASNÍČIEK <i>IN VITRO</i>	29
ANNA KOLESÁROVÁ, PETER MASSÁNYI, MARCELA CAPCAROVÁ, VLADIMÍR PARKÁNYI, ĽUBOMÍR ONDRUŠKA, JÁN RAFAY, NORBERT LUKÁČ VPLYV HYPERTERMIE NA MIKROMORFOMETRICKÚ ŠTRUKTÚRU OBLIČIEK KRÁLIKOV	34
DAGMAR KOZELOVÁ, ALICA BOBKOVÁ, ĽUBOMÍR LOPAŠOVSKÝ, MAREK ŠNIRC INTOLERANCIA ORGANIZMU NA VYBRANÉ RASTLINNÉ KOMODITY, JEJ PRÍZNAKY, DIAGNOSTIKA A DETEKCIA PRÍČINNÝCH ALERGÉNOV	38
LÍVIA KRÍŽOVÁ, ALENA VOLLMANNOVÁ, EVA MARGITANOVÁ, JÚLIUS ÁRVAY, GABRIELA SZABÓOVÁ RIZIKOVÉ KOVY V DROBNOM LESNOM OVOCÍ	43
JÁN MAČANGA, IVONA KOŽÁROVÁ, MÁRIA GOLDOVÁ, PETER MAJOR, BEÁTA KORÉNEKOVÁ SLEDOVANIE DYNAMIKY ODBÚRAVANIA REZÍDUÍ VYBRANÝCH ANTIKOKCIDÍ V TKANIVÁCH KURČIAT A BAŽANTOV POČAS STANOVENEJ OCHRANNEJ LEHOTY	47
JANETTE MUSILOVÁ, ZUZANA POLÁKOVÁ, TOMÁŠ TÓTH ZINOK – RIZIKOVÝ ALEBO PROSPEŠNÝ MIKROELEMENT V ZEMIAKOCHE?	51
LINDA PELTZNEROVÁ, JANETTE MUSILOVÁ, EVA MARGITANOVÁ KUMULÁCIA OLOVA V JEDNOTLIVÝCH ANATOMICKÝCH ČASTIACH ĽUĽKA ZEMIAKOVÉHO (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i> , L.)	54
KATARÍNA FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, ALENA GREGUŠOVÁ NUTRIČNÉ UKAZOVATELE A RIZIKÁ U DETÍ ZÁKLADNÝCH ŠKÔL	57
GABRIELA SZABÓOVÁ, JÁN TOMÁŠ, ĽUBOŠ HARANGOZO, LÍVIA KRÍŽOVÁ, JÚLIUS ÁRVAY SLEDOVANIE OBSAHU ŤAŽKÝCH KOVOV V MRAZENEJ ZELENINE	61
DANA TANČINOVÁ, SOŇA FELŠÖCIOVÁ, MÁRIA DOVIČIČOVÁ, ZUZANA MAŠKOVÁ, ROMAN LABUDA, ZUZANA BARBORÁKOVÁ ENDOGÉNNÁ MYKOCENÓZA PŠENICE SO ZAMERANÍM NA DRUHY RODOV <i>ASPERGILLUS</i> A <i>PENICILLIUM</i>	65
RÓBERT TOMAN, PETER MASSÁNYI, NORBERT LUKÁČ, JOZEF GOLIAN, SLAVOMÍR MINDEK, JOZEF VÁLKY PORUCHY PLODNOSTI MUŽOV V NITRIANSKOM KRAJI A ICH VZŤAH K RIZIKOVÝM FAKTOROM PROSTREDIA	69
JÁN TOMÁŠ, JÚLIUS ÁRVAY, TOMÁŠ TÓTH, GABRIELA SZABÓOVÁ, ĽUBOŠ HARANGOZO OBSAH ŤAŽKÝCH KOVOV V PÔDE A DOPESTOVANEJ PRODUKCII Z METALICKY ZAŤAŽENEJ OBLASTI	74
ANDREA VÁCLAVOVÁ, VLADIMÍR VIETORIS, PETER ZAJAC, JOZEF ČAPLA, JOZEF GOLIAN, PAVOL MALA VYUŽITIE ALTERNATÍVNYCH POSTUPOV PRI TESTOVANÍ HODNOTITEĽOV V SENZORICKEJ ANALÝZE	79
KAROL WĘGLARZY, IRENA SKRZYŻALA, JULIA STEKLA INTENSIVE MILK PRODUCTION AND COW HEIFER BREEDING	82



Biotechnológia, výživa a zdravie

Kľúčové potraviny pre reparáciu zdravotného stavu obyvateľstva.



„Jesť, to je nevyhnutnosť, ale správne jesť, to je umenie.“

Ing. Ján Keresteš a kolektív

Práve vyšla publikácia:

Biotechnológia, výživa a zdravie

NIKA s.r.o., ul. Nová 135, 017 01 Považská Bystrica, tel.: +421 42 432 53 21

www.nika.sk