

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva



Katedra fyziológie živočíchov
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín

Štátna veterinárna a potravinová správa SR

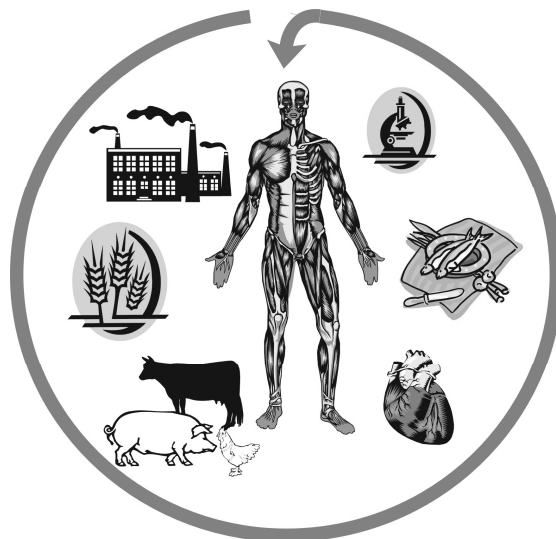
Akademia Pedagogiczna im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

Wydział Geograficzno-Biologiczny

Instytut Biologii

**Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy
pri SAV**

RIZIKOVÉ FAKTORY POTRAVOVÉHO REŤAZCA



12.10.2006

NITRA

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva



Katedra fyziológie živočíchov
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín

Štátna veterinárna a potravinová správa SR

Akademia Pedagogiczna im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

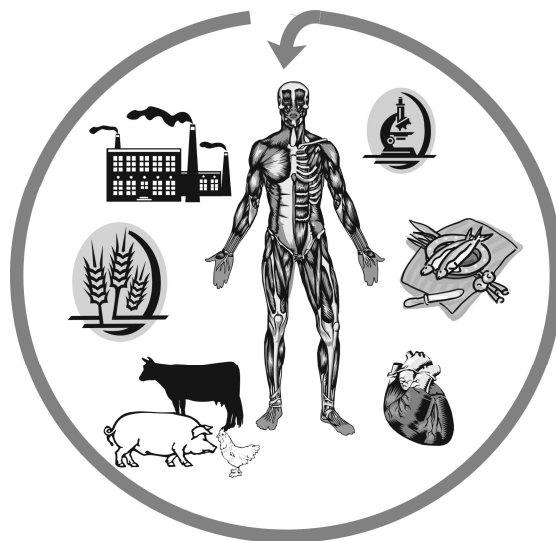
Wydział Geograficzno-Biologiczny

Instytut Biologii

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV

Zborník z medzinárodnej konferencie

RIZIKOVÉ FAKTORY POTRAVOVÉHO REŤAZCA



12.10.2006

NITRA

Redakčná rada: doc. MVDr. Peter Massányi, PhD.,
 doc. Ing. Róbert Toman, Dr.,
 Ing. Norbert Lukáč, PhD.,
 Ing. Marcela Capcarová, PhD.

Schválil rektor Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 2.10.2006 ako zborník z vedeckého seminára s medzinárodnou účasťou

ISBN 80-8069-760-4

Vedecký výbor:

prof. László **Bárdos**, DVM, PhD.
(Szent István University, Budapest)

prof. MVDr. Jozef **Bíreš**, DrSc.
(ŠVPS SR, Bratislava)

prof. Ing. Jozef **Bulla**, DrSc.
(SPU, FBP, KFŽ, Nitra)

doc. MVDr. Eva **Dudríková**, PhD.
(UVL, Košice)

Dr. Zsolt **Forgács**, PhD.
(NICHs, Budapest)

prof. Ing. Jaroslav **Kováčik**, PhD.
(SPU, FBP, KFŽ, Nitra)

prof. MVDr. Jozef **Sokol**, DrSc.
(KVPS SR, Trnava)

doc. Ing. Jaroslav **Slamečka**, PhD.
(SCPV, Nitra)

prof. Dr. Frieda **Tataruch**, PhD.
(VU, FIWI, Wien)

doc. Ing. Miroslav **Valent**, PhD.
(WVU, Morgantown, USA)

doc. MVDr. Lenka **Vorlová**, CSc.
(VFU, Brno)

prof. Dr. Marian **Zakrzewski**, PhD.
(AP, Krakow)

Recenzenti:

prof. MVDr. Juraj Pivko, DrSc.

doc. Ing. Peter Massányi, PhD.

doc. Ing. Jozef Golian, Dr.

MVDr. Pavel Nad', PhD.

RNDr. Alena Jančová, PhD.

RNDr. Janka Drábeková, PhD.

Dr. Robert Stawarz, PhD.

Dr. Grzegorz Formicki, PhD.

Organizačný výbor

doc. MVDr. Peter Massányi, PhD.

doc. Ing. Jozef Golian, Dr.

doc. Ing. Róbert Toman, Dr.

Ing. Norbert Lukáč, PhD.

Ing. Marcela Capcarová, PhD.

Dr. Robert Stawarz, PhD.

Dr. Grzegorz Formicki, PhD.

Ing. Jiřina Zemanová

Ing. Anna Kalafová

Ing. Peter Čupka

Ing. Monika Schneidgenová

Alena Balážová

Názov publikácie: Rizikové faktory potravinového reťazca
Druh publikácie: Zborník vedeckých prác
Autori publikácie: kolektív autorov
Zborník zostavili: P. Massányi, R. Toman, N. Lukáč, M. Capcarová
Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Počet výtlačkov: 100
Rok vydania: 2006
Tlač: Vydavateľské a edičné stredisko SPU v Nitre

ISBN 80-8069-760-4

OBSAH

Abbas, Kamaran Abduljalil, AL-Sardari, Sardar Yasin Taha: The influence of Faba bean (<i>Vicia faba</i> L.) in layers diet and the age on the interior egg quality.....	9-13
Alghazal, M. A., Šutiaková, I., Kovalkovičová, N., Legáth, J., Pistl, J., Falis, M., Sabo, R., Beňová, K., Droppová, L., Váczi, P.: Frequency of micronuclei in rats chronically exposed to lead acetate trihydrate.....	14-18
Andreji, J., Straňai, I., Tóth T.: Anorganické kontaminanty v svalovine rýb a dnových sedimentoch vodnej nádrže.....	19-21
Andreji, J., Straňai, I.: Zaťaženie štrkoviska Dvory nad Žitavou č. 3 (okr. Nové Zámky) ťažkými kovmi na modeli zubáča veľkouštetého (<i>Sander lucioperca</i> L.).....	22-23
Angelovičová, M., Kačániová, M., Mellen, M., Angelovič, M.: Vzťah medzi kŕmnymi doplnkami vo výžive produkčných nosníc a obsahom cholesterolu v ich vajciach.....	24-28
Arpášová, H., Massányi, P., Capcarová, M., Kalafová, A., Lukáč, N.: Vplyv experimentálneho podania niklu na živú hmotnosť sliepok.....	29-32
Arpášová, H., Massányi, P., Capcarová, M., Kalafová, A., Lukáč, N.: Vplyv experimentálneho podania niklu na kvalitu celého vajca.....	33-37
Árvay, J., Stanovič, R.: Metalická kontaminácia pôd v oblasti Štiavnických vrchov.....	38-41
Bábiková, L., Toman, R., Hluchý, S., Massányi, P., Lukáč, N., Golian, J., Šiška, B.: Morfometrická analýza semenníkov potkanov po aplikácii niklu	42-44
Bíreš, J., Ihnátová, M., Matuš, M.: Monitoring cudzorodých látok v rámci Národného plánu kontroly rezíduí na Slovensku.....	45-52
Capcarová, M., Massányi, P., Kalafová, A., Lukáč, N., Schneidgenová, M., Arpášová, H., Kolesárová, A., Kováčik, J.: Vplyv experimentálneho podania niklu na ukazovatele minerálneho metabolizmu nosníc.....	53-57
Cigánková, V., Nad', P., Skalická, M., Koréneková, B., Massányi, P.: Vplyv kadmia na štruktúru duodena, obličiek a semenníkov Japonskej prepelice.....	58-62
Cigánková, V., Zibrín, M., Holovská, K., Almášiová, V.: Japonská prepelica ako súčasť potravného reťazca kozmonautov.....	63-65
Dičáková, Z., Dudriková, E.: Biogénne amíny ako chemické nebezpečenstvo.....	66-67
Ducková, V., Čanigová, M., Kročko, M.: Enterokoky izolované z bryndze a ich rezistencia na antibiotiká.....	68-73
Dudriková, E., Húska, M., Kočíšová, A.: Chemické nebezpečenstvá pri chove niektorých druhov zvierat produkujúcich potraviny.....	74-78
Faixová, Z., Faix, Š., Leng, E., Váczi, P.: Protective effect of selenium in mycotoxin toxicity.....	79-83
Germuška, R., Vlčáková, M.: Vianočné kapre a ftaláty.....	84-86
Golian, J., Toman, R., Hreško, M.: Obsah vybraných mykotoxínov v potravinách.....	87-91
Golian, J., Šiška, B., Čarnogurský, J.: Bezpečnosť a mikrobiologické riziká konzumácie majonézových šalátov.....	92-95
Golian, J., Zajác, P., Vácziová, Z.: Systém samokontroly v mliekarenskej prevádzke.....	96-99
Haščík, P., Čuboň, J., Kačániová, M., Kulíšek, V.: Kontrola kvality hydínových párkov.....	100-103
Haščík, P., Bobko, M., Hanusová, J., Kačániová, M.: Chemické zloženie mäsa nutrie riečnej (<i>Myocastor coypus</i>) z farmového chovu.....	104-108
Hecl, J.: Akumulácia ťažkých kovov v repke olejke v zaťaženej oblasti.....	109-112
Hijová, E., Petrášová, D., Chmelárová, A., Žofčáková, M.: Distribúcia zinku u rómskych detí.....	113-116
Hreško, M.: Mykotoxíny – rozdelenie, výskyt, legislatíva a diagnostika.....	117-121
Húska, M., Dudriková, E., Buleca, J., Reichel, P.: Produkcia ekologicky čistej potraviny z bravčového mäsa pri použití homeopatik.....	122-125
Ihnátová, M., Bíreš, J., Rajzák, P.: Dynamika v kumulácii polychlóvaných bifenylov v rybách v Zemplínskej Širave a vo vybraných riekach východoslovenského regiónu.....	126-131
Jančová, A., Stawarz, R., Formicki, G., Baláž, I., Martiniaková, M., Drábeková, J.: Koncentrácia vápnika, medi, horčíka a zinku v obličkách a pečeni <i>Sorex araneus</i>	132-135

Jomová, K., Morovič, M., Hegedúsová, A., Hegedús, O., Tóth, T.: Účinok selénu na syntézu bielkovín v koreňových vrcholoch hrachu siateho.....	136-139
Kačániová, M., Sudzina, M., Sudzinová, J., Petrová, J., Tonková, M.: Mikrobiologická kvalita plodov netradičných druhov rastlín.....	140-144
Kačániová, M., Angelovičová, M., Petrová, J., Tonková, M.: Mikrobiologické vyšetrenie kýmnych zmesí brojlérových kurčiat.....	145-149
Kačániová, M., Sudzina, M., Pavličová, S., Sudzinová, J., Kňazovická, V., Nováková, I., Haščík, P., Čuboň, J.: Fyzikálno-chemická a mikrobiologická charakteristika medu.....	150-154
Kačániová, M., Čuboň, J., Haščík, P., Pavličová, S., Angelovičová, M.: Mikrobiologická kvalita vajec vo vzťahu k podmienkam chovu nosníc.....	155-159
Kalafová, A., Kirchnerová, K., Chrastinová, E., Chrenek, P., Kováčik, J., Capcarová, M., Schneidgenová, M., Foltýs, V.: Analýza kvality králičieho mlieka po podaní niklu a zinku.....	160-163
Kalafová, A., Zaujec, K., Mojto, J., Chrenek, P., Kováčik, J., Capcarová, M., Zemanová, J.: Analýza kvality králičieho mäsa po podaní niklu a zinku.....	164-167
Kolesárová, A., Sirotkin, A., Capcarová, M., Massányi, P., Lukáč, N., Kováčik, J.: Vplyv IGF-I na ovariálne funkcie hydiny a ošípaných a možné vnútrobunkové sprostredkovatele jeho účinku.....	168-170
Koréneková, B., Skalická, M., Nad', P., Korének, M.: Sledovanie vplyvu selénu na elimináciu kadmia z organizmu Japonských prepelíc.....	171-174
Kováčik, P.: Riziká použitia popol – popolčekovej zmesi pri pestovaní jačmeňa jarného.....	175-179
Kováčik, P.: Vplyv aplikácie čadičových vát na hladinu ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného.....	180-183
Kovácsné L.M., Sembery P., Géczi G.: Microwave Pasteurization.....	184-188
Kožárová, I.: Porovnávací štúdia detekčnej citlivosti mikrobiálnych inhibičných testov na antikocidiká.....	189-193
Kráľová, J., Kuna, R.: Aspekty akumulácie ťažkých kovov (Pb) pozorovaných na kukurici (<i>Zea mays</i> L.).....	194-197
Kročko, M., Čanigová, M., Ducková, V.: Enterokoky izolované z bravčového mäsa a ich rezistencia na antibiotiká.....	198-203
Link, R., Novotný, J., Kováč, G.: Vplyv probiotík na reprodukčné ukazovatele prasníc.....	204-206
Link, R., Kováč, G.: Zloženie mlieka prasníc po odávaní prípravku Bioplus 2B.....	207-209
Lopašovský, E., Pavličová S., Šiška B.: Použitie bioluminiscenčnej metódy pri monitorovaní hygieny prostredia vybraných potravinárskych prevádzok.....	210-213
Lovásová, E., Škardová I.1, Sesztáková E. 1, Rác O.: Vplyv gama žiarenia na celkovú antioxidačnú kapacitu plazmy u kurčiat.....	214-216
Lukáč, N., Massányi, P., Capcarová, M., Kolesárová, A., Zajíc, J., Zemanová, J., Kalafová, A.: Vplyv stopových prvkov na imunitný systém.....	217-222
Martiniaková, M., Omelka, R., Grosskopf, B., Jančová, A.: Zmeny v štruktúre kosti ryšavky žltohrdlej (<i>Apodemus flavicollis</i>) z rozdielnych biotopov.....	223-225
Matulová, M., Sirotová, E., Ondrejovič, M., Kiss, E.: Vplyv oxidačných produktov mastných kyselín na DNA hodnotený DNA/SPE biosenzorom.....	226-230
Mishchuk O., Stolyar O., Golongovska L.: Oxidative stress biomarkers in bivalvia <i>Anodonta cygnea</i> as index of the water quality in the fishing river.....	231-234
Nekvapil, T., Smutná, M., Svobodová, Z.: Estrogeny jako rizikový faktor potravního řetězce.....	235-239
Neuschl, J., Šály, J., Váczi, P., Kremeň, J., Šutiak, V., Čonková, E.: Porovnanie akútnej toxicity salinomycínu sodného v prípravku Synvertas u potkanov a kurčiat.....	240-242
Neuschl, J., Šály, J., Váczi, P., Šutiak, V., Čonková, E.: Porovnanie akútnej toxicity salinomycínu sodného v prípravku Sacox u potkanov a kurčiat.....	243-245
Neuschl, J., Šály, J., Kremeň, J., Korének, M., Šutiak, V.: Porovnanie LD50 Salinomycínu sodného u kurčiat dvojdávkovou interpolačnou metódou a metódou koncepcie Up-And-Down.....	246-247

Neuschl, J., Šály, J., Kremeň, J., Korének, M., Šutiak, V.: Miera akútnej toxicity chloridu chlórtracyklína v prípravkoch feed grade slovenskej a čínskej výroby u kurčiat a potkanov.....	248-250
Riemerová, M., Dombrovský, P.: Rizikové faktory v potravinovom reťazci z pohľadu veterinárneho lekára vyučujúceho patologickú fyziológiu na lekárskej fakulte.....	251-253
Schneidgenová, M., Kováčik, J.: Hodnotenie metabolického profilového testu dojnic.....	254-257
Skalická, M., Koréneková, B., Nad', P.: Efekt eliminácie kadmia vplyvom zinku z organizmu hydiny.....	258-261
Sopková D., Staníková A.: Nutričná hodnota hydínového mäsa po pôsobení stresových faktorov.....	262-265
Sopková D.: Analýza produktov degradácie lipidov v tukovom tkanive ošipáných počas mraziarenského uskladnenia.....	266-269
Stolyar O., Loumbourdis N., Falfushinska H., Romanchuk L.: Comparison of metal bioavailability in frogs from urban and agricultural sites of Western Ukraine.....	270-274
Šalgovičová D.: Vplyv obsahu ťažkých kovov v pôde na kontamináciu obilnín.....	275-278
Šramková, K.: Energetický a nutričný príjem z konzumácie mliečnych produktov	279-282
Šramková, K., Kolesárová, A.: Plnenie odporúčaných výživových dávok v humánnej výžive.....	283-287
Šutiak, V., Neuschl, J., Čellárová, E., Čonková, E., Vaczi, P., Puchá, Z., Skalka, J. jr.: Výučba študentov UVL o niektorých rizikových faktoroch dostupných fytotherapeutík.....	288-292
Šutiak V., Šutiaková I. sr., Droppová L., Puchá Z., Skalka J., Čonková E., Neuschl J., Čellárová E.: Niektoré rizikové vlastnosti a účinky imela bieleho (<i>Viscum album L.</i>) u animálnych pacientov	293-298
Šutiak, V., Šutiaková, I. sr., Nagy, O., Šutiaková, I. jr., Čonková, E., Čellárová, E., Neuschl, J., Vaczi, P.: Omámne a psychotropné látky a ich rizikové vlastnosti a účinky u animálnych pacientov.....	299-303
Šutiaková, I., Šutiak, V., Poráčová, J., Váczi, P., Puchá, Z.: Poznatky zo štúdia niektorých možných rizík používania opioidov u zvierat.....	304-306
Timoracká, M., Bystrická, J.: Odrodová závislosť obsahu polyfenolických látok v hrachu siatom (<i>Pisum sativum L.</i>).....	307-310
Toman, R., Massányi, P., Lukáč, N., Bábiková, L., Capcarová, M.: Toxické účinky vybraných kovov zistené v experimentoch.....	311-317
Tomáš, J., Bystrická, J., Musilová, J., Árvay, J.: Príjem rizikových prvkov rastlinami vo vzťahu k ich vysokým obsahom v pôde.....	318-321
Zemanová, J., Sirotkin, A.V, Chrenek, P., Kalafová, A., Lukáč, N., Rafaj, J. , Capcarová, M., Massányi, P.: Aktivita granulóznych buniek vaječníka kráľika po podaní niklu a zinku.....	322-324
Zmetáková, Z., Šalgovičová, D.: Kontaminácia rýb polychlórovanými bifenyli v Slovenskej republike.....	325-329
Židek, R., Jakabová, D., Trandžik, J., Kozlák, P., Haško, M., Jakab, F., Zurovacová, B., Massányi, P.: Microsatellite diversity of Large White pig in Slovakia.....	330-333

THE INFLUENCE OF FABA BEAN (*VICIA FABEA* L.) IN LAYERS DIET AND THE AGE ON THE INTERIOR EGG QUALITY

Abbas, Kamaran Abduljalil, AL-Sardari, Sardar Yasin Taha

Salahaddin University-Agriculture College-Animal Resource Department

Abstract

In a trial conducted with hens of laying type (White Hi –Line), we tested the influence of age also including faba bean (FB) with different percentages (10%, 20% and 30%), and in two manners (raw R and roasted Ro faba bean seeds) in the diet by measuring the egg weight, Yolk Index (YI), Yolk Percentage (YP) and Yolk Color (YC). The experiment was performed in a seven group laying test with 3 repeating, involving a total number of 630 birds aged 43 weeks. They were divided into a control group with six trial groups enclosed in 3 floor caged batteries. For the feeding we used a feed mixture of wheat, barley, soy bean meal, RFB and RoFB, vegetable fat with an addition of minerals, vitamins and enzyme. The lowest value of egg weight was registered in T3 (30% RFB) and the highest value was observed in the control and T4 (10% RoFB). An increase occurred in egg weight with increasing age periods. YI decreased in parallel with increasing FB levels in the diet, there was a significant high value registered in T1 compared to that of other groups, and this increased significantly at the end of the age. The lowest value of YP was observed in T4 and the higher value in T3 (30% RFB) and control, the effect of age on YP in general fluctuated in our experiment. Including FB in the diet increased YC significantly, and this was paralleled with increasing FB percentages in the diet. In our experiment, age does not have a critical effect on YC.

Key words: layers, age, toasted faba bean, inner egg quality

Introduction

Egg size and weight and recently the inner contents of the egg are the important economic factors, which have an effect on total inputs for poultry projects. Feed is particularly affecting these traits. Researchers have reported a decrease in egg weight with including (RFB) in layers diets. There is a reverse relationship between egg weights and (FB) levels in the diet, Mateos and Puchal and Castanon and Perez-Lanzac, Devedson. Diets containing 10%, 20% and 30 % of RFB resulted in depressing egg weight, however there is sufficient level of methionine in the diet, for 10 % RFB. Campbell et al. pointed out in significant differences between diets containing 40% heat treated faba bean with the control. Egg weight influenced by the age of the bird was registered.

Egg value and marketing depend on the inner physical Characteristics of the egg (Card and Nesheim). Interior contents and compositions of the eggs which are influenced by diet, age, etc, is evaluated by Panda. Food Proteins within the diet particularly amino acids affect the protein composition of the yolk and egg white.

Yolk index is expressing the yolk quality, which it is approximately (0.44-0.55) in fresh eggs, see Austic and Nesheim. Woodward et al found that the substitution of wheat to maize increased the strength of vitellin membrane. An Increase in the birds age improved eggs yolk quality, (Lapao et al). AL-hawezy found a significant increase for yolk index value with the increase of the birds' age.

Many factors influence Egg compositions which include diet, seasons, and strains. Cunningham et al and Marion et al, pointed out essential differences of yolk and egg white percentages with disparity of age and strain. The percentage of the yolk increases greater than egg white at older ages, see Fletcher et al. Egg yolk percentage increased with the increase of the bird's age, see Haq et al. At the start of the laying periods end of the hens age (13-14 months) there was a relative decrease in yolk percentage, see North. Whereas Al-Hawezy found that yolk percentage is not affected by the birds aged between (36-55) weeks. Akber et al pointed out that by increasing protein levels from 15% to 19% in the diet resulted in an increase in yolk weight and a decrease in albumen weight.

Yolk color is influenced by diet, see North. Diets including 25.5% of RFB resulted in slight increase in YC, which the degree is 4.5 for the FB group and 3.2 for control group measured by Fletcher-Ashton metal ring score, see Campbell et al. Karunajeewa et al found that when xanthophylls are oxidized by high degrees of heat treatment to feedstuffs and through long period of storage, the effect on yolk color is reduced. Al-Hawezy pointed out a progressive and significant ($p \leq 0.05$) increase in yolk color as the age of the bird is advanced.

Materials and methods

The experiment was carried out in a commercial poultry project - Erbil, and the laboratory analysis in nutrition laboratory /Agriculture College/ University of Salahaddin. The study comprised an investigation of the effect of using 10,20,30% of RFB and the same ratio of RoFB compared with the control, in commercial hi-line white layers, egg weight, yolk index, yolk percentage and yolk color. Approximate body weight of 630 hens at 43 weeks age of commercial white hi-line® W-98 layers was used, which were housed in an automatic controlled house and reared in 3 floor caged batteries (45×40×45 cm) for each cage. They were distributed randomly on seven groups, each group contained 90 birds distributed in 18 cages (3 replications × 6 cages × 5 birds).

Diets are distributed to birds *ad libitum*, and at the end of the week remaining diets were collected and weighed to determine daily feed consumption for each replication (109.9, 107.8, 109.6, 110.7, 110.5, 110.3 and 110) g/day for experimental groups T1, T2 and T3 were treated by RFB 10, 20 and 30 %, and groups T4, T5 and T6 by 10, 20, 30 % of RoFB, respectively. The experiment period was 140 days divided into 5 periods. Diets consists of wheat, barley, SBM, vegetable fat and additives of amino aside, vitamins and minerals. Heat treatment of FB seeds was carried out by roasting (baking) by a local bakery (126 – 130° C). Chemical analyses were carried out according to A.O.A.C.1975. And consists of moisture (7.08%), dry matter (92.92%), crud protein (23.5%), crud fat (1.0%), crud fiber (7.72%) and ash (3.7%). Birds were fed on Iso-nitrogenic and Iso-caloric diets described in table 1. Statistical analyses carried out by Factorial experiment conducted in C.R.D, $Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$ and means compared by Duncan Multiple Range Test, Duncan in probability level 5%.

Result and discussion

Egg weight decreased significantly in T3 compared with the other treatments, this could be attributed to the increase in Vicine and Covicine ANFs , the two major anti nutritional factors which are responsible for egg weight depression (Olaboro et al). This result agrees with Mateos and Puchal and Castanon and Perez-Lanzac. Whereas disagree with Olaboro et al. T4 and the control, had the highest value of egg weight and the differences between them were in significant, whereas were significant with T3, T5 and T6. This could be attributed to the depression of Vicin and Covicin levels in T1. Conversely in T3, T5 and T6. There was a gradual and significant increase observed in egg weight with the increase of the birds age. This result is attributed to the depression in Gonadotropins and Steroides stimulants hormones,

which are regulating the egg formation by stimulating Ovarian Follicles and yolk formation, resulted in a reduction in egg production, this is attributed to the lower numbers of follicles which can reach rapid growth, consequently the egg obtained a greater amount of yolk, resulting in less output of eggs and greater in weight, see AL-Fayath and Naji.

Yolk index decreased through the increase of both types of FB proportions in the diet. In the trial containing the lowest level of FB (10%) the YI value was higher than the control group, this is attributed to the sufficiency of nutrients (particularly the protein) utility related to T1 and T4, hence improving vitelin membrane. The reverse was observed with other treatments under the effect of anti nutritional factors which affects the utilization of nutrients, hence depressing vitelin membrane thickness and thus lead into an increase in vitelin membrane flexibility which then increase yolk diameter, see Woodward et al. In P3, P4 and P5 yolk index was significantly higher than P1 and P2. But in effect there was no significant differences between T3, T4 and T5, this result is attributed to the diminution of the physiological efficiency of the individual bird which affects the feed conversion thus decreasing the utilization of the nutrients in the diet, which derogue vitelin membrane of the yolk (From). These results are in agreement to that of Lapao et al and Al-Hawezy.

A slight depression observed in yolk percentage of most trials compared to that of the control, but with T4 was significant, this is attributed to the higher egg production in T4 which affects the setting up of the yolk. An advance in the birds age, decreases yolk percentage significantly, this result is in agreement with Lee and Garlich and AL-Hawezy. There was a slight increase in egg white percentage in all trials compared with that of the control. T4 was higher than the control significantly while T1 was lower than the control which is significant. This result is attributed to the positive effects of heat treatment for the FB seeds, which improve the protein quality by denaturation, hence facilitate the digestion and absorption of the protein particularly amino acids. This result attributed to the significant increase in egg weight, see Ahn et al, and there is an insignificant increase in yolk weight, on the other hand increasing egg weight increases egg white and decreases yolk weight, see Rose.

Through increasing FB level in the diet the pigmentation degree of the egg yolk is increased gradually which is significant compared to that of the control. This is attributed to the Xanthophylls in the treatments containing FB, it is metabolically inadequate for pigmentation of the yolk, furthermore the degree of yellow pigmentation dependent on the xanthophylls portion in the feedstuff, see Stadlman and Cottrell. Also there were significant differences observed between (T1, T2 and T3) and (T4, T5 and T6) groups. This is attributed to that the xanthophylls pigments oxidized with heat treatments to FB seeds in our study, see Karunajeewa et al. But the effect of the heat is not completely as noticed in T5 and T6. These results in general agree with Campbell et al. Yolk pigmentation increased gradually with the advanced ages of the birds. This, is attributed to the decreases in egg production at last periods of hen production, which with the reduction of egg production, the xanthophylls concentrate is increase in the yolk, hence the xanthophylls are distributed to less numbers of eggs, see Patrick and Schaible, AL-Fayath and Naji and Stadelman and Cottrell. Furthermore it is attributed to the significant increase in feed consumption, this means the increase in xanthophylls consumption. These results are in agreement with AL-Hawezy.

References

1. AKBER, M.K - J.S. GAVORA - G.W. FRIAS - R.S. GOWE. (1983): Composition of eggs by commercial size categories: Effects of genetic group, age, and diet. *Poult. Sci.* Vol.62, PP. 925-933.
2. AL-FAYATH, H.A. – NAJI, S.A. (1989): Poultry products Technology. Higher education press. Baghdad.

3. AL-HAWEIZY, AMJED, A.A. (2002): Effects of Dehydrated Alfalfa on Production Performance, Yolk color and some Egg Quality traits of Hy-Line® W98.. MSc. Thesis. Animal production department. Agriculture college. Salahaddin university. Erbil..
4. AUSTIC, R.E.- M. C. NESHEIM. (1990): Poultry production 13th ed. Lea and Febiger.
5. CAMPBELL, L.D - OLABORO, R.R. MARGUARDT- WADDELL, D. (1980): Use of faba beans in diets for laying hens. *Can. J. Anim. Sci.* . 60 : 395- 405.
6. CARD, L.E - M. C. NESHEIM. (1971): Poultry production 11th edition. Lea and Febiger, Philadelphia. USA.
7. CASTANON J.I.R - J. PEREZ-LANZAC. (1990): Substitution of Fixed Amounts of Soybean Meal for Field Beans (*Vicia faba*), Sweet Lupines (*Lupinus albus*), Cull Peas (*Pisum sativum*), and Vetches (*Vicia sativa*) in Diets for high Performance Laying Leghorn Hens. *Poult. Sci.* 31:173 – 18.
8. DAVIDSON, J. (1973): The Nutrition Value of Field Beans (*Vicia faba* L.) for laying hens . *Br. Poult. Sci.* 14 : 557-567.
9. DUNCAN, D.B – (1955): The new multiple rang and F test . *Biometrics* 11: 1-42 .
10. FLETCHER, D.L - W.M. BRITTON – PESTI - A. P. RAHN. (1983): The relationship of layer flock age and egg weight on egg component yields and solids content. *Poult. Sci.* 62: 1800-1805.
11. FROMM, D – (1964): Strength distribution, weight and some histological aspects of the vitelline membrane of the hen, s egg yolk. *Poultry Sci.* 47: 1240-1247.
12. GUILLAUME, J.- BELLEC, R. (1977): Use of field beans (*Vicia faba* L.) In diets for laying hens. *Br. Poult. Sci.* 18:573-583.
13. HAQ, A.U - C.A. BAILEY - A. CHINNAH. (1996): Effect of [] carotene, canthaxanthin, lutein, and vitamin E on neonatal immunity of chicks when supplemented in broiler breeder diets . *Poult. Sci.* 75:1092-1097.
14. KARUNAJEEWA, H.- R.J. HUGES, M.W. MC DONALD - F.S. SHENSTON. (1984): A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World s Poult. Sci.* 40:52-65.
15. MARION, W.W - A.W. NORDSKOG - H.S.Tolman - R.H. FORSYTH. (1964): Egg composition as influenced by breeding , egg size , age and season. *Poult. Sci.* 43:255-264.
16. MATEOS G.G.- F. PUCHAL. (1982): The Nutritional Value of Broad Beans for laying hens. *Br. Poult. Sci.* 23: 1 – 6.
17. NORTH, M.O. (1984): Commercial chicken production manual 3th ed. The AVI Publishing Company, INC. west port Connection, USA.
18. OLABORO G. - RONALD R. MARQUARDT - LLOYD D. CAMPBELL. (1981): Isolation of the Egg Weight Depressing factor in Faba beans (*Vicia faba* L. var minor). *J. Sci. food Agric.* 32 : 1074-1080 .
19. PANDA, P.C. (1998): Text book on egg and poultry technology . VIKAS publishing house PTV LTD. India.
20. PATRICK, H.- P. J. SCHAIBLE. (1980): Poultry feeds and nutrition 2th ed., AVI Publishing Company , west pork, CT.
21. ROSE, S.P. (1997): Principles of Poultry Science. CAB International. UK.
22. ROSSI, M.- C. POMPEI. (1995): Changes in some egg components and analytical values due to hen age. *Poult. Sci.* 74: 152-160.
23. SILVERSIDES F.G. (1994): The Haugh unit correction for egg weight is not adequate for comparing eggs from chickens of different lines and ages. *J. Appl. Poult. Res.* 3:120-126.

24. STADELMAN, W. - J.- O.J. COTTERILL. (1995): Egg science and technology, 4th ed., Food Products Press.

Table 1

The effect of nutrition on egg weight, yolk index, yolk percentage and yolk color.

Periods in weeks	Charakteristics			
	Egg weight (g)	Yolk Index	Yolk percentage %	Yolk color*
43-46	60.81±0.23 ^a	0.394±0.003 ^c	27.37±0.18 ^b	2.9±0.06 ^{ab}
47-50	62.00±0.24 ^b	0.443±0.003 ^b	26.68±0.18 ^a	2.80±0.07 ^b
51-54	62.93±0.27 ^c	0.459±0.002 ^a	26.37±0.13 ^a	2.98±0.07 ^a
55-58	64.33±0.28 ^d	0.465±0.002 ^a	26.47±0.11 ^a	3.01±0.08 ^a
59-62	65.83±0.29 ^e	0.466±0.002 ^a	26.72±0.14 ^a	2.82±0.08 ^b

Table 2

The effect of age periods on egg weight, yolk index, yolk percentage and yolk color

Treatments	Characteristics			
	Egg weight	Yolk Index	Yolk percentage %	Yolk color*
T1	63.39±0.54 ^{ab}	0.460±0.004 ^c	26.76±0.15 ^{ab}	2.91±0.06 ^c
T2	63.39±0.55 ^{ac}	0.445±0.005 ^a	26.43±0.16 ^{bc}	3.17±0.04 ^a
T3	61.98±0.47 ^d	0.435±0.005 ^b	27.07±0.17 ^a	3.69±0.06 ^b
T4	63.87±0.54 ^a	0.450±0.004 ^a	26.30±0.16 ^c	2.49±0.06 ^e
T5	62.98±0.47 ^{bc}	0.439±0.005 ^b	26.77±0.25 ^{ab}	2.77±0.06 ^d
T6	62.73±0.53 ^{bc}	0.436±0.005 ^b	26.72±0.17 ^{ac}	3.20±0.06 ^a
Control	63.92±0.64 ^a	0.446±0.004 ^a	27.04±0.22 ^a	2.08±0.06 ^f

*Rosh Color Fan (RCF)

FREQUENCY OF MICRONUCLEI IN RATS CHRONICALLY EXPOSED TO LEAD ACETATE TRIHYDRATE

Alghazal, M. A., Šutiaková, I., Kovalkovičová, N., Legáth, J., Pistl, J., Falis, M., Sabo, R., Beňová, K., Droppová, L., Váczi, P.

University of Veterinary Medicine, Košice, The Slovak Republic

Abstract

The data concerning the mutagenic, clastogenic and carcinogenic properties of inorganic lead compounds have been conflicting. Here, we evaluated the frequency of micronuclei in bone marrow erythrocytes of male rats treated with lead acetate trihydrate. Outbred male Wistar rats were exposed daily to dose of 100 mg/l of drinking water for 125 days. The effects of lead acetate trihydrate are both cytotoxic and genotoxic because of a decrease in ratio of polychromatic to normochromatic erythrocytes and an increase in frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes, respectively.

Introduction

Lead is a ubiquitous environmental contaminant and belongs to the group of most toxic heavy elements in the atmosphere. It is introduced into the environment in two main ways, by natural and anthropogenic processes. Absorption of lead in humans and animals is affected by age, the chemical form of the lead, and minerals in the diet (e.g., iron, calcium, and zinc). Once absorbed, lead is transported to the red cell, then distributed to blood plasma, the nervous system, and soft tissues. It subsequently is redistributed and accumulates in bone and teeth (Aboul-Ela, 2002). Lead can induce toxic effects in several biological systems, e.g. nervous, renal, immune and reproductive (Razani-Boroujerdi et al., 1999). The mutagenic potential of lead is still being investigated.

The aim of this study was to evaluate lead-induced genotoxic damage in chronically exposed Wistar rats using the erythrocyte bone marrow assay.

Material and methods

Animals. 11 clinically healthy male Wistar rats SPF were obtained from accredited breeding station Central Zodiac of the Medical Faculty, University of P. J. Šafarik in Košice, Slovak Republic. There were 6 males weighing 444.2 ± 33.08 g in the experimental group. The control group consisted of 5 males with mean b.wt. 464.0 ± 44.92 g. Animals were housed in plastic cages and acclimatized for 1 week before the experiment. During the study, food and water were offered *ad libitum*. Food and water consumption, general condition and any other clinical symptoms were monitored daily. Body weight changes were assessed weekly. Animal quarters were maintained at $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$); 30–70% relative humidity on a 12 h light/dark cycle.

Chemical. Lead acetate trihydrate ($\text{Pb}[\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2]_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$); CAS number: 6080-56-4; purity 99.5%) was obtained from Lachema, Brno (Czech Republic).

Dose and exposure. Lead acetate trihydrate was applied in drinking water at a dose of 100 mg/l for 125 days.

Animal sacrifice, bone marrow cell isolation, and slide preparation. Before the animals were killed, a 10-ml centrifuge tube was filled with 5 ml of foetal calf serum for each individual (PAN SYSTEMS GmbH, Biotechnologische Produkte). All rats were sacrificed 24 h after the end of exposure by vertebral cervical dislocation and both femora were removed. The proximal and distal ends of the femur were carefully shortened with scissors until a small opening to the marrow canal became visible. With the needle about 3.0 ml serum was pulled from the tube into

plastic syringe. Then the needle was inserted a few mm into the proximal part of the marrow canal and the marrow was gently flushed in the prepared test-tube. The tubes were then centrifuged at 800 rpm for 5 min. A small drop of the viscous sediment was put on the end of a slide and spread by pulling the material behind a cover glass. The preparations were then air dried and fixed in absolute methanol for 6 min. Cells were stained with May-Grünwald (3 min) and Giemsa-Romanowski (15 min).

Scoring and statistical analysis. Criteria for scoring follow those of Mac Gregor et al. (1987) and OECD Guideline 474 (1983). At high magnification 1000 polychromatic erythrocytes (PCEs) per animal from coded slides were screened for the presence of micronuclei (MNPCEs). Separately, the number of micronucleated mature erythrocytes (MNNCEs) was registered in a total of 1000 normochromatic erythrocytes (NCEs) per animal. Toxicity to bone marrow was estimated by the relationship between polychromatic (PCEs) and normochromatic erythrocytes (NCEs) frequency. The ratio of PCEs to NCEs was determined in the first 500 erythrocytes scored per animal. The Student's test was used to compare MNPCEs and MNNCEs values and PCE to NCE ratios between treated and control animals for statistical significance.

Results

No overt signs of toxicity were observed during of the study. Whilst, body weight was markedly affected by treatment (Table 1). There was statistically significant decrease in body weight of exposed rats at the end of treatment in comparison to control group ($p = 0.0471$).

Table 1. Body weight changes after chronic exposure to lead acetate trihydrate (100 mg/l of drinking water) in male Wistar rats

Animal	b.wt. (g) initial	b.wt. (g) final
K13	430	485
K14	530	590
K9	490	505
K10	445	465
K12	425	480
Mean ± SD	464 ± 44.92	505 ± 49.62
P29	425	440
P30	425	455
P33	500	315
P34	465	475
P35	410	430
P37	440	460
Mean ± SD	444.17 ± 33.08^a	429.17 ± 58.09*

a: no significant difference; *statistical significance ($P < 0.05$); Kx: control animals; Px: exposed animals; SD: standard deviation; b.wt.: body weight in grams

Micronucleus frequencies and distributions of micronuclei observed in PCEs and NCEs as well as the ratio of PCEs to NCEs of male rats are shown in Table 2. The chronic exposure to lead acetate trihydrate resulted in a significant increase in the number of micronuclei in PCEs of the male rats compared with the control group ($p = 0.0007$). No significant differences in micronucleated NCEs in exposed rats were observed ($p = 0.439$). The ratio of PCEs to NCEs of exposed rats was significantly decreased in comparison to control ($p = 0.0232$).

Table 2. Micronucleus frequencies and distributions in bone marrow cells of male rats after chronic exposure to lead acetate trihydrate (100 mg/l of drinking water)

Animal	PCEs	MNPCEs	MN distribution in PCEs			NCEs	MNNCEs	MN distribution in NCEs			Ratio PCEs/NCEs	
			1	2	3			1	2	3		
			K13	1000	0			0	0	0		1000
K14	1000	11	9	1	0	1000	18	18	0	0	0.995	
K9	1000	6	6	0	0	1000	8	8	0	0	1.416	
K10	1000	1	1	0	0	1000	7	7	0	0	1.276	
K12	1000	2	2	0	0	1000	6	6	0	0	1.210	
Mean±SD		4.0± 4.528						16.40± 15.630				1.343± 0.306
P29	1000	29	25	2	0	1000	34	34	0	0	1.589	
P30	1000	33	12	9	1	1000	34	30	2	0	0.574	
P33	1000	27	21	3	0	1000	20	18	1	0	0.573	
P34	1000	27	23	2	0	1000	24	20	2	0	0.503	
P35	1000	16	16	0	0	1000	12	12	0	0	0.578	
P37	1000	13	13	0	0	1000	12	8	2	0	0.470	
Mean±SD		24.17± 7.859***						22.67± 9.933^a				0.715± 0.431*

a: no significant difference; *statistical significance ($P < 0.05$); *** statistical significance ($P < 0.001$); Kx: control animals; Px: exposed animals; SD: standard deviation; PCEs: number of polychromatic erythrocytes screened; MNPCEs: number of micronucleated polychromatic erythrocytes; NCEs: number of normochromatic erythrocytes screened; MNNCEs: number of micronucleated normochromatic erythrocytes; ratio PCEs/NCEs: ratio of polychromatic to normochromatic erythrocytes; MN: micronuclei

Discussion

Lead is a heavy metal whose widespread distribution in the environment has the potential to affect a large number of people and animals, thus, its genotoxicological investigation is of importance. Lead is highly reactive and forms numerous compounds that have very different physical-chemical properties. One important property of lead compounds in biological systems is solubility that affects the bioavailability. For this study lead acetate trihydrate was chosen as one of the major soluble lead compounds. Lead acetate trihydrate is used as a mordant in cotton dyes, as a lead coating for metals, as a drier in paints, varnishes, pigment inks, insecticides, and as a colorant in hair dyes. Studies on its clastogenic effects are contradictory. It is not mutagenic in bacteria or yeast. Positive and negative results have been obtained in cultured mammalian cells in vitro. An increase in the frequency of chromosomal aberrations was reported in mouse leucocytes (Muro, Goyer, 1969), human lymphocytes (Obe et al., 1975) and melanoma cells (Poma et al., 2003). On the other hand, lead acetate did not induce any significant change in the chromosomal aberrations in Chinese hamster ovary cells (Bauchinger, Schmid, 1972) and HeLa cells (Hartwig et al., 1990). However, several in vivo studies confirm the clastogenic action of lead acetate in mammalian models. A significant increase in numerical chromosome aberrations in the bone marrow cells of rats, but not the number of structural aberrations after subchronic exposure to it was reported by Nehez et al. (2000). Kašuba et al. (2004), Celik et al. (2005) and Šutiaková et al. (2006) observed increased frequency of micronuclei in erythrocytes of peripheral blood and bone marrow of rats after subchronic p.o. exposure to lead acetate trihydrate. A significant increase in DNA damage was also observed in rat kidney cells (Robbiano et al., 1999). In mice receiving lead acetate a dose-dependant increase in chromosomal aberrations, relative number or size of myeloid/monocytic cells in bone marrow cells and micronucleus frequency was reported by Rusov et al. (1995) and (Aboul-Ela, 2002).

The influence of lead acetate on sister chromatid exchanges or on micronuclei formation was studied on male rabbits after subchronic s.c. exposure (Willems et al., 1982).

It is still a matter of speculations whether the differences in the results of genotoxic studies are due to different concentrations of lead acetate, different sensitivity of cells, or different maturity of cell systems. In our study the effects of lead acetate trihydrate in rat males were both cytotoxic and genotoxic because of a decrease in ratio of polychromatic to normochromatic erythrocytes and an increase in frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes, respectively.

Acknowledgments

This work was supported by the Ministry of Higher Education of Lybia and the National Reference Laboratory for Pesticides, UVM, Košice.

References

1. Aboul-Ela, E. I. (2002) The protective effect of calcium against genotoxicity of lead acetate administration on bone marrow and spermatocyte cells of mice in vivo. *Mutat. Res.*, 516, 1–9.
2. Bauchinger, M., Schmid, E. (1972) Chromosomen analysen in Zellkulturen des chinesischen Hamsters nach Applikation von Bleiacetat. *Mutat. Res.*, 14, 95–100.
3. Celik, A., Ögenler, O., Cömelekoglu, Ü. (2005) The evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in peripheral blood of rats treated with lead acetate. *Mutagenesis*, 20, 6, 411–415.
4. Hartwig, A., Schleppegrell, R., Beyersmann, D. (1990) Indirect mechanism of lead-induced genotoxicity in cultured mammalian cells. *Mutat. Res.*, 241, 75–82.
5. Kašuba, V., Rozgaj, R., Fučíc, A., Varnai, V. M., Piasek, M. (2004) Lead acetate genotoxicity in suckling rats. *Biologia Bratislava*, 59, 6, 779–785.
6. Mac Gregor, J. T., Heddle, J. A., Hite, M., Margolin, B. H., Ramel, C., Salamone, M. F., Tice, R. R., Wild, D. (1987) Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutat. Res.*, 189, 103–112.
7. Muro, L. A., Goyer, R. A. (1969) Chromosome damage in experimental lead poisoning. *Arch. Pathol.*, 87, 660–663.
8. Nehéz, M., Lorencz, R., Desi, I. (2000) Simultaneous action of cypermethrin and two environmental pollutant metals, cadmium and lead, on bone marrow cell chromosomes of rats in chronic administration. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 45, 55–60.
9. Obe, G., Beek, B., Dudin, G. (1975) Some experiments on the action of lead acetate on human leucocytes in vitro. *Mutat. Res.*, 29, 283.
10. OECD Guideline for testing of chemicals 474 (1983) Genetic Toxicology: Micronucleus test.
11. Poma, A., Pittaluga, E., Tucci, A. (2003) Lead acetate genotoxicity on human melanoma cells in vitro. *Melanoma Res.*, 13, 563–566.
12. Razani-Boroujerdi, S., Edwards, B., Sopori, M. L. (1999) Lead stimulates lymphocyte proliferation through enhanced T cell–B cell interaction. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 288, 714–719.
13. Robbiano, L., Carrozzino, R., Porta Puglia, C., Corbu, C., Brambilla, G. (1999) Correlation between induction of DNA fragmentation and micronuclei formation in kidney cells from rats and humans, and tissue-specific carcinogenic activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 161, 153–159.
14. Rusov, C., Živković, R., Popović, S., Jojićmaličević, L. (1995) Study of lead acetate genotoxicity using the micronucleus test in mice. *Acta Veterinaria*, 45, 317–322.

15. Šutiaková, I., Kovalkovičová, N., Legáth, J., Alghazal, M. A., Falis, M., Váczi, P., Sabo, R., Beňová, K., Droppová, L. (2006) Micronucleus frequency in rat bone marrow after sub-chronic application of low doses of lead. In Proceedings “Industrial Toxicology 2006“, Piešťany, 23rd–25th May 2006, 332–336.
16. Willems, M. I, de Schepper, G. G., Wibowo, A. A., Immel, H. R., Dietrich, A. J., Zielhuis, R. L. (1982) Absence of an effect of lead acetate on sperm morphology, sister chromatid exchanges or on micronuclei formation in rabbits. *Arch Toxicol.*, 50, 2, 149–157.

ANORGANICKÉ KONTAMINANTY V SVALOVINE RÝB A DNOVÝCH SEDIMENTOCH VODNEJ NÁDRŽE

INORGANIC CONTAMINANTS IN FISH MUSCLE AND BOTTOM SEDIMENTS OF WATER RESERVOIR

Andreji, J., Stráňai, I., Tóth T.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

This study deals with heavy metals contamination rate in fish muscle and bottom sediments from water reservoir of Malé Zálužie. The samples of fishes (*Cyprinus carpio*) and bottom sediments were collected in October 2004, analyzed by AAS and evaluated in mg.kg^{-1} of dry weight. Concentrations of heavy metals in the fish muscle and sediments were as follows respectively: Zn 16.19–33.52, 46.3–122.0; Cu 1.50–4.90, 14.0–30.1; Ni 0.39–0.79, 23.0–48.2; Cr 0.31–1.65, 13.4–97.2; Pb 0.67–3.71, 12.7–37.4 and Cd 0.15–2.00 mg.kg^{-1} dry weight. Statistically significant differences in relationship between heavy metals concentration in muscle and sediments were not confirmed. On average, the order of metal concentrations was: in fish muscle Zn>Cu>Pb>Cd>Ni>Cr; in bottom sediments Zn>Cr>Ni>Pb>Cu>Cd.

Úvod

Ťažké kovy patria medzi znečisťujúce látky, ktoré sa sledujú v rôznych zložkách životného prostredia, vodu nevynímajúc. Zúčastňujú sa kolobehu látok, čím sa dostávajú do potravného reťazca a môžu tak predstavovať potenciálne zdravotné riziko pre konzumenta. Ťažké kovy sa do vodného prostredia dostávajú hlavne odpadovými vodami a splachmi z okolitých pozemkov. Väčšina kovov je však vo vodnom prostredí nestabilná a preto sa pomocou fyzikálno-chemických reakcií viažu na dno, odkiaľ sú prostredníctvom biochemických reakcií transportované do jednotlivých úrovní potravnjej pyramídy. Do akej miery sa deje tento prenos prostredníctvom biochemických reakcií sme sa snažili zistiť aj v našej práci.

Materiál a metodika

Za účelom posúdenia stavu kontaminácie rýb a dnových sedimentov vo vodnej nádrži Malé Zálužie sme z nej v októbri 2004 odobrali ryby a dnové sedimenty. Z rýb (kapor rybníčný – *Cyprinus carpio*) sa sekciou odobrala vzorka svaloviny z oblasti chrbta o hmotnosti 2–3 g. Dnové sedimenty sa odoberali z hĺbky 0,0–0,1 m v množstve 0,9–1,0 kg z rôznych miest dna rybníka. Celkový obsah jednotlivých ťažkých kovov v svalovine rýb a dnových sedimentov sme stanovili plameňovou metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie za predchádzajúceho totálneho rozkladu vzoriek. Dnové sedimenty sa rozkladali mokrou cestou za použitia zmesi kyselín HF – HNO₃ – HClO₄, ryby sa rozkladali suchou cestou za použitia HNO₃ (1:3). Prezentované hodnoty koncentrácií jednotlivých ťažkých kovov sú uvádzané v miligramoch na kilogram sušiny. Biokoncentračný faktor medzi zistenými koncentraciami kovov v svalovine rýb a dnových sedimentoch sme vypočítali podľa metodiky Veith et al. (1979) a Wiener – Giesy (1979). Získané výsledky sme štatisticky spracovali lineárnou metódou regresnej analýzy a porovnali t-testom rozšíreným o Kolmogorov-Smirnov test v programe Statgraphic Plus verzia 5.1.

Výsledky a diskusia

Základná charakteristika analyzovaných rýb je uvedená v tabuľke 1. Zistené koncentrácie jednotlivých ťažkých kovov (v mg.kg^{-1} sušiny) v svalovine rýb (n=20) a dnových sedimentoch

(n=10) sú uvedené v tabuľke 2. Interakcie medzi koncentráciou ťažkých kovov v svalovine a dnových sedimentov sú uvedené v tabuľke 3. Keďže sa nepotvrdili štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými vekovými skupinami rýb, v práci uvádzame výsledky za celú skupinu.

Tabuľka 1 Charakteristika analyzovaných rýb – kapor rybníčný (*Cyprinus carpio*)

vek	n (ks)	dĺžka tela (mm)		hmotnosť (g)	
		priemer ± SD	rozpätie	priemer ± SD	rozpätie
2	10	325 ± 25,65	287 - 350	920,4 ± 183,38 1356,8 ±	645 - 1148
3	10	377,5 ± 14,61	362 - 414	114,94	1162 - 1478

Zn – v svalovine sa zinok kumuloval v koncentráciách 16,19–33,52 mg.kg⁻¹ sušiny, s priemerom 23,75 mg.kg⁻¹. V sedimentoch boli zistené štatisticky vyššie koncentrácie, ktoré sa pohybovali v rozpätí 46,3–122,0 mg.kg⁻¹ s priemerom 75,2 mg.kg⁻¹ (tabuľka 2). V prípade interakcií medzi celkovým obsahom zinku v svalovine a sedimentoch sa zistila pozitívna korelácia, ale bez štatisticky významných rozdielov. Biokoncentračný faktor dosiahol u zinku najvyššiu hodnotu (0,32), čo potvrdzuje pomerne vysokú mieru využitia zinku vo vzťahu sediment – svalovina (tabuľka 3).

Cu – sa v svalovine akumulovala približne v 10-násobne nižších koncentráciách ako zinok. Zistené hodnoty sa pohybovali v rozpätí 1,50–4,90 mg.kg⁻¹ s priemerom 2,62 mg.kg⁻¹ (tabuľka 2). Zhruba 10-násobne vyššie hodnoty sa zistili v sedimentoch (14,0 – 30,1 mg.kg⁻¹, v priemere 22,2 mg.kg⁻¹). Vzájomná interakcia medzi koncentráciou v svalovine a sedimentoch mala pozitívnu koreláciu a biokoncentračný faktor dosiahol hodnotu 0,12 (tabuľka 3).

Ni – sa podobne ako kobalt kumuloval v nízkych koncentráciách v svalovine (tabuľka 2), ktoré dosahovali rádovo desiatiny miligramu (0,39–0,79 mg.kg⁻¹) a v oveľa vyšších koncentráciách v sedimentoch (23,0–48,2 mg.kg⁻¹). Závislosť medzi obsahom niklu v svalovine a sedimentoch mala miernu negatívnu koreláciu. Biokoncentračný faktor v prípade niklu dosiahol najnižšiu hodnotu a to len 0,01 (tabuľka 3).

Cr – je z pohľadu akumulácie veľmi zaujímavý prvok plný paradoxov, ktorý sa v svalovine nachádza v najnižších koncentráciách rádovo v desiatinách miligramov (v priemere 0,50 mg.kg⁻¹), zatiaľ čo v sedimentoch je na popredných miestach spomedzi všetkých sledovaných kovov, s koncentraciami v desiatkach miligramov (v priemere 43,9 mg.kg⁻¹). Závislosť medzi akumuláciou v svalovine a sedimentoch vykazuje výraznú negatívnu koreláciu, avšak bez štatistickej významnosti. Biokoncentračný faktor je jedným z najnižších a dosiahol hodnotu 0,01 (tabuľka 3).

Pb – sme v svalovine zistili v pomerne vysokých koncentráciách. Zistené hodnoty sa pohybovali v rozpätí 0,67–3,71 mg.kg⁻¹, s priemerom 1,52 mg.kg⁻¹. Zo všetkých analyzovaných vzoriek až 17 (88 %) prekročilo normu uvedenú v Potravinovom kódexe. V prípade sedimentov sme prekročenie normy nezaznamenali. Namerané hodnoty sa pohybovali v rozmedzí 12,7 – 37,4 mg.kg⁻¹ s priemerom 30,9 mg.kg⁻¹ (tabuľka 2). Závislosť medzi akumuláciou v svalovine a sedimentoch vykazuje podobne ako pri chróme výraznú negatívnu koreláciu, ale tiež bez štatistickej významnosti. Biokoncentračný faktor je nízky a dosiahol hodnotu 0,05 (tabuľka 3).

Cd – bolo podobne ako olovo zaznamenané v svalovine vo zvýšených koncentráciách než prípúšťa norma. Zo všetkých analyzovaných vzoriek až 65 % prekročilo túto normu. Zistené koncentrácie sa pohybovali od 0,15–2,00 mg.kg⁻¹ (priemerne 0,60 mg.kg⁻¹) a prekročenie normy dosiahlo 1,3–40,0 násobok (v prieme 3,3-násobne). V prípade sedimentov norma prekročená nebola a zistené koncentrácie kadmia sa pohybovali od 1,54 do 2,53 mg.kg⁻¹, s priemerom 2,2 mg.kg⁻¹. Závislosť medzi obsahom kadmia v svalovine a sedimentoch má

pozitívny charakter, ale bez štatistickej významnosti. Biokoncentračný faktor je druhý najvyšší a má hodnotu 0,28 (tabuľka 3).

Tabuľka 2 Zistené koncentrácie jednotlivých ťažkých kovov v mg.kg⁻¹ sušiny

	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
						ryby
priemer			0,56		1,52	0,60
±SD	23,75 ±4,84	2,62 ±0,99	±0,11	0,50 ±0,30	±0,81	±0,55
			0,39–0,7		0,67–3,7	0,15–2,0
min–max	16,19–33,52	1,50–4,90	9	0,31–1,65	1	0
						sedimenty
priemer			38,2	43,9	30,9	2,2
±SD	75,2 ±20,53	22,2 ±5,10	±8,44	±22,54	±8,23	±0,34
			23,0–48,		12,7–37,	1,54–2,5
min–max	46,3–122,0	14,0–30,1	2	13,4–97,2	4	3

Tabuľka 3 Korelačné koeficienty (r) a biokoncentračné faktory (BCF) závislostí koncentrácií jednotlivých kovov medzi svalovinou a dnovými sedimentmi

	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
r	0,151	0,306	-0,072	-0,435	-0,343	0,150
BCF	0,32	0,12	0,01	0,01	0,05	0,28

Záver

Sledované ťažké kovy sa v svalovine a sedimentoch kumulovali v rôznych koncentráciách, pričom rozdiely v niektorých prípadoch dosahovali až 100-násobok. Z jednotlivých kovov sa zinok kumuloval v najväčšej miere v svalovine i sedimentoch. Ostatné kovy mali spravidla opačnú tendenciu, t.j. pokiaľ sa kumulovali vo svalovine vo vyššej miere, v sedimentoch sa kumulovali v nižšej a naopak. Je to spôsobené rozdielnou schopnosťou jednotlivých ťažkých kovov viazať sa na anorganický, resp. organický materiál, ako aj vzájomnými interakciami. Miera, resp. poradie akumulácie jednotlivých ťažkých kovov bolo nasledovné:

sval: Zn>Cu>Pb>Cd>Ni>Cr

sedimenty: Zn>Cr>Ni>Pb>Cu>Cd

Z hľadiska medzných hodnôt koncentrácií ťažkých kovov v dnových sedimentov podľa súčasne platnej legislatívy norma nebola porušená. Iná situácia však bola zaznamenaná pri obsahu ťažkých kovov v svalovine rýb. V prípade olova a kadmia sa zistilo prekročenie najvyššieho prípustného množstva. U olova sa toto prekročenie zistilo u 17 vzoriek (88 %) a prekročenie nad normu dosiahlo 1,1–3,7 násobok. U kadmia sa prekročenie zistilo u 13 vzoriek (65 %) s násobkom prekročenia 1,3–40,0, čo sú pomerne dosť vysoké hodnoty, ktoré by v prípade konzumácie týchto rýb mohli mať negatívny vplyv na zdravotný stav konzumenta.

Podakovanie

Tento príspevok vznikol vďaka finančnej podpore projektu GA VEGA 1/2417/05 MŠ SR.

Literatúra u autorov

ZAŤAŽENIE ŠTRKOVISKA DVORY NAD ŽITAVOU Č. 3 (OKR. NOVÉ ZÁMKY) ŤAŽKÝMI KOVMI NA MODELI ZUBÁČA VEĽKOÚSTEHO (*SANDER LUCIOPERCA* L.)

Andreji, J., Stráňai, I.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstract

This study presents a rate of heavy metals accumulation in the muscle of pike perch (*Sander lucioperca*) from the Dvory nad Žitavou № 3 gravel pit. The samples were collected in September 2004, analyzed by AAS and evaluated in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of fresh matter. Concentrations of heavy metals in the muscle were as follows: Fe 3.55–38.66, Mn 0.20–0.49, Zn 3.02–4.55, Cu 0.28–0.59, Ni 0.02–0.19, Co 0.00–0.10, Cr 0.06–0.15, Pb 0.18–0.50, Cd 0.10–0.28 and Hg 0.13–0.44. Statistically significant differences in relationship between heavy metals concentration and standard length (Sl), weight (w) and age were not confirmed. On average, the order of metal concentrations in the fish muscle was: Fe > Zn > Cu > Mn > Pb > Hg > Cd > Cr > Ni > Co.

Úvod

Ťažké kovy patria z chemického hľadiska medzi prvky s dlhým polčasom rozpadu a s vysokou schopnosťou kumulovať sa v zložkách životného prostredia. Ide o rozsiahlu skupinu kontaminantov, ktoré sa vyznačujú rozdielnymi vlastnosťami, účinkami i zdrojom pôvodu. Tieto kovy sú vo vodnom prostredí samé o sebe dosť nestabilné a preto sa viažu na neživú alebo živú zložku vodného ekosystému. Prostredníctvom týchto fyzikálno-chemických reakcií sa tieto kovy v rámci potravnjej pyramídy dostávajú z nižších úrovní do vyšších a ich posledným depozitárom vo vodnom prostredí sú ryby, resp. dravé ryby.

Materiál a metodika

Ryby boli odlovené v septembri 2004 zo štrkoviska Dvory nad Žitavou č. 3, ktoré je v správe MO SRZ Nové Zámky. U týchto rýb sa urobilo základné biometrické vyšetrenie a determinácia veku. Následne sa z každého kusa odobrala vzorka svaloviny v množstve 3–5 g na stanovenie obsahu cudzorodých látok (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cr, Pb, Cd a Hg). Samotné stanovenie obsahu jednotlivých ťažkých kovov bolo vykonané metódou AAS (atómová absorpčná spektrofotometria) a hodnoty sú vyjadrené v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ čerstvej hmoty. Zistené výsledky sa štatisticky vyhodnotili metódou regresnej analýzy a viacvzorkovým testom v programe Statgraphics Plus v. 5.1.

Výsledky a diskusia

Celkovo bolo analyzovaných 10 ks rýb zubáča veľkoústeho (*Sander lucioperca*). Jeho biologické charakteristiky sú uvedené v tabuľke 1. Hodnoty koncentrácií jednotlivých kovových prvkov vo svalovine analyzovaných druhov rýb sú uvedené v tabuľke 2 a 3. Závislosti medzi koncentráciou jednotlivých ťažkých kovov a dĺžkou tela, resp. hmotnosťou a vekom sú vyjadrené korelačnými koeficientmi v tabuľke 4.

Tabuľka 1. Počet, vek, dĺžka a hmotnosť analyzovaných druhov rýb

Druh	N	vek (roky)	dĺžka tela (mm)		hmotnosť (g)	
			priemer \pm SD	Min–Max	priemer \pm SD	Min–Max
Zubáč veľkoústý	10	3–6	470 \pm 59,30	384–560	1205 \pm 461,16	665–2030

Tabuľka 2. Zistené koncentrácie Fe, Mn, Zn, Cu a Ni v mg.kg⁻¹ čerstvej hmoty

	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
priemer ± SD	16,07 ± 13,21	0,31 ± 0,10	3,60 ± 0,48	0,41 ± 0,11	0,09 ± 0,05
min – max	3,55 – 38,66	0,20 – 0,49	3,02 – 4,55	0,28 – 0,59	0,02 – 0,19

Tabuľka 3. Zistené koncentrácie Co, Cr, Pb, Cd a Hg v mg.kg⁻¹ čerstvej hmoty

	Co	Cr	Pb	Cd	Hg
priemer ± SD	0,05 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,30 ± 0,09	0,16 ± 0,06	0,21 ± 0,10
min – max	0,00 – 0,10	0,06 – 0,15	0,18 – 0,50	0,10 – 0,28	0,13 – 0,44

Tabuľka 4. Korelačné koeficienty jednotlivých kovov vo vzťahu k dĺžke tela (Sl), hmotnosti (w) a veku (age)

	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni	Co	Cr	Pb	Cd	Hg
Sl	0,124	0,007	-0,268	0,148	-0,187	0,393	0,168	0,153	0,088	0,295
w	0,200	0,031	-0,350	0,200	-0,262	0,374	0,300	0,256	0,112	0,192
age	0,220	0,115	-0,351	0,346	-0,120	-0,138	0,000	-0,045	0,215	0,105

Sl – dĺžka tela, w – hmotnosť tela, age – vek v rokoch

Zubáč veľkousty je dravec, ktorý v potravinovej pyramíde v rámci vodného prostredia stojí na jej konci, čím sa nechtiac stáva posledným deponitárom kumulácie ťažkých kovov.

Z hľadiska absolútneho množstva sa v svalovine zubáča veľkousteho v najväčšej miere kumulovalo železo, najmenej kobalt. Celkové poradie akumulácie sledovaných ťažkých kovov bolo nasledovné:

Fe > Zn > Cu > Mn > Pb > Hg > Cd > Cr > Ni > Co.

Zo všetkých nami sledovaných ťažkých kovov a najvyššie prípustné množstvo (NPM) podľa Potravinového kódexu SR sleduje len u medi, niklu, chrómu, olova, kadmia a ortuti. Zistili sme, že v prípade olova došlo k prekročeniu tohto najvyššieho prípustného množstva (0,2 mg.kg⁻¹) u 90 % vzoriek a v prípade kadmia (NPM 0,05 mg.kg⁻¹) až u 100 % analyzovaných vzoriek.

Pri zisťovaní novej závislosti medzi kumuláciou sledovaných kovov a dĺžkou tela, resp. jej hmotnosťou a vekom sa v prípade železa, mangánu, medi, chrómu, kadmia a ortuti zistila pozitívna korelačná závislosť akumulácie. Negatívna korelačná závislosť akumulácie sa zistila u zinku a niklu. V prípade kobaltu a olova sa pozitívna korelácia akumulácie zistila len vo vzťahu k dĺžke tela a hmotnosti; v prípade veku sa zistila negatívna korelačná závislosť. Všetky tieto zistené korelačné závislosti boli však bez štatistickej významných rozdielov (P>0,05).

Záver

Štrkovisko Dvory nad Žitavou č. 3 vzniklo ako materiálová jama po ťažbe štrku s následným zatopením spodnou vodou. V súčasnosti je to lovný kaprový revír, ktorý obhospodaruje MsO SRZ Nové Zámky a počas letných mesiacov slúži ako rekreačné miesto pre miestnych obyvateľov. Naše výsledky poukazujú na vysoké hodnoty ťažkých kovov, predovšetkým olova a kadmia, čím sa tieto ryby podľa Potravinového kódexu vylučujú z priamej konzumácie. Je však otázka, odkiaľ sa v materiálovej jame zobralo olovo a kadmium v tak vysokých koncentráciách.

Podakovanie

Tento príspevok vznikol vďaka finančnej podpore GA VEGA 1/2417/05 MŠ SR.

Literatúra u autorov

VZŤAH MEDZI KŔMNYMI DOPLNKAMI VO VÝŽIVE PRODUKČNÝCH NOSNÍČ A OBSAHOM CHOLESTEROLU V ICH VAJCIACH

THE RELATIONSHIP BETWEEN ADDITIONS IN NUTRITION OF PRODUCTIVE LAYERS AND CHOLESTEROL CONTENTS IN THEIR EGGS

Angelovičová, M., Kačániová, M., Mellen, M.¹, Angelovič, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, ¹Agrokonzult s. r. o., Branovo

Abstract

In this study was research of total cholesterol in egg yolk at laying hens in dependent from using of different feed addition in the feeding mixture. We made three experiments with laying hens. Single experiments were different. In the first experiment the laying hens fed a feeding mixture with probiotic premix on the basis *Streptococcus faecium M-74*. The feeding mixture contained in the second experiment a fat addition. This addition consisted of a mix of animal fat 2.25% and plant oil 0.75%. This feeding mixture was reached with probiotic premix *Streptococcus faecium M-74*. The feeding mixture consisted in the third experiment 3% animal fat. We compared the results of cholesterol contents of trial group with cholesterol contents of control group. In control group was using commercial feeding mixture without fat and probiotic premix. The cholesterol content determined according Bio-La tests modify on the egg yolk. The most high cholesterol content was in egg yolk at laying hens which fed feeding mixture with 3% animal fat. The most less cholesterol content was in group with feeding mixture reached with probiotic premix *Streptococcus faecium M-74*.

Key words: table egg, cholesterol, feeding mixture, fat addition, probiotic prepartate

This work was supported by Scientific Grant Agency under the contract No. VEGA 1/1330/04.

Vo vzťahu k ľudskému zdraviu hrá dôležitú úlohu v produkcii konzumných vajec ich zdravotná neškodnosť, bezpečnosť. Závery vedeckých a odborných prác, ktoré sú zamerané na výskum konzumných vajec a zdravotnú neškodnosť nie sú jednotné. O ich plnohodnotnosti a ich bezpečnosti ako potraviny sa vedú kontroverzné diskusie. Kontroverzným problémom je cholesterol, presnejšie obsah lipoproteínovej frakcie nízkej hustoty – LDL.

Pozoruhodné sú výskumy amerických odborníkov, zvlášť Browna a Goldsteina (1985), ktorí získali Nobelovu cenu v roku 1985. Zistili, že na tvorbe aterosklerózy sa podieľajú lipoproteíny nízkej hustoty (low density lipoproteins – LDL), ktoré obsahujú okolo 50 % esterov a voľného cholesterolu.

V súčasnom období sú mnohé literárne poznatky, ktoré charakterizujú vzťah nielen celkového cholesterolu ku kardiovaskulárnym ochoreniam, ale aj vzťah jednotlivých frakcií cholesterolu k týmto ochoreniam (Schneiderka et al., 2000; Zadák, 2002; Grundy, 2003; Cheitlin et al., 2005; Šimon et al., 2001; Widimský, 2002).

Stále viac sa oceňuje hodnota fosfolipidov vaječného žltka. Asi 30 % tukov žltka je predstavovaný fosfolipidmi, hlavne fosfatidylcholínom (70 % fosfolipidov žltka) a fosfatidyletanolamínom (23 % fosfolipidov žltka), ktoré sa významne podieľajú na ich vysokej výživovej hodnote, predovšetkým svojím vysokým zastúpením PUFA mastných kyselín (Simeonovová, 1997).

Bol zistený aj preventívny účinok fosfatidylcholínu zabraňujúci vznik aterosklerózy. Fosfatidylcholín (lecitín) podstatne znižuje hladinu cholesterolu v organizme, je jeho antagonist. Súčasne pomáha stabilizovať pomer medzi frakciami HDL a LDL cholesterolu. Významná je aj jeho úloha ako rozpúšťadla žlčových kyselín. Je nevyhnutný k tvorbe žlči. Žlč

je dôležitá pre metabolizmus tukov, a ak je jej málo resorpcia tukov a v tukoch rozpustných vitamínov je znížená (Horan, 1996).

Z najrôznejších dôvodov prevláda názor v povedomí ľudí, že cholesterol upcháva cievy a spôsobuje aterosklerózu a infarkty. Z toho dôvodu niektorí ľudia úplne vylučujú jedlá s vysokým obsahom cholesterolu. Cholesterol je potrebný pre fyziologické funkcie človeka. Zúčastňuje sa pri tvorbe pohlavných a steroidných hormónov, tvorby žlče, premeny vitamínu D, tvorby bunkových membrán a izolácie nervov. Je tak dôležitý pre organizmus, že každá bunka je schopná ho syntetizovať, zvlášť bunky pečene, nadobličiek, kože, tráviacej sústavy, semenníkov a aorty. Pečeň produkuje asi 1 g cholesterolu denne, zatiaľ čo asi 0,30 g ho prijíma človek potravou. Ak je prijímaný obsah cholesterolu nižší, môže pečeň zvýšiť produkciu endogénneho cholesterolu až osemnásobne (Sharon, 1989). Cholesterol je nevyhnutný pre správny rast organizmu i pre obnovu tkanív organizmu dospelého (Komprda, 2001). Vzhľadom na vysokú nutričnú hodnotu vajca by sa nemala konzumácia vajec zavrhnúť (Míková, 1997).

Cieľom príspevku je predloženie výsledkov o obsahu cholesterolu v žĺtku vajec produkčných nosníc, ktoré skrmovali kŕmnu zmes s rozdielnym druhom kŕmneho doplnku.

Materiál a metodika

Na chemickú analýzu, pre stanovenie obsahu cholesterolu vo vajcovom žĺtku sme použili konzumné vajcia finálneho znáškového hybridu *Shaver Starcross 288*, ktoré skrmovali kŕmnu zmes určenú pre produkčné nosnice HYD – 10 – KZ.

Uskutočnili sme 3 pokusy. Každý pokus sa skladal z kontrolnej a pokusnej skupiny. V kontrolnej skupine sa používala komerčne vyrábaná kŕmna zmes netukovaná a bez probiotického premixu. V prvom pokuse sme odobrali vajcia od sliepok vo veku 61 týždňov. Tieto nosnice skrmovali kŕmnu zmes obohatenú probiotickým premixom na báze *Streptococcus faecium M-74*. V druhom pokuse bola použitá kŕmna zmes tukovaná s doplnkom živočíšneho tuku 3 % a obohatená probiotickým premixom na báze *Streptococcus faecium M-74*. Nosnice boli vo veku 61 týždňov. V treťom pokuse sme odobrali vajcia od nosníc, ktoré skrmovali tukovanú kŕmnu zmes s doplnkom 3 % zmesi živočíšneho tuku (2,25 %) s olejom (0,75 %).

Obsah celkového cholesterolu vo vajciach sme sledovali na základe metódy Bio – La testu (Lachema Brno) modifikovanou na analýzu vajcového žĺtka (Ingr a Simeonová, 1983).

Výsledky obsahu cholesterolu získané na základe chemického rozboru sme vyhodnotili podľa základnej štatistiky a rozdiely v obsahu cholesterolu medzi skupinami v jednotlivých pokusoch sme štatisticky vyhodnotili pomocou t – testu.

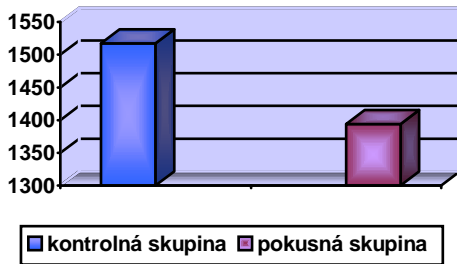
Tabuľka 1 Schéma pokusov

Pokus (vek nosníc)	Skupina	Tukový doplnok	Probiotický preparát	Obsah N-látok (g.kg ⁻¹)	Obsah metabolizovateľnej energie(MJ.kg ⁻¹)
1. (61 týždňov)	kontrolná	-	-	156,60	11,45
	pokusná	-	<i>Streptococcus faecium M-74</i>	156,60	11,45
2. (61 týždňov)	kontrolná	-	-	158,20	11,51
	pokusná	3 %*	<i>Streptococcus faecium M-74</i>	141,30	11,51
3. (62 týždňov)	kontrolná	-	-	158,96	11,41
	pokusná	3 % (2,25 a 0,75%)**	-	140,73	11,50

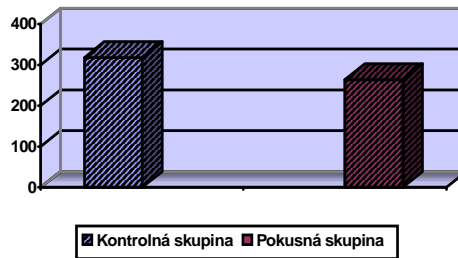
* živočíšny tuk, **zmes živočíšneho tuku (2,25 %) s rastlinným olejom (0,75%)
Streptococcus faecium M-74 v koncentrácii 15.10⁵ zárodkov v 1 g kŕmnej zmesi

Výsledky

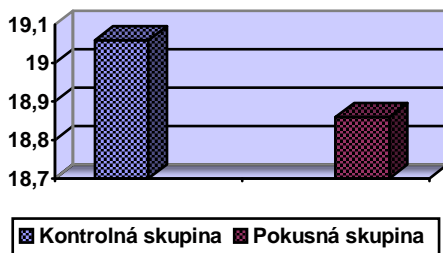
Obsah cholesterolu vo vajcovom žltku nosníc kŕmených netukovanou kŕmnu zmesou s probiotickým premixom *Streptococcus faecium* M-74



Obr. 1 Obsah cholesterolu v 100 g žltka (mg)



Obr. 2 Obsah cholesterolu v žltku jedného vajca (mg)

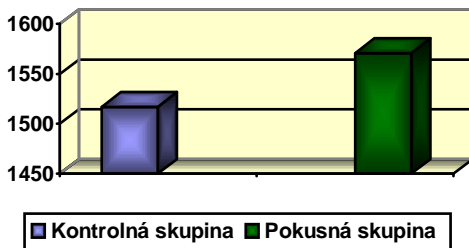


Obr. 3 Hmotnosť žltka (g)

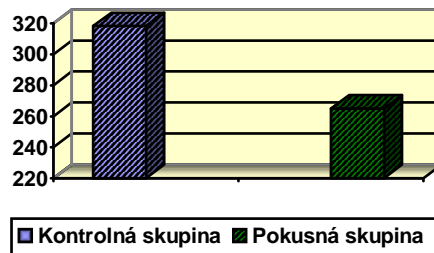
Obsah cholesterolu v žltku vajec od sliepok kŕmených netukovanou kŕmnu zmesou s probiotickým premixom bol štatisticky preukazne ($P < 0,05$) nižší $1394,0 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{ g}$ v porovnaní s obsahom cholesterolu $1517,0 \text{ mg} \cdot 100^{-1} \text{ g}$ žltka vajec sliepok, ktoré prijímali komerčne vyrábanú kŕmnu zmes bez tukového a probiotického doplnku. Tieto výsledky boli potvrdené výpočtom obsahu cholesterolu v žltku jedného vajca. Obsah

cholesterolu v žltku $264,0 \text{ mg} \cdot \text{ks}^{-1}$ vajca bol štatisticky preukazne ($P < 0,05$) nižší v porovnaní s obsahom cholesterolu v žltku $318,0 \text{ mg} \cdot \text{ks}^{-1}$ vajca v kontrolnej skupine. Rozdiel medzi hmotnosťou žltka $19,06 \text{ g}$ v pokusnej skupine a $18,86 \text{ g}$ v kontrolnej skupine nebol štatisticky preukazný ($P > 0,05$).

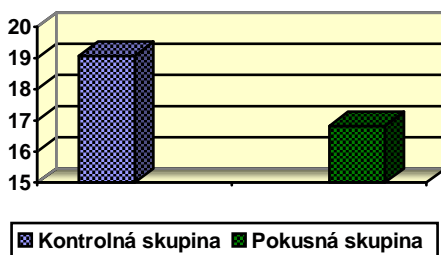
Obsah cholesterolu vo vajcovom žltku nosníc kŕmených tukovanou kŕmnu zmesou obohatenou s probiotickým premixom *Streptococcus faecium* M-74



Obr. 4 Obsah cholesterolu v 100 g žltka (mg)



Obr. 5 Obsah cholesterolu v žltku jedného vajca (mg)

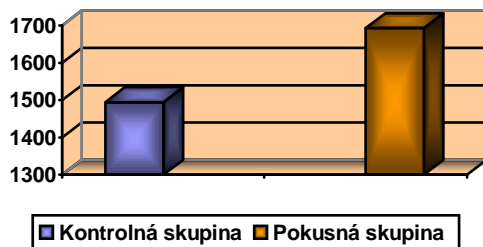


Obr. 6 Hmotnosť vajcového žltka (g)

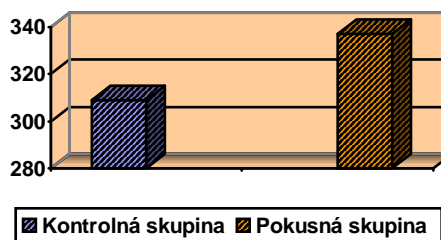
Rozdiel medzi obsahom cholesterolu $1517,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ žltka v skupine, v ktorej nosnice prijímali tukovanú kŕmnu zmes s probiotickým premixom a $1571,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ žltka v skupine so sliepkami kŕmenými komerčnou kŕmnu zmesou bez tukového a probiotického premixu nebol štatisticky preukazný ($P > 0,05$). Štatisticky preukazný

rozdiel medzi obsahom cholesterolu v žltku jedného vajca 265 mg.ks^{-1} nosníc kŕmených tukovanou kŕmnu zmesou s probiotickým premixom a obsahom cholesterolu v žltku jedného vajca $318,0 \text{ mg.ks}^{-1}$ bol štatisticky preukazný ($P < 0,05$). Rovnako štatisticky preukazný ($P < 0,05$) bol aj rozdiel v hmotnosti žltka medzi pokusnou a kontrolnou skupinou (19,06 a 16,83 g).

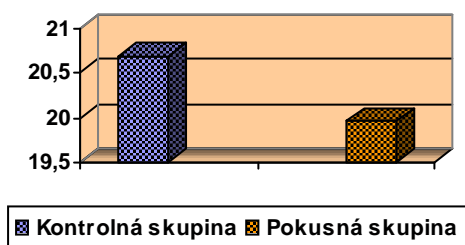
Obsah cholesterolu vo vajcovom žltku nosníc kŕmených tukovanou kŕmnu zmesou bez probiotického premixu.



Obr. 7 Obsah cholesterolu v 100 g žltka (mg)



Obr. 8 Obsah cholesterolu v žltku jedného vajca (mg)



Obr. 9 Hmotnosť vajcového žltka (g)

Vo vajcovom žltku sliepok kŕmených tukovanou kŕmnu zmesou bez probiotického premixu bol štatisticky preukazne vyšší ($P < 0,05$) obsah cholesterolu $1692,0 \text{ mg.100 g}^{-1}$ oproti obsahu cholesterolu $1495,0 \text{ mg.100 g}^{-1}$ sliepok kŕmených komerčnou kŕmnu zmesou bez tukového a probiotického doplnku.

Tento výsledok bol štatisticky potvrdený ($P < 0,05$) aj výpočtom obsahu cholesterolu v žltku jedného vajca. Rozdiel v hmotnosti žltka medzi skupinami nebol štatisticky preukazný ($P > 0,05$).

Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov v troch pokusoch s finálnym nosivým typom sliepok *Shaver Starcross 288* môžeme konštatovať, že obsah cholesterolu v žltku konzumných vajec nebol rovnaký. Jeho obsah súvisí s výživou nosníc. Ak sa netukovaná kŕmna zmes obohatí probiotickým premixom na báze *Streptococcus faecium M-74* zníži sa štatisticky preukazne jeho obsah vo vajcovom žltku. Ak nosnice skrmujú kŕmnu zmes tukovanú, ich vajcia obsahujú štatisticky preukazne vyšší obsah cholesterolu. Ak sa kŕmna zmes tukovaná obohatí probiotickým premixom, po jej skrmovaní nosnicami sa nezníži obsah cholesterolu v žltku vajec.

Literatúra

1. BROWN, M.S. – GOLDSTEIN, J.L. 1989. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci. American*, 1985, s. 52-60.
2. GRUNDY, S. M. 2003. Factors Determining Blood Cholesterol Levels. In *Encyclopedia of food Sciences and Nutrition*. 2. volume pool. Oxford: Elsevier Science ETD., 2003. s. 1237- 1243. ISBN 0-12-227055-X.
3. HORAN, P. 1996. *Znáš svůj cholesterol?* Čestlice : Nakladatelství Pavla Momčilová, 1996. 144 s. ISBN 80-85936-06-2.
4. CHEITLIN, M. D. – SOKOLOV, M. – MCLLROY, M. B. 2005. *Klinická kardiologie*. Jihlava : Ekon, 2005. 847 s. ISBN 80-7319-005-2.

5. INGR, I. – SIMEONOVÁ, J. 1983. Rychlé stanovení cholesterolu ve vaječném žltku Bio-La tesem. In *Veter. Med.* (Praha), roč. 28, 1983, s. 97-104.
6. KOMPRDA, T. 2001. Vliv složek živočišných lipidů na zdraví člověka. In *Výživa a potraviny*, roč. 56, 2001, č. 1, s. 20-21.
7. MÍKOVÁ, K. 2001. Vajce a vaječné výrobky ve výživě dětí a adolescentů. In *Česko-slovenská pediatrie*, roč. 56, 2001, č. 4, s. 242-244.
8. SCHNEIDERKA, P. – JIRSA, M. – KAZDA, A. et al. 2000. *Kapitoly z klinickej biochémie*. Praha : Univerzita Karlova v Prahe – Karolinum, 2000. 284 s. ISBN 80-246-0140-0.
9. IMON, J. – BRUTHANS, J. – CHALOUPKA, V. et al. 2001. *Epidemiologie a prevence ischemické choroby srdeční*. Praha : Grada Publishing, 2001. 264 s. ISBN 80-247-0085-9.
10. SHARON, M. 1989. *Complex nutrition*. London : Prion, 1989, s. 31-32.
11. SIMEONOVÁ, J. 1997. Pozitiva a negativa potřeby vajec. In *Výživa a potraviny*, roč. 52, 1997, č. 4, s. 121-122.
12. WIDIMSKÝ, 2002. *Léčba dyslipidemií u pacientu s ICHS nebo iným onemocněním aterosklerotické etiologie a u nemocných s diabetes mellitus*. Praha : TRITON, 2002. 190 s. ISBN 80-7254-252-4.
13. ADÁK, Z. 2002. *Výživa v intenzivní péči*. Praha : Grada Publishing, 2002. 496 s.
14. ISBN 80-247-0320-3.

VPLYV EXPERIMENTÁLNEHO PODANIA NIKLU NA ŽIVÚ HMOTNOSŤ SLIEPOK

EFFECT OF EXPERIMENTAL ADMINISTRATION OF NICKEL ON LAYING HENS BODY WEIGHT

Arpášová, H., Massányi, P., Capcarová, M., Kalafová, A., Lukáč, N.

Slovenská poľnohospodárska univerzita

Abstract

The experiment was implemented on the efficient Isabrown laying hens producing brown shell eggs. We used 20 selected 53 weeks old hens. Three level cages were used for the stabling of experimental hens. Laying hens were divided into four groups, 5 fowls in each. Laying hens in each group had approximately the same body weight. The hens were fed by the standard feed mixture HYD – 10. Laying hens accepted fodder *ad libitum*. In control group K hens took drinking water without additions, in experimental groups was supplement in the drinking water nickel in different concentrations. In experimental group P1 was concentration of nickel 2g.l^{-1} , in experimental group P2 0.2g.l^{-1} and in experimental group P3 0.02g.l^{-1} . In all groups laying hens accepted drinking water *ad libitum*. We followed changes of body weight. Hens were weighed in regular weekly intervals.

The experiment lasted 30 days. The greatest differences during experiment were achieved between control group K and experimental group P1 with the highest concentration

2 g.l^{-1} nickel. The body weight was in order groups: 1830.41; 1477.56; 1774.2 and 1762.04 g. In during experiment was in experimental groups following decrease of body weight: P1 685.3 g (36.76%), P2 106.4 g (5.69%) and P3 group 135 g (7.19%) .

Statistically significant differences in average were achieved among the combinations of all groups, high significant difference ($P \leq 0.01$) between control and experimental P1 group and significant difference ($P \leq 0.05$) among the combinations of all next groups.

Úvod

Stopové prvky sa nachádzajú v agroekosystéme v nízkych koncentráciách. Niektoré stopové prvky sú dôležité pre rast rastlín, zvieratá aj ľudí a nazývajú sa mikronutrientmi. Sú však ťažké kovy vo vyšších koncentráciách toxické. Stopové prvky ako kadmium, olovo, chróm, nikel, ortuť, arzén majú na živý organizmus toxický efekt a sú často považované za kontaminanty. Budúci výskum by sa preto mal zamerať na pokusy v súvislosti s vyváženosťou kovov v agroekosystéme, rozpracovaním chemických a biochemických parametrov, stanovením transportu ťažkých kovov z agroekosystému do životného prostredia (He et al. 2005). Nikel je považovaný za slabý karcinogén. Je známe, že môže určitým spôsobom ovplyvniť DNA (Matkar et al. 2006). Výsledky práce Martinez, Diaz (1996) ukázali, že doplnok vysokých dávok Ni a Mn signifikantne zvyšujú obsah hemoglobínu v krvi a tiež pH. Toxicita niklu vyvoláva veľký záujem kvôli rozšírenému výskytu Ni v prostredí. Možným vysvetlením ako Ni spôsobuje poškodenie a smrť buniek, je peroxidácia lipidov a tvorba reaktívnych foriem kyslíka. V experimentoch sa už po 1 hodine od aplikácie Ni ľudským lymfocytom zistila zvýšená tvorba hydroxylových radikálov, čo hrá úlohu pri oxidatívnom poškodení ľudských lymfocytov akútnym účinkom niklu.

Materiál a metodika

Do experimentu bolo zaradených 20 nosníc znáškového hybridu Isabrown vo veku 53 týždňov. Pokusné nosnice boli ustajnené v konvenčnej trojetážovej kletkovej batérii, kŕmené

boli *ad libitum*, kompletnou kŕmnu zmesou pre chov nosníc na produkciu konzumných vajec HYD – 10. Sliepky boli rozdelené do 4 skupín, do všetkých skupín boli vybrané sliepky s približne rovnakou živou hmotnosťou. V kontrolnej skupine zvieratá prijímali pitnú vodu bez akýchkoľvek prídavkov, v pokusných skupinách bol do pitnej vody pridaný nikel v rôznych koncentráciách. V pokusnej skupine P1 v koncentrácii 2g.l^{-1} , v pokusnej skupine P2 v koncentrácii $0,2\text{ g.l}^{-1}$ a v pokusnej skupine P3 v koncentrácii $0,02\text{ g.l}^{-1}$. Vo všetkých skupinách prijímali sliepky pitnú vodu *ad libitum*. Počas trvania pokusu sme pozornosť v jednotlivých skupinách zamerali na sledovanie dynamiky zmien živej hmotnosti nosníc, sliepky boli v pravidelných intervaloch, jedenkrát týždenne vážené. Pokus trval 30 dní.

Výsledky a diskusia

Zmeny živej hmotnosti v priebehu pokusu sú uvedené v tabuľke 1 a obr. 1. V kontrolnej skupine sme zaznamenali mierny pokles živej hmotnosti v priebehu sledovaného obdobia z 1861,4 na 1830,44 g čo predstavuje pokles len o 23,6 g (1,27 %). Podstatne výraznejšie zmeny živej hmotnosti sme zaznamenali u sliepok v prvej pokusnej skupine P1 s najvyššou koncentráciou niklu 2 g.l^{-1} . V tejto skupine hmotnosť sliepok postupne výrazne klesala, prejavil sa vplyv vysokej koncentrácie niklu, pokles hmotnosti je zrejмый aj z obrázku, predstavoval až 685,3 g (36,76 %) k pôvodnej hmotnosti sliepok. Medzi skupinami P2 a P3 s koncentráciou $0,2$ a $0,02\text{ g.l}^{-1}$ neboli rozdiely také výrazné, v pokusnej skupine P2 bol rozdiel posledného a prvého váženia 106,4 g (5,69 %) v priemere, v skupine P3 bol zaznamenaný rozdiel 135 g, (7,19 %), čo predstavuje medzi skupinami P2 a P3 rozdiel o 1,5 %. Autori Wilson et al. (2001) podávali brojlerovým kurčatám kŕmnu zmes obohatenú o 25 mg niklu na kg krmiva. Na základe ich pozorovaní nemala táto dávka niklu v krmive negatívny efekt na živú hmotnosť výkrmových kurčiat. Pri porovnávaní rozdielov zo štatistického hľadiska, pri prvom vážení boli rozdiely medzi kontrolnou skupinou a pokusnými skupinami ako aj medzi pokusnými skupinami navzájom štatisticky nevýznamné ($P>0,05$). Pri ďalších váženiach boli rozdiely medzi kontrolnou skupinou a pokusnou skupinou P1 veľmi vysoko významné ($P\leq 0,001$) a pri poslednom vážení vysoko významné ($P\leq 0,01$).

Pri druhom vážení bol veľmi vysoko významný rozdiel ($P\leq 0,001$) medzi skupinou K a pokusnou skupinou P1, významný rozdiel ($P\leq 0,05$) bol medzi pokusnými skupinami P1 a P2 a tiež medzi pokusnými skupinami P1 a P3. Pri treťom vážení bol zaznamenaný len veľmi vysoko významný rozdiel ($P\leq 0,001$) medzi kontrolnou skupinou K a pokusnou skupinou P1. Pri štvrtom a piatom vážení boli zhodné rozdiely, veľmi vysoko významný ($P\leq 0,001$) medzi kontrolnou skupinou K a prvou pokusnou skupinou P1 a vysoko významný rozdiel ($P\leq 0,01$) medzi pokusnými skupinami P1 a P2 a tiež medzi pokusnými skupinami P1 a P3.

Pri hodnotení v priemere za celé obdobie pokusu bol zistený štatisticky vysoko významný rozdiel ($P\leq 0,01$) medzi kontrolnou skupinou K a pokusnou skupinou P1 a okrem kombinácie pokusných skupín P2 a P3, kde bol rozdiel štatisticky nevýznamný ($P>0,05$) boli medzi všetkými ostatnými kombináciami skupín zaznamenané štatisticky významné rozdiely ($P\leq 0,05$).

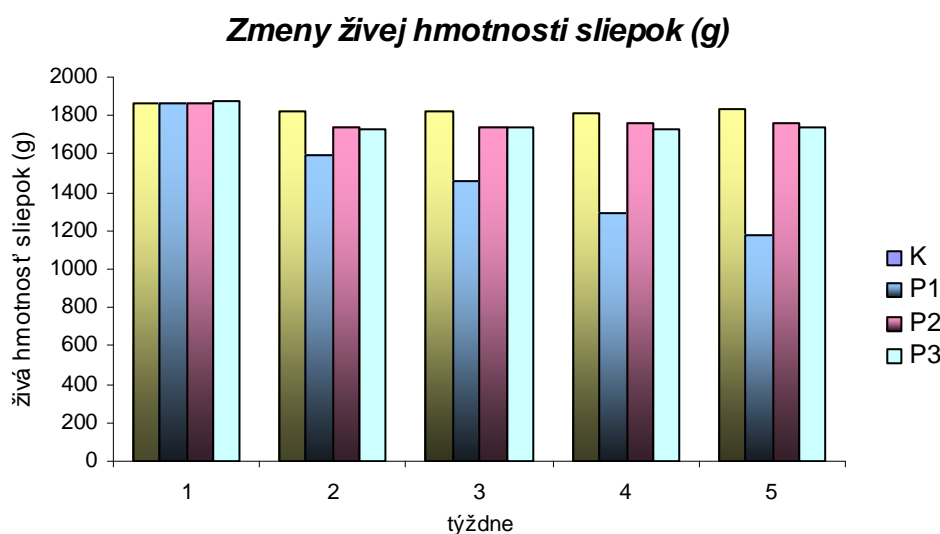
Tabuľka 1

Vplyv prídavku niklu na zmeny živej hmotnosti nosníc

Skupina		Dátum					Priemer	Prírastok (g) / (%)
		17.11.	24.11	30.11	7.12.	14.12.		
K	n	5	5	5	5	5	25	-23,60 g - 1,27 %
	x	1861,4	1826,8	1818,2	1808	1837,8	1830,44	
	s	70,26	70,44	73,64	80,03	76,35	70,30	
	v	3,77	3,86	4,05	4,43	4,15	3,84	
	min	1804	1752	1762	1765	1792	1752	
	max	1980	1933	1941	1950	1672	1980	
P1	n	5	5	5	5	5	25	-685,3 g - 36,76 %
	x	1864,2	1594,0	1455,8	1295	1178,9	1477,56	
	s	86,4	75,02	125,54	218,87	257,41	288,86	
	v	4,63	4,71	8,62	16,9	21,83	19,55	
	min	1770	1520	1329	994	802	802	
	max	1969	1701	1642	1586	1495	1969	
P2	n	5	5	5	5	5	25	-106,4 g - 5,69 %
	x	1867,0	1741	1743,8	1758,4	1760,6	1774,2	
	s	66,62	87,71	98	79,85	77,61	89,46	
	v	3,57	5,04	5,62	4,54	4,41	5,04	
	min	1790	1650	1638	1690	1683	1638	
	max	1972	1880	1900	1894	1889	1972	
P3	n	5	5	5	5	5	25	-135,0 g - 7,19 %
	x	1877,2	1729,8	1735,6	1725,4	1742,2	1762,04	
	s	56	94,69	98,89	89,78	95,16	99,93	
	v	2,98	5,47	5,7	5,20	5,46	5,67	
	min	1790	1604	1642	1650	1662	1604	
	max	1935	1838	1863	1851	1874	1935	
Testovanie	K : P1	-	+++	+++	+++	+++	++	
	K : P2	-	-	-	-	-	+	

K : P3	-	-	-	-	-	+
P1 : P2	-	+	-	++	++	+
P1 : P3	-	+	-	++	++	+
P2 : P3	-	-	-	-	-	-

Obr. 1



Záver

V priebehu pokusu sme sledovali vplyv prídavku niklu v rôznych koncentráciách (2 g.l^{-1} ; $0,2 \text{ g.l}^{-1}$ a $0,02 \text{ g.l}^{-1}$) na zmeny živej hmotnosti sliepok hnedovaječného znáškového hybridu Isabrown. Najvýraznejšie rozdiely v priebehu pokusu aj pri priemernom vyhodnotení boli zaznamenané medzi kontrolnou skupinou K a pokusnou skupinou P1 s najvyššou koncentráciou niklu (2 g.l^{-1}). Pri vyhodnotení v priemere za obdobie trvania pokusu boli štatisticky významné rozdiely zaznamenané medzi všetkými kombináciami skupín, vysoko významný rozdiel ($P \leq 0,01$) medzi kontrolnou skupinou a pokusnou skupinou P1, významné rozdiely ($P \leq 0,05$) medzi všetkými ostatnými kombináciami skupín.

Literatúra

- HE, Z. L. – YANG, X. E. – STOFFELLA, P. J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment In *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. Vol 19, 2005, num. 2 – 3, p. 125 – 140
- MATKAR, J. J. – WRISCHNIK, L. A. – JONES, P. R. – HELTMAN-BLUMBERG, V. Two closely related nickel complexes have different effects on DNA damage and cell viability. In *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 343, 2006, num. 3, p. 754 - 761
- MARTINEZ, D. A. – DIAZ, G. J. 1996. In Effect of graded levels of dietary nickel and manganese on blood haemoglobin content and pulmonary hypertension in broiler chickens. In *Avian Patology*, vol. 25, 1996, num. 3, p. 537 – 549
- WILSON, J. H. – WILSON, E. J. RUZSLWER, P. L 2001. In Dietary nickel improves bale broiler (*Gallus domesticus*) bone strength. In *Biological Trace Element Research*, vol. 83, num. 3, p. 239 - 249

VPLYV EXPERIMENTÁLNEHO PODANIA NIKLU NA KVALITU CELÉHO VAJCA

EFFECT OF EXPERIMENTAL ADMINISTRATION OF NICKEL ON LAYING HENS WHOLE EGGS QUALITY

Arpášová, H., Massányi, P., Capcarová, M., Kalafová, A., Lukáč, N.

Slovenská poľnohospodárska univerzita

Abstract

The experiment was implemented on the efficient Isabrown laying hens producing brown shell eggs. We used 20 selected 53 weeks old hens. Three level cages were used for the stabling of experimental hens. Laying hens were divided into four groups, 5 fowls in each. Laying hens in each group had approximately the same body weight. The hens were fed by the standard feed mixture HYD – 10. Laying hens accepted fodder *ad libitum*. In control group K hens took drinking water without additions, in experimental groups was supplement in the drinking water nickel in different concentrations. In experimental group P1 in concentration 2g.l^{-1} , in experimental group P2 in concentration 0.2g.l^{-1} and in experimental group P3 in concentration 0.02g.l^{-1} . In all groups laying hens accepted drinking water *ad libitum*.

The experiment lasted 30 days. The greatest *differences during experiment were achieved between control group K and experimental group P1 with the highest concentration*

2g.l^{-1} nickel. The egg weight was in order groups: 64.90; 50.97; 59.11 and 62.26 g.

By evaluation of specific egg weight were found no significant differences between control and experimental groups ($P>0.05$). By evaluation of Index eggs form were found significant differences between control and experimental groups. Index of eggs form was in order groups: 1.365; 1.373; 1.292; 1.312.

Úvod

Nikel je toxický prvok, zlúčeniny dvojmocného niklu sú karcinogénne ako pre ľudí tak aj pre zvieratá. (Prokeš et al. 2005). Wilson et al. (2001) skúmali vo svojich pokusoch efekt niklu v dávkach 0, 25, 50, 75, 100, a 150mg.kg^{-1} na pevnosť kostí a úžitkové parametre kohútov broilerového typu, ustajnených na hlbokoj podstielke a v klietkach. Štandardná krmná zmes v tomto experimente bola obohatená o 25 mg niklu na kg krmiva. Nikel nemal významný efekt na živú hmotnosť brojlerových kurčiat v klietkach ani na podstielke, neovplyvnil ani pevnosť holennej kosti u kurčiat, podobne merateľná hustota kostí nebola niklom ovplyvnená. Nikel je dôležitým prvkom avšak vo vyšších dávkach je toxický pre zvieratá aj ľudí. Potrava s nízkym obsahom niklu, menej ako $0,1\text{mg.kg}^{-1}$ sušiny, vedie k symptómom deficiencie. Na nikel sa môže vytvoriť alergia, vonkajšie vystavovanie sa zliatinám niklu spôsobilo zápal kože – dermatitídy u 8 až 14% na nikel citlivých žien a viac ako 1% mužov. Experiment so štyrmi druhmi zvierat ukázal, že vystavovanie sa niklu vedie k poruchám v metabolizme horčička a predovšetkým zinku (Anke et al. 1995).

Fakayode et al. (2003) analyzovali obsah ťažkých kovov vo vajciach sliepok. Autori našli silné pozitívne korelácie medzi hladinami kovov v krmive a vo vajciach, priemerné koncentrácie niklu vo vajciach boli $0,03\text{mg.kg}^{-1}$. Koncentrácie niektorých kovov vo vajciach v tomto experimente neboli rozdielne v porovnaní s koncentraciami vo vajciach analyzovaných v iných krajinách. Meluzzi et al. (1996) sledovali transfér ťažkých kovov (Cr, Ni, Pb) do vajca, podávali ich sliepkam orálne, krmivom obohateným tromi rozdielnymi dávkami, nižšou, zhodnou a vyššou ako je prípustná hranica pre každý kov. Pre nikel boli dávky 100, 300 a 500 ppm ako NiSO_4 . Koncentrácie niklu boli v širokom rozpätí, od 71 do 964 pre bielok, 196 – 2,259 pre žĺtok a 115 – 345 ppb pre škrupinu. Hladina niklu vo vajciach sa zvyšovala keď sa

pokus predĺžil z 30 na 75 dní. Podiel olova transferovaného do jedlých častí vajca bol vyšší v porovnaní s niklom. Znáška a kvalita vajec boli ťažkými kovmi signifikantne negatívne ovplyvnené.

Materiál a metodika

Do experimentu bolo zaradených 20 nosníc znáškového hybridu Isabrown vo veku 53 týždňov. Pokusné nosnice boli ustajnené v konvenčnej trojetážovej klietkovej batérii, kŕmené boli *ad libitum*, kompletnou kŕmnu zmesou pre chov nosníc na produkciu konzumných vajec HYD – 10. Sliepky boli rozdelené do 4 skupín, do všetkých skupín boli vybrané sliepky s približne rovnakou živou hmotnosťou. V kontrolnej skupine zvieratá prijímali pitnú vodu bez akýchkoľvek prídavkov, v pokusných skupinách bol do pitnej vody pridaný nikel v rôznych koncentráciách. V pokusnej skupine P1 v koncentrácii 2 g.l⁻¹, v pokusnej skupine P2 v koncentrácii 0,2 g.l⁻¹ a v pokusnej skupine P3 v koncentrácii 0,02 g.l⁻¹. Vo všetkých skupinách prijímali sliepky pitnú vodu *ad libitum*. Sledované ukazovatele : hmotnosť vajec, merná hmotnosť vajec, tvar vajec. V závere pokusu sme uskutočnili kompletnú analýzu vajec, analyzovali sme po 15 vajec z každej skupiny. V skupine P1 s najvyššou koncentráciou niklu bol počet vajec nižší, nakoľko vplyvom vysokej dávky sa u väčšiny sliepok v skupine znáška zastavila, prípadne znášali neštandardné vajcia. Rozdiely medzi jednotlivými ukazovateľmi v rámci pozorovaných skupín sme testovali jednofaktorovou analýzou variancie jednostupňového triedenia. Výsledky jednofaktorovej analýzy variancie sme doplnili Duncanovým testom. Pokus trval 30 dní.

Výsledky a diskusia

Zmeny hmotnosti vajec sú uvedené v tabuľka 1 a obr. 1. Hmotnosť vajec v jednotlivých skupinách sa v priebehu pokusu najvýraznejšie menila v prvej pokusnej skupine P1, v ktorej bol zaznamenaný najvýraznejší pokles hmotností s pomerne rýchlym zastavením znášky sliepok v tejto skupine. Pri vyhodnotení analyzovaných vajec v tomto ukazovateli je zrejмый pokles hmotnosti vajec od sliepok v jednotlivých skupinách podľa koncentrácie niklu vo vode. V kontrolnej skupine K bola hmotnosť 64,90g, v prvej pokusnej skupine P1 s koncentráciou niklu 2 g.l⁻¹ bol výrazný pokles v porovnaní s kontrolnou skupinou aj s ďalšími pokusnými skupinami, hmotnosť analyzovaných vajec dosiahla len 50,97 g, v pokusnej skupine P2 bola zaznamenaná hmotnosť 59,11 g a v pokusnej skupine P3 bola hmotnosť vajec 62,26 g. Tieto výsledky sa zhodujú s výsledkami autorského kolektívu Meluzzi et al. (1996), ktorí podobne zaznamenali štatisticky významne negatívne ovplyvnenie znášky, hmotnosti vajec aj ich kvality ťažkými kovmi.

Pri štatistickom vyhodnotení boli zaevidované veľmi vysoko významné rozdiely ($P \leq 0,001$) medzi skupinami K : P1; K : P2; P1 : P2; P1 : P3 a vysoko významné rozdiely ($P \leq 0,01$) medzi skupinami K : P3 a P2 : P3.

V mernej hmotnosti boli zaznamenané minimálne, štatisticky nevýznamné rozdiely medzi skupinami, s miernym poklesom hodnôt v pokusných skupinách v porovnaní s kontrolnou skupinou K, dosiahnuté hodnoty boli v poradí skupín : 1,0843, 1,0729, 1,0739, 1,0759 g.cm⁻³.

Čo sa týka zmien tvaru vajec, boli dosiahnuté hodnoty v poradí skupín 1,365; 1,373; 1,292; 1,312. Pri štatistickom vyhodnotení bol nevýznamný rozdiel ($P > 0,05$) medzi kontrolnou skupinou K a skupinou P1, veľmi vysoko významné rozdiely ($P \leq 0,001$) medzi skupinami K : P2; P1 : P2; P1 : P3, vysoko významný rozdiel ($P \leq 0,01$) medzi skupinami K: P3, významný rozdiel ($P \leq 0,05$) medzi skupinami P1 : P2.

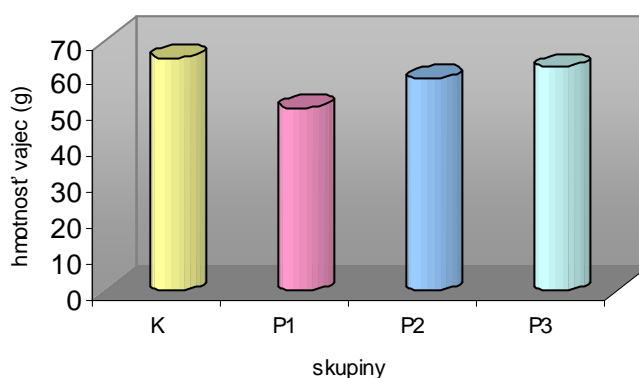
Tabuľka 1

Hmotnosť vajca v jednotlivých skupinách

UKAZOVATEĽ		SKUPINA			
		K	P1	P2	P3
HMOTNOSŤ VAJCA	n	15	10	15	15
	x	64,90	50,97	59,11	62,26
	s	3,94	3,03	2,446	4,85
	v	6,07	5,95	4,14	7,79
	min	56,8	47,5	54,0	55,5
	max	73,1	56,5	64,1	70,8
Duncanov test	K : P1	-13,93 +++			
	K : P2	5,79 +++			
	K : P3	-2,64 ++			
	P1 : P2	-8,14 +++			
	P1 : P3	11,29+++			
	P2 : P3	3,15++			

Zmeny hmotnosti vajec (g)

Obr. 1



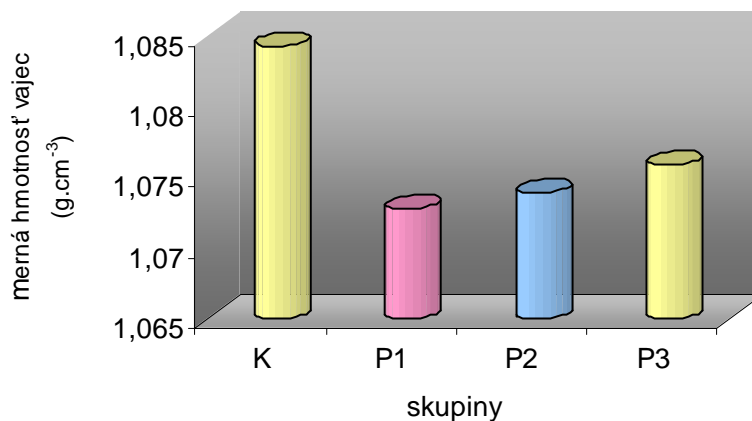
Tabuľka 2

Špecifická hmotnosť vajca v jednotlivých skupinách

UKAZOVATEĽ		SKUPINA			
		K	P1	P2	P3
MERNÁ HMOTNOSŤ VAJCA	n	15	10	15	15
	x	1,0843	1,0729	1,0739	1,0759
	s	0,005	0,011	0,0145	0,019
	v	0,0046	1,018	1,35	1,765
	min	0,018	1,064	1,0292	1,009
	max	1,073	0,105	1,090	1,093
	Duncanov test	K : P1	0,0043 –		
K : P2		0,0104 –			
K : P3		0,0084 –			
P1 : P2		0,0061 –			
P1 : P3		0,0041 –			
P2 : P3		-0,0020 -			

Zmeny mernej hmotnosti vajec ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)

Obr. 2



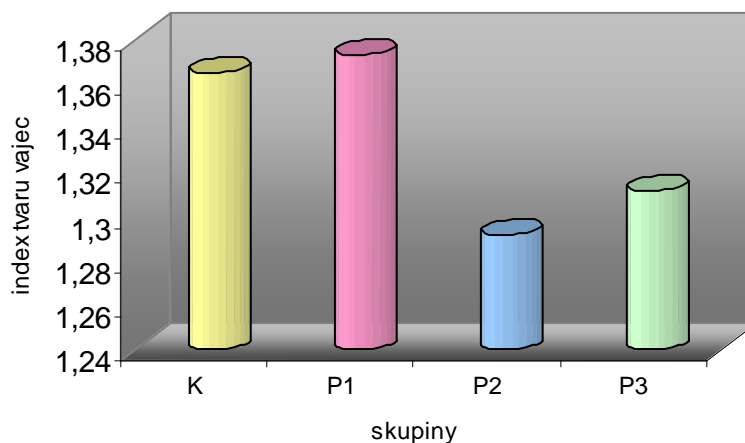
Tabuľka 3

Index tvaru vajca v jednotlivých skupinách

UKAZOVATEĽ		SKUPINA			
		K	P1	P2	P3
INDEX TVARU VAJCA	n	15	10	15	15
	x	1,365	1,373	1,292	1,312
	s	0,030	0,026	0,040	0,042
	v	2,197	1,89	3,095	3,20
	min	1,309	1,325	1,204	1,250
	max	1,395	1,410	1,363	1,439
Duncanov test	K : P1	-0,008 -			
	K : P2	0,073 +++			
	K : P3	0,053 ++			
	P1 : P2	0,081 +++			
	P1 : P3	0,061 +++			
	P2 : P3	-0,020 +			

Zmeny indexu tvaru

Obr. 3



Záver

V priebehu nášho pokusu sme sledovali vplyv prídavku niklu v rôznych koncentráciách (2 g.l^{-1} ; $0,2 \text{ g.l}^{-1}$ a $0,02 \text{ g.l}^{-1}$) na zmeny ukazovateľov kvality celého vajca – hmotnosti, mernej hmotnosti a indexu tvaru u sliepok hnedovaječného znáškového hybridu Isabrown. Najvýraznejšie rozdiely v priebehu pokusu aj pri priemernom vyhodnotení boli zaznamenané u hmotnosti vajec medzi kontrolnou skupinou K a pokusnou skupinou P1 s najvyššou koncentráciou niklu (2 g.l^{-1}). Pri mernej hmotnosti boli zaznamenané minimálne, štatisticky nevýznamné rozdiely medzi skupinami, čo sa týka indexu tvaru, rozdiely medzi skupinami boli štatisticky významné, avšak menej výrazné ako pri hmotnosti vajec.

Literatúra

1. WILSON, J. H. – WILSON, E. J. RUSZLER, P. L. 2001. In Dietary nickel improves bale broiler (*Gallus domesticus*) bone strength. In Biological Trace Element Research, vol. 83, num. 3, p. 239 - 249
2. ANKE, M. – ANGELOW, L. – GLEI, M. – MULLER, M. – ILLING, H. 1995. The biological importance of nickel in the food-chain. In Fresenius Journal of Analytical Chemistry. Vol. 352, 1995, num. 92 - 96
3. FAKAYODE, S. O. – OLU – OWOLABI, I. B. 2003.
4. Trace metal content and estimated daily human intake from chicken eggs in Ibadan, In Archives of Environmental Health, 2003, vol. 58, num. 4, p. 245 - 251
5. MELUZZI, A. – SIMONCINI, F. – SIRRI, F. – VANDI, L. – GIORDANI, G. 1996. Feeding hens diets supplemented with heavy metals (chromium, nickel and lead). In Archiv für Geflügelkunde, vol. 60, 1996, num. 3, p. 119 - 125
6. PROKEŠ, J. et al. Základy toxikologie. Praha : Galen, 2005. ISBN 80 – 7262 – 301 _ X. 247 s.
7. MATKAR, J. J. – WRISCHNIK, L. A. – JONES, P. R. – HELTMAN – BLUMBERG, V. Two closely related nickel complexes have different effects on DNA damage and cell variability. Biochem Biophys, Res Commun, roč. 343, 2006 č. 3, s. 754 - 761

METALICKÁ KONTAMINÁCIA PÔD V OBLASTI ŠTIAVNICKÝCH VRCHOV

SOIL METALIC CONTAMINATION IN ŠTIAVNICA HILLS AREA

Árvay, J., Stanovič, R.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

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 antropic, but also natural (geochemical) contamination.

In all soil samples the analyses of water and changeable reaction were realized. Also the analyses on the heavy metals content in the leach of aqua regia (pseudototal leach). 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.

From the results flows that on monitored parcel „Dolné kukuričisko“ pH_{KCl} is in the range of weak and extremely acid and by all elements the valid hygienic limit determined by legislative norm 220/2004.

Key words: soil contamination, heavy metals, mobility, alluvium, agricultural products quality,

Úvod

Štiavnické vrchy boli už v minulosti výbornou lokalitou na štúdium obsahov ťažkých kovov v pôdnych a rastlinných vzorkách. Oblasť je charakteristická častým výskytom hydrotermálne premenených hornín obsahujúcich impregnácie sulfidov najmä pyritu, chalkopyritu, galenitu a pod. Z historického hľadiska je región Štiavnických vrchov zaujímavý dlhodobou takmer tisícročnou banskou činnosťou.

Táto oblasť je charakteristická dvoma typmi kontaminácie. Prvý je antropický a je spôsobený ťažbou rúd a ich spracovaním. Druhý typ je prirodzený a je spôsobený zvetrávaním hornín obsahujúcich sledované ťažké kovy.

Úlohou tejto práce je podrobnejšie zhodnotiť hygienický stav sledovanej lokality – pozemku a vyvodiť závery, či je alebo nie je sledované územie vhodné na pestovanie poľnohospodárskych produktov, ktoré slúžia na kŕmenie hospodárskych zvierat alebo na výživu ľudí.

Materiál a metodika

Záujmovou lokalitou bola parcela „Dolné kukuričisko“ s lokalizačnými koordinátmi $48^{\circ} 10,545'$ severnej šírky (φ) a $18^{\circ} 53,707'$ východnej dĺžky (λ), ktorá je v správe PD Dudince s identifikačným číslom 0904/1. Severozápadnú stranu pozemku obmýva Štiavnický potok. Parcela bola už v minulosti záujmovou pre sledovanie kontaminácie a správania sa ťažkých kovov pre naše pracovisko.

Tento pozemok s rozlohou 27,3 ha bol zameraný pomocou GPS GARMIN – eTREX VISTA C príručným navigačným zariadením. Následne boli pomocou programu OziExplorer na

podklade päťsekundového rastra v spojniciah vytvorené body odberov pôdnych vzoriek. Tieto body, ktorých bolo celkom 19, boli prenesené do GPS, pomocou ktorého sme sa navigovali na odberné miesta, kde boli odobraté pôdne vzorky z horizontov A (0 – 0,20 m) a B (0,30 – 0,45 m). Záverečné spracovanie získaných údajov a vytvorenie obsahových máp bolo uskutočnené pomocou programu ArcView 3.2.

Pôdne vzorky boli upravené a následne analyzované na pseudototálny obsah ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej (zákon 220/2004). Bola zisťovaná aj pôdna vodná a výmenná reakcia.

Limitné hodnoty pre obsahy ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej sú uvedené v tabuľke č. 1. Zelenou farbou sú vyznačené limitné hodnoty, s ktorými boli získané výsledky porovnávané.

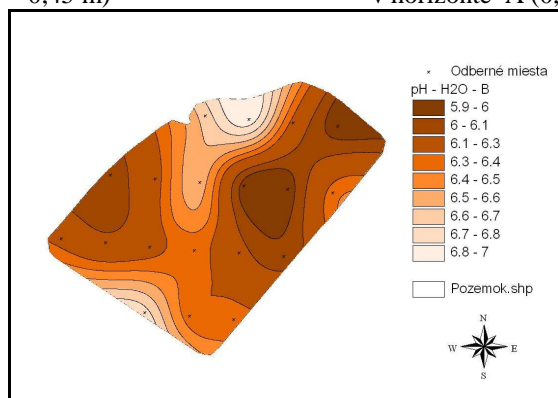
Tab. 1: Limitné hodnoty rizikových prvkov v poľnohospodárskej pôde podľa zákona 220/2004 (v mg.kg⁻¹ suchej hmoty, rozklad lúčavkou kráľovskou)

Pôdny druh	Cd	Cu	Pb	Zn
piesočnatá, hlinito-piesočnatá	0,4	30	25	100
piesočnato-hlinitá, hlinitá	0,7	60	70	150
ílovito-hlinitá, ílovitá, íl	1,0	70	115	200

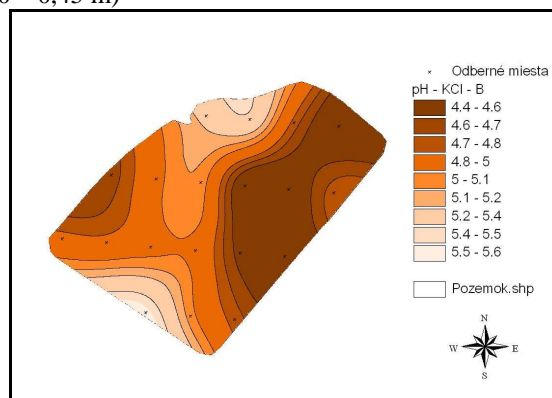
Výsledky

Ako už bolo uvedené, mobilita a prístupnosť ťažkých kovov pre rastliny je v najväčšej miere závislá od pôdnej reakcie. V tejto práci sa zisťovala hodnota vodnej pôdnej reakcie pH – H₂O a hodnota výmennej pôdnej reakcie pH – KCl v horizonte B (0,30 – 0,45 m). Hodnoty pH – H₂O sa pohybovali v intervale 5,96 – 6,84. Výmenné pH_{KCl} sa pohybovalo na úrovni 4,47 – 5,56 čo je možné zaradiť do skupiny slabo až extrémne kyslých pôd. Plošné vyjadrenie zmien pH na pozemku znázorňujú obrázky č. 1 a 2.

Obr.1: Plošné znázornenie hodnôt pH H₂O v horizonte A (0,30 – 0,45 m)



Obr. 2: Plošné znázornenie hodnôt pH KCl v horizonte B (0,30 – 0,45 m)



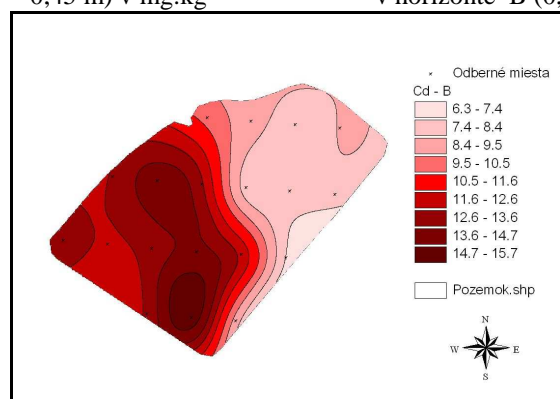
Obsah vybraných ťažkých kovov bol sledovaný vo výluhu lúčavky kráľovskej, ktorý prezentuje pseudototálny obsah ťažkých kovov v pôde. Pseudototálny z toho dôvodu, že toto extrakčné činidlo nie je schopné rozložiť silikátovú a alumosilikátovú frakciu a teda rizikové prvky obsiahnuté v týchto zložkách pôdy sa do výluhu nedostanú. Intervaly obsahov ťažkých kovov vo vzorkách pôdy získaných z výluhu sú uvedené v tabuľke č. 2.

Tab. 2: Obsah ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej a percentuálne prekročenie limitných hodnôt stanovených zákonom 220/2004.

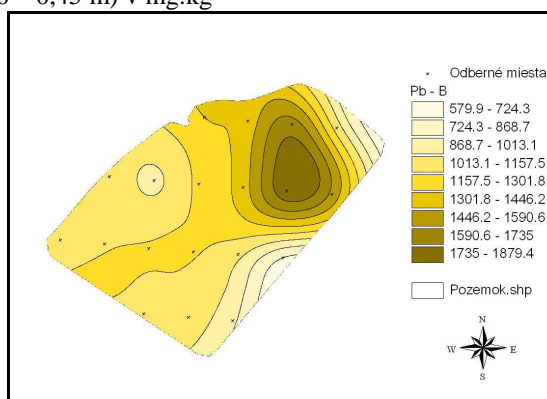
prvok	Lúčavka kráľovská (mg.kg ⁻¹)	Limit (mg.kg ⁻¹)	Prekročenie limitu (zákon 220/2004) (%)
Cd	7,36 – 15,4	0,7	1 051,1 – 2 200,0
Pb	712,0 – 1824,0	70	1 017,1 – 2 605,7
Zn	870,0 – 2 102,0	150	580 – 1 401,3
Cu	66,2 – 127,0	60	110,3 – 211,6

Priestorové znázornenie obsahu sledovaných rizikových prvkov znázorňujú mapky na obrázkoch 3 až 6.

Obr. 3: Plošné znázornenie obsahu kadmia v horizonte B (0,30 – 0,45 m) v mg.kg⁻¹



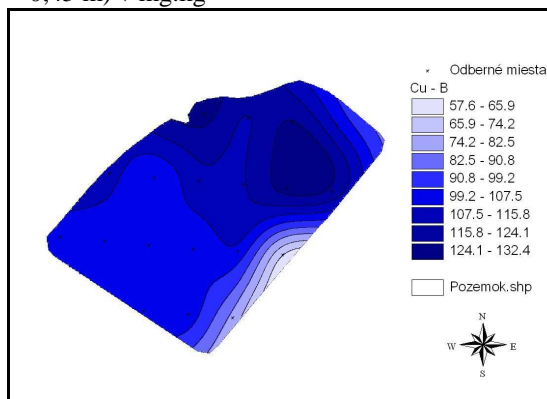
Obr. 4: Plošné znázornenie obsahu olova v horizonte B (0,30 – 0,45 m) v mg.kg⁻¹



Obr. 5: Plošné znázornenie obsahu zinku v horizonte B (0,30 – 0,45 m) v mg.kg⁻¹



Obr. 6: Plošné znázornenie obsahu medi v horizonte B (0,30 – 0,45 m) v mg.kg⁻¹



Záver

Kontaminácia životného prostredia sa za posledné storočie stala hrozbou, ktorej je potrebné venovať zvýšenú aktívnu pozornosť, ktorá by mala viesť k eliminácii následkov ľudského konania.

Úlohou tejto práce bolo čo najlepšie zhodnotiť stav sledovanej lokality – pozemku, ktorá sa využíva na produkciu poľnohospodárskych plodín. Hoci sledované územie je podľa získaných výsledkov zaradené medzi rizikové (všetky sledované rizikové prvky mali niekoľkonásobne prekročenie limitnú hodnotu stanovenú hygienickými normami) a hygienická kvalita dopestovaných komodít diskutabilná, je potrebné aplikovať také agrotechnické opatrenia, ktoré imobilizujú rizikové kovy v zložkách pôdy a následne zabráni ich prieniku do rastlín.

Literatúra

1. SINGH, O. V. – LABANA, S. – PANDEY, G. – BUDHIRAHJA, R. 2004. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. In : Appl. Microbiol. Biotechnol. 61, 2004, č. 61, s. 405 – 412.
2. STYK, J. 2001. Problémy ťažkých kovov (kadmium, olovo, meď, zinok) v pôdach Štiavnických vrchov a ich príjem rastlinami. Edícia Pedo – Disertationes, 2001, s. 15 – 16, ISBN 80-85361-90-6.
3. TOMÁŠ, J. 2000. Stopové prvky v životnom prostredí. In : Cudzorodé látky v životnom prostredí. Zborník referátov z III. medzinárodnej konferencie, 2000, SPU Nitra, s. 10 – 18, ISBN 80-7137-745-7.
4. TÓTH, T. – TOMÁŠ, J. – LAZOR, P. – CHLPÍK, J. – JOMOVÁ, K. – HEGEDUSOVÁ, A. 2005. Rizikové prvky v pôdach a plodinách štiavnického regiónu. In : Zborník z 57. zjazdu chemických spoločností. Tatranské Matliare, sept. 2005. ChemZi, Vol. 1/1, s. 285-286, ISSN 1336-7242

MORFOMETRICKÁ ANALÝZA SEMENNÍKOV POTKANOV PO APLIKÁCIÍ NIKLU

MORPHOMETRY ANALYSIS OF THE RAT TESTIS AFTER A NICKEL ADMINISTRATION

Bábiková, L., Toman, R., Hluchý, S., Massányi, P., Lukáč, N., Golian, J., Šiška, B.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

The aim of the study was to determine the effects of nickel on the rat testis using morphometry methods. The experimental group consisted of 10 rats injected with nickel chloride at a single intraperitoneal dose 25 mg.kg^{-1} b.w. and killed 48 hours after the nickel application. Ten males served as an untreated control group and were killed at the same period like nickel-treated animals. The samples of the testis were processed by histological methods and evaluated using morphometry methods. Forty-eight hours after nickel treatment, a significant increase in interstitial tissue volume from $16,03 \pm 1,00 \%$ to $22,34 \pm 8,07 \%$ in the testes of Ni-treated males. This increase in interstitium volume caused the decrease of germinal epithelium to $68,28 \pm 7,03 \%$ and significant decrease of tubule lumen volume to $9,40 \pm 2,24 \%$ in comparison with the control group ($72,50 \pm 1,91 \%$ and $11,49 \pm 1,21 \%$, respectively). These findings indicate the negative impact of nickel on the testes and possibility of the male infertility caused by nickel.

Key words: nickel, testis, rat, structure, morphometry

Úvod

Súčasný rast priemyselnej a poľnohospodárskej činnosti spôsobuje nárast ťažkých kovov v prostredí, ktoré sa dostávajú do potravinového reťazca a následne ovplyvňujú fyziologické funkcie organizmu. Účinok ťažkých kovov na organizmus závisí od niekoľkých faktorov: od vlastností prvku, spôsobu jeho kontaktu s organizmom, od použitej dávky, od času pôsobenia, spôsobu absorpcie, bioakumulácie, charakteru exponovaného organizmu. Nikel (Ni) je biogénny esenciálny prvok, ktorý pri vyšších koncentráciách vyvoláva vznik kontaktnej alergickej dermatitídy (Menne, 1994). Je považovaný za mutagénny, teratogénny a karcinogénny prvok (Paksy et al., 1999). Údaje o vplyve niklu na pohlavný systém samcov a samíc sú zriedkavé. Kakela et al. (1999) uvádzajú, že v semenníkoch potkanov dochádza po perorálnom podávaní Ni k zmenšeniu semenotvorných kanálikov a k zníženiu počtu spermatogónií. Iscan et al. (2002) poukazujú na fakt, že pôsobením niklu dochádza k zmenám niektorých testikulárnych enzýmov, ktoré sa podieľajú na metabolizme xenobiotík. Avšak nezistili žiadne patologické zmeny na úrovni mikroskopických štruktúr semenníka. Podávaním niklu môže klesať hmotnosť semenníkov a plodnosť.

Cieľom práce bolo zistiť percentuálne zastúpenie jednotlivých štruktúr semenníka laboratórnych potkanov po jednorazovom podaní niklu.

Materiál a metódika

V pokuse sme použili 20 samcov laboratórnych potkanov línie Wistar, ktorých sme rozdelili do 2 skupín, 1 kontrolnej a 1 pokusnej skupiny. Pokusným zvieratám sme aplikovali nikel vo forme NiCl_2 v jednorazovej dávke 25 mg.kg^{-1} živej hmotnosti intraperitoneálne. Ako kontrolná skupina slúžila skupina 10 samcov, ktorým sme aplikovali intraperitoneálne fyziologický

roztok. Po 48 hodinách od podania niklu sme zvieratá bezbolestne usmrtili, odvážili a odobrali semenník na histologické spracovanie. Podobne sme postupovali aj pri kontrolných zvieratách. Na histologických preparátoch sme kvantitatívnymi morfometrickými metódami pomocou testovacej mriežky obsahujúcej 540 testovacích bodov hodnotili relatívny objem semenotvorného epitelu, lúmenu kanálikov a intersticiálneho väziva. Hodnotenie sme uskutočnili komputervizovaným systémom vyhodnocovania pomocou PC morfometrického softwaru M.I.S. Quick Photo a mikroskopom Olympus AX 70. Pre získané údaje sme vypočítali základné štatisticko-variačné hodnoty a rozdiely medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sme otestovali Studentovým t-testom.

Výsledky a diskusia

Výsledky morfometrického hodnotenia semenníka sú uvedené v tabuľke č. 1.

Percentuálne zastúpenie jednotlivých štruktúr semenníka kontrolných a pokusných potkanov

Tabuľka 1

ŠTRUKTÚRA	Kontrola	Pokus
	x ± s	x ± s
Semenotvorný epitel	72,50 ± 1,91	68,28 ± 7,03
Lúmen kanálik	11,49 ± 1,21	9,40 ± 2,24*
Intersticiálne väzivo	16,03 ± 1,00	22,34 ± 8,07*

* P < 0,05

V semenníkoch pokusných samcov, ktorým sme podali intraperitoneálne nikel, sme po vykonaní morfometrickej analýzy zistili štatisticky preukazné zvýšenie relatívneho objemu intersticiálneho väziva, čo malo za následok zníženie relatívneho objemu semenotvorného epitelu. Údaje o vplyve niklu na semenníky sú zriedkavé a morfometrické údaje úplne chýbajú. Massányi et al. (1991) sledovali štrukturálne zmeny semenníka kráľika po jednorázovom podaní kadmia ($9,13 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ CdCl}_2$) a zistili nárast intersticiálneho tkaniva o 9,5 %, čo spôsobilo pokles percentuálneho zastúpenia zárodočného epitelu z 80,8 % na 71,3 %. Toman et al. (2002) pri sledovaní akútneho účinku kadmia v dávke $2,25 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ CdCl}_2$ na pohlavné orgány samcov kráľika poukazujú na rozšírenie väziva z 12,27 % na 29,98 % a zmenšenie semenotvorného epitelu zo 77,75 % u kontrolného kráľika na 67,11 %. Zistenia uvedených autorov potvrdzujú aj naše výsledky s aplikáciou niklu. V našom prípade nastalo preukazné zvýšenie zastúpenia väziva v semenníku potkana po podaní niklu z 16,03 % na 22,34 %. Nami dosiahnuté zníženie relatívneho objemu semenotvorného epitelu z 72,50 % na 68,28 % korenšponduje s tvrdeniami ostatných autorov, ktorí sledovali pôsobenie kadmia a zistili taktiež pokles semenotvorného epitelu z 80,8 % na 71,3 % (Massányi et al, 1991) a z 77,75 % na 67,11 % (Toman et al., 2002), pričom pokles semenotvorného epitelu, ktorý nastal po aplikácii niklu nebol taký výrazný ako po podaní kadmia. Hluchý (1991) potvrdzuje výsledky, ktoré sme zaznamenali v našom experimente a poukazuje taktiež na úbytok objemu semenotvorného epitelu a zvýšenie zastúpenia intersticiálneho väziva pôsobením herbicídov u potkanov. Vrzgulová (1995) zaznamenala rozšírenie intersticiálnych priestorov v dôsledku edému u baranov po traumatickom poškodení parenchýmu semenníka biopsiou. Morfometrickými analýzami zastúpenia semenotvorného epitelu u ďalších druhov zvierat sa zaoberali viacerí autori. Slamečka et al (2001) udávajú objem epitelu semenníka u zajaca poľného 75,55 %, 76,9 % u ryšavky obyčajnej (*Apodemus sylvaticus*) a 67,6 % u ryšavky žltohrdlej (*Apodemus flavicollis*) (Massányi et al., 2003), Massányi, et al (1999) ďalej udávajú hodnoty u daniela škvritného (*Dama dama*) 63,6 1% (jar) a 76,18 % (jeseň).

Meraním objemu lúmenu semenotvorných kanálikov sme u kontrolných potkanov zistili 11,49 %. Tieto hodnoty sa zhodujú s výsledkami, ktoré uvádzajú Žitný a Hluchý (1991), ktorí zistili objem lúmenu u Novozélandského králika 11,43 – 14,97 %. Podobne, Slamečka et al. (2001) zaznamenali u zajacov 14,43 % objem lúmenu semenotvorných kanálikov. V pokuse s jednorázovým podaním niklu sme v porovnaní s kontrolnou skupinou samcov potkanov zaznamenali štatisticky preukazný pokles relatívneho objemu lúmenu o 2,09 % oproti kontrole.

Záver

Výsledky práce ukázali, že jednorázové intraperitoneálne podanie niklu spôsobuje zmeny v percentuálnom zastúpení interstícia, lúmenu a epitelu semenotvorného kanálika. V semenníkoch potkanov došlo k preukaznému zvýšeniu objemu intersticiálneho väziva a zároveň nastalo zníženie relatívneho objemu lúmenu kanálikov a semenotvorného epitelu. Výsledky nášho experimentu potvrdzujú fakt, že hoci je nikel esenciálnym prvkom, po podaní jeho vyššej dávky môže dochádzať ku zmenám jednotlivých štruktúr semenníka.

Literatúra

- HLUCHÝ, S. (1991): *Polnohospodárstvo*, 9-10, 849 – 855.
- ISCAN, M., ADA, A.O., COBAN, T. et al. (2002): *Biol. Trace Elem. Res.*, 2, 177 - 190.
- KAKEKA, R., KAKELA, A., HYVARINEN, H. (1999): *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 1, 27-33.
- MASSÁNYI, L., JANOVIČOVÁ, O., BAKITOVÁ, Ľ, et al (1991): *Polnohospodárstvo*, 9- 10, 830-848.
- MASSÁNYI, P. – LUKÁČ, N. – HLUCHÝ, S. et al (1999): *Folia Veterinaria*, 2, 67 – 70.
- MASSÁNYI, P., JANČOVÁ, A., UHRÍN, V. (2003): *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 133 – 138..
- MENNE, T., (1994): *Sci. Total Environ.*, 148, 275-281.
- PAKSY, K., (1999): *Environ. Res. Section*, 80, 340-347.
- SLAMEČKA, J., MASSÁNYI, P., HELL, P., et al, (2001): *Folia Zool.*, 3, 173 – 183.
- TOMAN, R., MASSÁNYI, P., UHRÍN, V., (2002): *Trace Elements and Electrolytes*, 3, 114 – 117.
- VRZGULOVÁ, M. (1995): *Reprod. Dom. Anim*, 30, 67-76.
- ŽITNÝ, J., HLUCHÝ, S., (1991): *Polnohospodárstvo*, 37, 479 – 488.

Práca bola finančne podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR projektom VEGA č. 1/2417/05 a 1/3475/06.

MONITORING CUDZORODÝCH LÁTOK V RÁMCI NÁRODNÉHO PLÁNU KONTROLY REZÍDUÍ NA SLOVENSKU.

MONITORING OF FOREIGN SUBSTANCES WITHIN THE FRAMEWORK OF NATIONAL PLAN FOR RESIDUES CONTROL IN THE SLOVAK REPUBLIC.

Bíreš, J., Ihnátová, M., Matuš, M.

Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky

Abstract

This report deals with the results of the National Plan for Residue Control in live animals and animal products. It clarifies findings of residues in the year 2005 in live animals, animal products as well as in foodstuffs. This paper clarifies to abuse of hormones and their finding in the animals from the some state of European Union. The paper is focused on the results from the foreign substance control in the year 2005 as well as on imposed measures controlled and guaranteed by the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic. One of the primary aims of the monitoring of residues is the control of food chain in interest of consumer's health protection. Important part of consumer's protection is existence of the national system of residue control in food chain as well as prevention of entry of residues into the food chain. The national system of residue control in the Slovak Republic is aimed at improvement of traceability of risks resulting from foodstuffs and subsequently at more consistent consumer's protection.

Kľúčové slová: rezíduá, národný plán kontroly rezíduí, zakázané látky, hormóny, maximálny reziduálny limit.

Úvod

Kontrola rezíduí zakázaných látok a maximálnych reziduálnych limitov povolených látok u živých zvierat smeruje k produkcii surovín živočíšneho pôvodu bez rezíduí a následne sú z nich vyrobené potraviny bez výskytu rezíduí cudzorodých látok, ktoré sú prioritou Slovenskej republiky s cieľom zabezpečiť najvyššiu úroveň ochrany spotrebiteľa prostredníctvom kontroly celého potravinového reťazca. Dostatkom kvalitných surovín a správnu výrobnou praxou je zaručená úspešnosť pri výrobe kvalitných potravín bez rezíduí. Cieľom monitorovania živých zvierat, surovín a potravín živočíšneho ale aj rastlinného pôvodu je zabrániť prieniku rezíduí cudzorodých látok do potravinového reťazca nie len za účelom ochrany zdravia spotrebiteľa ale aj v rámci funkčnosti výmeny s členskými štátmi a v rámci obchodu s tretími krajinami. Systém kontroly cudzorodých látok na Slovensku je komplex monitoringov a cielených previerok, ktoré sú vykonávané v súlade s legislatívou Slovenskej republiky a Európskej Únie. Z hľadiska produkcie potravín bez rezíduí má byť kladený dôraz skôr na monitoring procesu než na kontrolu koncových produktov. Jedným z monitoringov živých zvierat a surovín živočíšneho pôvodu, ktorý je realizovaný v súlade s legislatívou Európskej Únie je Národný plán kontroly rezíduí.

Materiál a metodika

Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky každoročne zostavuje Národný plán kontroly rezíduí v živých zvieratách a v produktoch živočíšneho pôvodu v Slovenskej republike, podľa nariadenia vlády Slovenskej republiky č. 320/2003 Z. z. o monitorovaní určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a v produktoch živočíšneho pôvodu v znení neskorších predpisov, ktorým bola do právneho poriadku Slovenskej republiky

prebratá smernica Rady 96/23/ES. V Národnom pláne kontroly rezíduí sú uvedené analytické metódy s detekčnými limitmi, ktorými musia byť odobraté vzorky analyzované na detekciu rezíduí konkrétnych substancií. Na základe naplnených kritérií ustanovených v nariadení vlády je pripravený Národný plán kontroly rezíduí, ku ktorému je každoročne vypracovaný podrobný metodický pokyn. V príslušnom Metodickom pokyne k Národnému plánu kontroly rezíduí v živých zvieratách a v produktoch živočíšneho pôvodu je uvedený presný počet a rozpis na odber vzoriek pre veterinárnych inšpektorov Regionálnych veterinárnych a potravinových správ. Analýzy úradných vzoriek na kontrolu rezíduí vykonávajú výlučne laboratóriá, ktoré určí Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky. Merania sa vykonávajú podľa medzinárodne akceptovaných metódík a postupov. Určené laboratóriá musia byť akreditované podľa normy STN ISO/IEC 17025:1999 a pravidelne musia potvrdzovať svoju kompetentnosť účasťou na medzilaboratórnych testoch kontroly kvality skúšok. Medzilaboratórne testy spôsobilosti organizujú národné referenčné laboratóriá na národnej úrovni, na medzinárodnej komunitnej referenčnej laboratórii a organizácie zaoberajúce sa organizovaním testov.

Výsledky

V rámci Národného plánu kontroly rezíduí v živých zvieratách a v produktoch živočíšneho pôvodu v Slovenskej republike na rok 2005, ktorý bol schválený Európskou Komisiou, boli sledované zakázané látky, veterinárne lieky a látky, ktoré môžu byť použité na veterinárne účely a kontaminanty. Zakázané látky a látky s anabolickým účinkom, sú podľa legislatívy zaradené do skupiny A a veterinárne lieky a látky, ktoré môžu byť použité na veterinárne účely a kontaminanty, sú zaradené do skupiny B. Skupina A sa ďalej člení na skupiny A1 až A6. Do skupiny A1 patria stilbény a ich deriváty, do skupiny A2 tyreostatické látky, steroidy tvoria skupinu A3, laktóny kyseliny rezorcylovej vrátane zeranolu patria do skupiny A4, beta - agonisti do skupiny A5 a skupinu A6 tvorí chloramfenikol, nitofuránové metabolity a nitroimidazoly a ich hydroxymetabolity. Podrobnosti o zákaze používania látok patriacich do skupín A1, A2, A3, A4 a A5 v chovoch hospodárskych zvierat upravuje nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 319/2003 Z. z., ktorým bola do právneho poriadku Slovenskej republiky prebratá smernica Rady 96/22/ES. Kontrola rezíduí týchto zakázaných látok je dôležitá na zabránenie zneužívania hormónov pri produkcii mäsa, ale taktiež na zabránenie zneužívania látok na iný účel ako sú určené, čiže ak ide o prípady nelegálneho ošetrovania. Hormóny stimulujú rast zvyšovaním účinnosti krmiva a zvieratá, ktorým sa aplikujú hormóny, oveľa účinnejšie napomáhajú konverzii krmiva na svalovinu na úkor tuku. Použitie hormónov ako 17-beta estradiol, progesterón, testosterón, zeranol, trenbolon a melengestrol acetát - MGA za účelom urýchlenia rastu vo výkrme zvierat vyvoláva riziká pre konzumentov. Nepriaznivé účinky zahŕňajú vývojové, neurobiologické, genotoxické a karcinogénne účinky. Tieto účinky možno pripísať buď pôvodnej látke alebo ich metabolitom. Látky patriace do skupiny A6 sú látky, ktoré nemajú stanovený maximálny reziduálny limit a musia byť vyhodnocované príslušným analytickým pracoviskom na citlivosť metódy. Kvalita kontroly rezíduí zakázaných látok, vrátane hormonálnych, je závislá na laboratórnom vybavení a laboratórnych metódach, ale taktiež na správnom odbere úradných vzoriek. Neustály rýchly vývoj nových a citlivejších analytických metód vedie k znižovaniu limitov detekcie a tým k zachyteniu už čoraz menšieho množstva týchto látok.

Skupina B sa delí na skupiny B1, B2, B3. Do skupiny B2 patria tzv. iné veterinárne lieky, ktoré sú bližšie rozdelené na podskupiny B2 a) až f). Tieto podskupiny a) až f) zahŕňajú antihelmintiká, antikokcidiká, karbamáty a pyretroidy, sedatíva, nesteroidné antiflogistiká a ostatné farmakologicky aktívne látky. Kontaminanty prostredia sa zaraďujú do skupiny B3, ktorá sa člení na podskupiny B3 a) až f), ktoré obsahujú organochlórované zlúčeniny vrátane polychlórovaných bifenylov, organofosfáty, chemické prvky, mykotoxíny a farbivá.

V rámci vykonaných úradných odberov vzoriek a kontrol rezíduí cudzorodých látok podľa Národného plánu kontroly rezíduí bolo v roku 2005 analyzovaných 4 033 vzoriek, ktoré boli odobraté veterinárnymi inšpektormi regionálnych veterinárnych a potravinových správ zo živých zvierat na farme a zabitých zvierat na bitúnkoch Slovenskej republiky, zo živočíšnych surovín a z krmív a napájacej vody pre zvieratá. Z tohto celkového počtu 4 033 úradne odobratých vzoriek boli rezíduá cudzorodých látok zachytené v 30-tich vzorkách, čo znamená, že požiadavkám legislatívy nevyhovovalo 0,74 % odobratých vzoriek. Na základe pozitívneho nálezu boli následne veterinárnymi inšpektormi regionálnych veterinárnych a potravinových správ odoberané suspektné vzorky, čiže vzorky, ktoré boli odobraté ako následok nevyhovujúceho výsledku predchádzajúcej vzorky, ktorých v roku 2005 bolo 47, pričom z týchto suspektných vzoriek nevyhoveli požiadavkám legislatívy 4 vzorky čo predstavuje 8,5 %. Výsledky z Národného plánu kontroly rezíduí podľa druhov zvierat a podľa analyzovaných skupín uvádza tabuľka č. 1.

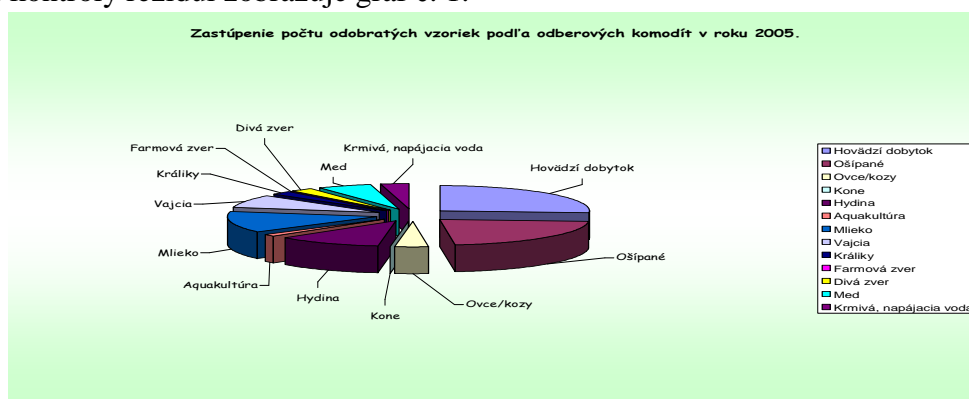
Tabuľka č. 1

SUMÁRNA TABUĽKA KONTROLY REZÍDUI: CIELENÉ ODBERY																																	
Výrazy "total" sa vzťahujú k počtu zvierat alebo vzoriek, tak ako je definované v smernici Rady 96/23/EC a Rozhodnutí Komisie 97/747/EC a nie k celkovému počtu analýz.																																	
Krajina:	Slovenská republika																																
Obdobie:	01.01.2005 - 31.12.2005																																
Skupina substancií	Hovädzi dobytok				Ošpané				Ovce/kozy		Kone		Hydina				Aquakultúra		Mlieko		Vajcia		Králiky		Farmová zver		Divá zver		Med		Krmivá, voda		
	Farma		Bitúnok		Farma		Bitúnok		Nb	Pos	Nb	Pos	Farma		Bitúnok		Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	
	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos	Nb	Pos					Nb	Pos	Nb	Pos																	Nb
TOTAL A+B	181	0	870	6	164	0	732	1	145	2	7	0	65	0	390	2	56	1	551	1	321	0	88	1	8	0	94	2	240	9	121	5	
Total A	181	0	189	0	164	0	190	0	58	0	5	0	65	0	178	2	20	0	244	1	109	0	26	0	5	0			17	0	22	0	
A1	27	0	16	0	23	0	17	0	5	0	1	0	9	0	24	0	6	0					2	0	2	0							
A2	19	0	16	0	37	0	31	0	6	0	1	0	10	0	25	0							4	0	1	0							
A3	32	0	46	0	25	0	34	0	8	0	1	0	10	0	23	0	6	0					2	0	2	0							
A4	20	0	18	0	25	0	15	0	5	0	1	0	11	0	25	0							2	0	2	0							
A5	27	0	28	0	25	0	37	0	5	0	1	0	11	0	23	0			35				3	0	2	0					13	0	
A6	56	0	64	0	30	0	57	0	29	0	4	0	24	0	58	2	14	0	209	1	109	0	26	0	2	0			17	0	9	0	
Total B			681	6			542	1	87	2	5	0			212	0	36	1	499	0	212	0	62	1	3	0	94	2	223	9	99	5	
Total B1			293	4			220	1	34	2	1	0			79	0	23	0	157	0	50	0	19	1	2	0			112	9	7	0	
Total B2			199	0			160	0	25	0	3	0			70	0	7	0	145	0	59	0	43	0	1	0			117	0	15	0	
B2a			48	0			44	0	7	0	1	0			5	0	7	0	125	0			23	0	1	0							
B2b			36	0			35	0	7	0	1	0			34	0					28	0	23	0	0	0					15	0	
B2c			41	0			30	0	2	0	1	0			19	0					31		20	0	0	0			21	0			
B2d			50	0			42	0	6	0	1	0																					
B2e			25	0			9	0	3	0	0	0			12	0			20	0			20	0	0	0							
B2f																												96					
Total B3			191	2			165	0	28	0	2	0			64	0	34	1	220	0	104	0	43	0	2	0	94	2	88	0	77	5	
B3a			49	0			34	0	8	0	1	0			35	0	14	0	65	0	104	0	20	0	2	0	18	0	21	0	17	0	
B3b			48	0			34	0	8	0	1	0							52	0			20					21	0	13	1		
B3c			114	2			102	0	13	0	1	0			25	0	14	0	69	0	102		23	0	2	0	77	2	46	0	29	3	
B3d			27	0			28	0	7	0	1	0			35	0	0	0	97	0			23						13	1			
B3e																	20	1															
B3f																															5	0	

Nb: počet všetkých odobratých vzoriek, Pos.: počet pozitívnych vzoriek z celkového počtu odobratých vzoriek (pozitívne výsledky – detekcia zakázaných substancií alebo nad MRL alebo nad národný limit veterinárnych liekov a kontaminantov).

V roku 2005 boli zistené nevyhovujúce nálezy na rezíduá cudzorodých látok vo vzorkách odobratých od hovädzieho dobytku, ošípaných, oviec a kôz, hydiny, akvakultúry, králikov, divjej zveri a taktiež boli zistené nevyhovujúce nálezy v surovinách živočíšneho pôvodu a to v mlieku a v mede. Podľa platnej legislatívy je nevyhnutné vzorkovať aj krmivá a napájajúcu vodu v rámci Národného plánu kontroly rezíduí, a to tých krmív a vody, ktoré slúžia na napájanie a kŕmenie vzorkovaných zvierat. Rezíduá cudzorodých látok neboli v roku 2005 zistené u koní a farmovej zveri a v slepačích vajciach.

Zastúpenie počtu úradne odobratých a analyzovaných vzoriek v roku 2005 v rámci Národného plánu kontroly rezíduí zobrazuje graf č. 1.



Z látok patriacich do skupiny A, inak označované ako látky zakázané, boli zistené nevyhovujúce výsledky v 2 vzorkách odobratých z hydiny a v jednej vzorke surového kravského mlieka. V týchto 3 vzorkách boli zistené rezíduá chloramfenikolu. Rezíduá chloramfenikolu boli potvrdené v dvoch vzorkách svaloviny brojlerov. Na skupinu A6 bolo spolu analyzovaných 58 vzoriek odobratých od hydiny, pričom 27 vzoriek z toho bolo analyzovaných na chloramfenikol a 2 vzorky boli nevyhovujúce. Veterinárni inšpektori v oboch prípadoch nariadili zákaz presunu zvierat za účelom zabránenia prieniku rezíduí do potravinového reťazca a veterinárnymi inšpektormi bol vykonaný farmaceutický dozor a šetrenie za účelom odhalenia zdroja kontaminácie. Chovateľovi boli uložené opatrenia, počas 12-ich mesiacov na vlastné náklady zabezpečiť odber vzoriek na analýzy na rezíduá chloramfenikolu vo frekvencii raz za mesiac. Následne bolo v oboch prípadoch spolu odobratých a analyzovaných za účelom zistenia zdroja pozitivity 9 suspektných vzoriek vrátane krmív a napájajúcej vody, ktorými boli zvieratá v čase zistenia pozitívneho nálezu kŕmené a napájané, pričom všetky suspektné vzorky boli vyhovujúce. V oboch prípadoch nebol veterinárnymi inšpektormi odhalený zdroj výskytu rezíduí.

Aj napriek tomu, že používanie chloramfenikolu je už takmer 10 rokov zakázané pre potravinové zvieratá, sú zisťované jeho rezíduá. Dôvodom výskytu rezíduí chloramfenikolu, aj napriek tomu, že jeho používanie je zakázané u zvierat produkujúcich potraviny, je pravdepodobne nelegálne ošetrovanie zvierat. V roku 2005 sa vyskytli rezíduá chloramfenikolu vo vzorkách odobratých na farmách aj na bitúnkoch aj v iných členských štátoch ako je Rakúsko, Česká republika, Estónsko, Francúzsko, Nemecko, Taliansko, Litva, Holandsko a Poľsko. 5 členských štátov, nesplnilo časový termín na zaslanie výsledkov z Národného plánu kontroly rezíduí na Európsku Komisiu a z toho dôvodu, nie sú ešte známe výsledky z Maďarska, Malty, Španielska, Belgicka a Dánska. V rámci monitoringu v roku 2005 neboli u zvierat pôvodom zo Slovenskej republiky zistené rezíduá hormonálnych, tyreostatických látok a beta - agonistických látok. Napriek tomu, že tieto látky podliehajú prísny kontrolám a ich používanie je legislatívne upravené v nariadení vlády Slovenskej republiky č. 319/2003 Z. z., ktorým sa upravujú podrobnosti o používaní niektorých látok s hormonálnym alebo tyreostatickým účinkom a beta – agonistických látok v chove hospodárskych zvierat

v znení neskorších predpisov, ktorým bola prebratá smernica Rady 96/22/ES, rezíduá týchto látok sa vyskytli v roku 2005 u zvierat pôvodom z členských štátov. Vo Francúzsku bolo zistených 19 pozitívnych nálezov, z ktorých bolo 8 pozitívnych nálezov na tyreostatiká, u hovädzieho dobytká, 9 pozitívnych nálezov na hormóny - 17 - beta estradiol a nandrolón (derivát testosterónu) u ošípaných a 1 pozitívny nález na zeranol a na clenbuterol taktiež u hovädzieho dobytká. V Nemecku boli v roku 2005 zistené 2 pozitívne vzorky na hormóny (testosterón a nandrolon) u hovädzieho dobytká, v Taliansku boli zistené 2 pozitívne nálezy na nandrolon a 6 pozitívnych nálezov na clenbuterol u hovädzieho dobytká a 4 pozitívne nálezy u ošípaných na nandrolon. V Holandsku boli zistené iba 2 pozitívne nálezy na tieto skupiny látok a to jeden nález clenbuterolu u hovädzieho dobytká a jeden pozitívny nález estradiolu u rýb, v Poľsku boli zachytené 3 pozitívne nálezy nandrolonu u ošípaných a v Portugalsku 2 pozitívne nálezy clenbuterolu u hovädzieho dobytká. Snáď najviac pozitívnych výsledkov v rámci týchto látok bolo v roku 2005 zistených vo Veľkej Británii. U hovädzieho dobytká boli zistené 4 pozitívne nálezy nandrolonu, 10 pozitívnych nálezov progesterónu, 5 pozitívnych nálezov zeranolu a u ošípaných až 34 nálezov nandrolonu. Vzhľadom na to, že aplikovanie hormonálnych, tyreostatických a beta - agonistických látok je veľmi striktné definované v legislatíve, je pravdepodobné, že vo väčšine prípadov išlo o nelegálne ošetrovanie zvierat.

Čo sa týka kontroly látok patriacich do skupiny B, boli v roku 2005 zistené nevyhovujúce nálezy vo vzorkách odobratých od hovädzieho dobytká, ošípaných, oviec a kôz, rýb, králikov, divjej zveri v mede a taktiež v krmivách a v napájacej vode. Vo vzorkách od hovädzieho dobytká boli zistené 4 nevyhovujúce nálezy rezíduí inhibičných látok, pričom konfirmačnými metódami v Štátnom veterinárnom a potravinovom ústave Dolný Kubín boli zistené prekročené maximálne reziduálne limity dihydrostreptomycínu, benzylpenicilínu, tetracyklínu a oxytetracyklínu. Vo všetkých prípadoch boli uložené veterinárne opatrenia na zabránenie prieniku rezíduí do potravinového reťazca. Kým nebolo šetrenie zo strany príslušnej regionálnej veterinárnej a potravinovej správy ukončené, majiteľom, držiteľom, prípadne chovateľom zvierat bol uložený zákaz premiestňovania zvierat, ktoré boli na farme v čase pozitívneho zistenia. V procese šetrenia nariadili veterinárni inšpektori odbery suspektných vzoriek a taktiež boli nariadené opatrenia na odstránenie zistených nedostatkov v čase kontroly, ktorá bola vykonaná v každom prípade za účelom zistenia príčiny výskytu rezíduí. Veterinárni inšpektori v priebehu ďalších 6 mesiacov zintenzívnili kontroly na úseku veterinárnej farmácie v predmetných chovoch. V každom prípade výskytu rezíduí inhibičných látok boli vykonané šetrenia a kontroly so zameraním na manipuláciu s veterinárnymi liekmi a s vedením evidencie.

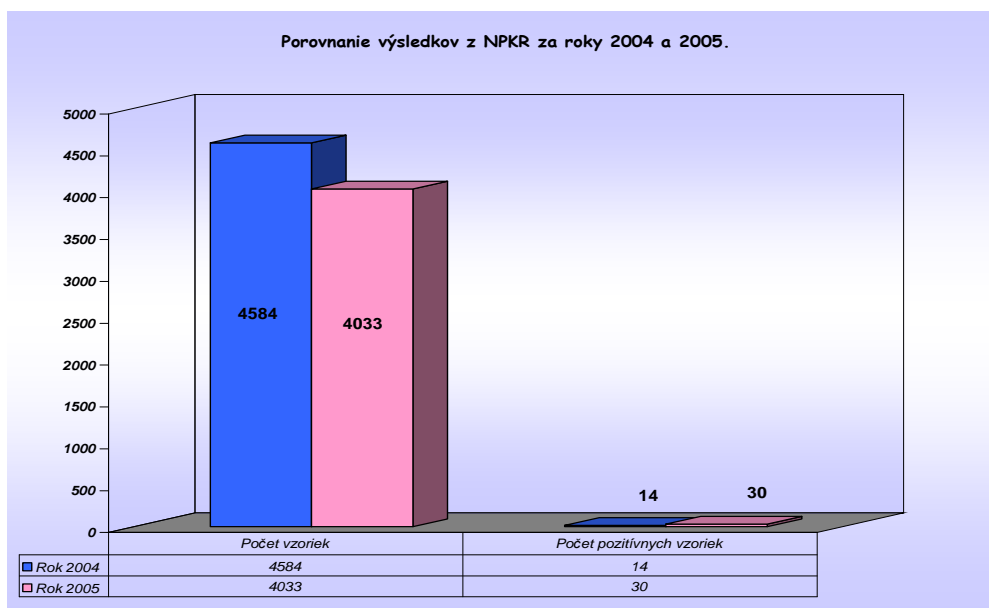
Vo vzorkách obličiek odobratých od hovädzieho dobytká na bitúnkoch boli zachytené 2 nevyhovujúce nálezy látok zo skupiny B3, konkrétne zo skupiny B3c a bolo zistené prekročenie maximálneho reziduálneho limitu kadmia. Veterinárni inšpektori nariadili zákaz presunu zvierat a odber suspektných vzoriek a zvieratá z predmetných fariem budú aj v budúcom roku monitorované na rezíduá ťažkých kovov.

Na rezíduá látok patriacich do skupiny B boli vzorkované aj ošípané, pričom celkovo bolo odobratých 542 vzoriek a rezíduá látok zo skupiny B1 boli zistené len v jednej vzorke. Vzorka pozitívna na rezíduá inhibičných látok screeningovými metódami bola následne analyzovaná konfirmačnou metódou na konkrétne antibiotiká a konfirmačný výsledok bol negatívny, čo znamená, že pozitívne rezíduá inhibičných látok mohli spôsobiť nešpecifické antibiotiká alebo antibiotiká, ktoré sa na Štátnom veterinárnom a potravinovom ústave nestanovujú. Veterinárni inšpektori nariadili označenie zvierat, ktoré budú premiestňované na bitúnok za účelom odberu suspektných vzoriek. Osoba zodpovedná za zvieratá musí každú dodávku ošípaných na jatočné účely hlásiť jeden deň vopred na príslušnú Regionálnu veterinárnu a potravinovú správu za účelom odberu vzoriek. Na rezíduá inhibičných látok boli analyzované aj vzorky od oviec a kôz. 2 vzorky boli s pozitívnym výsledkom. Veterinárni inšpektori nariadili veterinárne

opatrenia na zabránenie prieniku rezíduí do potravinového reťazca. Na látky zo skupiny B bolo analyzovaných 62 vzoriek odobratých od králikov. Z toho počtu bolo na skupinu B1 analyzovaných 19 vzoriek, pričom jedna vzorka bola vyhodnotená ako nevyhovujúca, pre nález rezíduí enrofloxacínu.

Od divjej zveri bolo odobratých 94 vzoriek na analýzy na látky zo skupiny látok B3, z toho 2 vzorky boli nevyhovujúce na látky zo skupiny B3c. V svalovine srnca a diviaka bol prekročený maximálny reziduálny limit pre olovo a suspektné vzorky budú odobraté pri ďalšom odstrele srncov a diviakov v danom regióne. Vykolená jelenia zver bude umiestnená v zberní zveriny do obdržania negatívneho výsledku na ťažké kovy. V rámci Národného plánu kontroly rezíduí v roku 2005 bolo analyzovaných na skupinu B 223 vzoriek medu. Na skupinu B1 bolo analyzovaných 112 vzoriek, pričom 9 vzoriek bolo vyhodnotených ako nevyhovujúcich. V 9-tich vzorkách boli zachytené rezíduá antibiotík, konkrétne boli zistené rezíduá tylozínu a sulfónamidov. V prípadoch pozitívneho zistenia rezíduí tylozínu a sulfónamidov v mede bol vydaný zákaz uvádzania medu do obehu na spotrebu ľuďmi. V prípade, že sa med nachádzal v obchodnej sieti, bolo nariadené jeho stiahnutie z obehu. 523 kg medu bolo označených ako nevhodných na ľudský konzum a ďalších 1 085 kg bolo pozastavených do obdržania výsledku zo Štátneho veterinárneho a potravinového ústavu Dolný Kubín. Opakované odbery vzoriek medu boli vykonané veterinárnymi inšpektormi na náklady producenta s negatívnym výsledkom. V rybách boli zistené rezíduá malachitovej zelenej, ktorá je legislatívne zaradená medzi látky patriace do skupiny B, ale vzhľadom k tomu, že nemá maximálny reziduálny limit a je zakázané jej použitie, patrí medzi látky zakázané. Na malachitovú zelenú bolo analyzovaných 20 vzoriek v roku 2005, pričom jedna vzorka nevyhovela požiadavkám legislatívy. V prípade zistenia rezíduí malachitovej zelenej, boli zo strany príslušnej regionálnej veterinárnej a potravinovej správy nariadené veterinárne opatrenia, týkajúce sa neškodného odstránenia 84,4 kg - pstruh mrazený pitvaný, ktorý bol vyrobený z rybníka s pozitívnym nálezom rezíduí malachitovej zelenej. Odobraté suspektné vzorky boli negatívne. A čo sa týka analýz krmív a napájacej vody v rámci Národného plánu kontroly rezíduí, boli zistené nevyhovujúce nálezy v 5 vzorkách. Rezíduá chlórpyrifosmetylu, ktorý patrí do skupiny látok B3b, boli zachytené v 1 vzorke krmiva pre ošípané, rezíduá mykotoxínu DON zo skupiny B3d boli zachytené v jednej vzorke krmiva určeného taktiež pre ošípané. V obidvoch prípadoch boli nariadené odbery suspektných vzoriek. 3 nevyhovujúce vzorky pitnej vody boli z dôvodu zistenia rezíduí železa. Napájacia voda bola v jednom prípade určená pre hovädzí dobytok, v jednom prípade pre ošípané a v poslednom prípade pre hydinu. Taktiež boli nariadené odbery suspektných vzoriek a rekonštrukcia potrubného systému.

V roku 2005 bolo analyzovaných **4 033 vzoriek** odobratých od živých zvierat na farme, zabitých zvierat na bitúnkoch, zo živočíšnych surovín a z krmív a napájacej vody pre zvieratá a rezíduá cudzorodých látok boli zachytené v 30-tich vzorkách, čo znamená, že požiadavkám legislatívy nevyhovovalo 0,74 % úradne odobratých vzoriek. **V roku 2004** bolo rámci Národného plánu kontroly rezíduí analyzovaných **4 584 vzoriek**, ktoré boli odobraté zo živých zvierat na farme, zabitých zvierat na bitúnkoch a zo živočíšnych surovín. Z tohto celkového počtu 4 584 úradne odobratých vzoriek boli rezíduá cudzorodých látok zachytené v 14-ich vzorkách, čo znamená, že požiadavkám legislatívy nevyhovovalo 0,3 % odobratých vzoriek. Počet analyzovaných vzoriek bol v roku 2005 nižší oproti roku 2004, čo je dôsledkom zníženej produkcie živočíšnych surovín a nižšieho počtu zabíjaných zvierat na bitúnkoch v Slovenskej republike. Počet nevyhovujúcich nálezov v roku 2005 bol vyšší ako v roku 2004, pričom vzostup pozitívnych nálezov bol zaznamenaný v krmivách a napájacej vode pre zvieratá. Tieto údaje zobrazuje Graf č.1.



Pri kontrole rezíduí zakázaných látok patriacich do skupiny A bol v roku 2004 zistený iba pozitívny nález rezíduí nitroimidazolových metabolitov v slepačích vajciach. V roku 2005 neboli zachytené rezíduá nitroimidazolových metabolitov, čo nasvedčuje, že uložené veterinárne opatrenia a sprísnené kontroly zabezpečili, že v roku 2005 rezíduá týchto zakázaných látok neboli zistené.

Diskusia

V roku 2005 boli zo skupiny A zistené pozitívne nálezy rezíduí chloramfenikolu u brojlerových kurčiat a v surovom kravskom mlieku. Z dôvodu výskytu rezíduí chloramfenikolu, budú v roku 2006 navýšené počty odberov vzoriek a sprísnené ciele kontroly. Pri kontrole rezíduí látok patriacich do skupín B1, B2 a B3 boli zistené pozitívne nálezy aj v roku 2004 a aj v roku 2005. Neustály výskyt rezíduí látok zo skupiny B1, kde patria antibakteriálne látky vrátane sulfónamidov a chinolínov poukazuje v niektorých prípadoch na nedodržovanie ochranných lehôt veterinárnych liekov, pričom v prípade, keď bola ochranná lehota dodržaná a rezíduá boli predsa len zistené, poukazuje nám tento nález na nežiadúci účinok lieku, prípadne individuálne narušený metabolizmus zvierat. Rezíduá látok patriacich do skupiny B2 neboli zistené v roku 2004 a ani v roku 2005. V roku 2004 boli zistené rezíduá látok patriacich do skupiny B3a v surovom ovčom mlieku a rezíduá látok patriacich do skupiny B3c vo svalovine divej zveri. Oproti roku 2004 bolo v roku 2005 zistených viac pozitívnych nálezov rezíduí látok patriacich do skupiny B3. V roku 2005 boli zistené pozitívne nálezy rezíduí látok patriacich do skupiny B3b v krmive, do skupiny B3c vo vnútorných orgánoch hovädzieho dobytku, vo svalovine divej zveri a v troch prípadoch napájacej vody pre zvieratá. Pozitívny nález mykotoxínu DON patriaceho do skupiny B3d bol zistený v krmive a rezíduá malachitovej zelenej zaradenej do skupiny B3e boli zistené vo svalovine pstruha.

V každom prípade nálezu rezíduí cudzorodých látok veterinárni inšpektori regionálnych veterinárnych a potravinových správ nariadili bezodkladné vykonanie opatrení podľa platnej legislatívy, vykonali šetrenie príčin nálezu rezíduí a tiež nariadili výkon opatrení na zabránenie prieniku rezíduí do potravinového reťazca. Na účinnosť opatrení poukazuje aj zmena výskytu rezíduí v porovnaní s predchádzajúcim rokom.

Záver

Nemenným a stále prvoradým cieľom kontroly rezíduí cudzorodých látok v živých zvieratách, v produktoch živočíšneho pôvodu, v produktoch rastlinného pôvodu a v potravinách je zabezpečiť najvyššiu úroveň ochrany zdravia spotrebiteľa. Výsledky z Národného plánu kontroly rezíduí poukazujú na prípadné cesty prieniku cudzorodých látok do potravinového reťazca a následné nariadené opatrenia príslušnými orgánmi veterinárnej a potravinovej správy sú zamerané na zamedzenie ich prieniku.

Literatúra u autorov

VPLYV EXPERIMENTÁLNEHO PODANIA NIKLU NA UKAZOVATELE MINERÁLNEHO METABOLIZMU NOSNÍC

EFFECT OF EXPERIMENTAL ADMINISTRATION OF NICKEL ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF POULTRY

Capcarová, M., Massányi, P., Kalafová, A., Lukáč, N., Schneidgenová, M., Arpášová, H., Kolesárová, A., Kováčik, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

Trace elements are elements, which are in low concentrations in agroecosystems. Some of them are important for plants and some are important also for human and animals. Some trace elements are considered as contaminants, for example nickel. The aim of experiment was to find out the effect of nickel administered in various concentrations in water on some biochemical parameters of hens. The hens of crossbred Isa brown were divided to four groups (Control, P1, P2, P3). Animals were fed with feed mixture HYD 10 *ad libitum*, and we added nickel to the water for hens of P1, P2 and P3 groups in following concentrations (0.02 g/l, 0.2 g/l and 2 g/l). In blood serum some biochemical parameters (calcium, phosphorus, sodium, potassium and magnesium) were analyzed using automatic biochemical analyzer Microlab 300. In blood serum of control group following values were measured: calcium 6.23-6.79 mmol.l⁻¹, phosphorus 1.84-2.39 mmol.l⁻¹, magnesium 0.27-1.99 mmol.l⁻¹, sodium 146-151 mmol.l⁻¹ and potassium 4.20-4.85 mmol.l⁻¹. The influence of nickel was significant in group with the highest concentration of nickel (P3).

Kľúčové slová: nikel, nosnice, vápnik, fosfor, horčík, sodík, draslík

Úvod

Rozvoj priemyslu a poľnohospodárstva má za následok reorganizáciu prvkov v potravinovom reťazci. Niektoré kovy sú nepostrádateľné pre život, iné majú neznáme biologické funkcie, ďalšie priaznivé či toxické účinky a niektoré z nich spôsobujú vážne ochorenia. A práve tieto sa kumulujú v tele človeka cez potravinový reťazec, vodu a ovzdušie (Rous a Jelínek, 2000; Dip et al. 2001). Rozvoj priemyslu a poľnohospodárstva spôsobuje infiltráciu rôznych elementov v potravinovom reťazci. To zvyšuje nerovnú distribúciu esenciálnych elementov v tele zvierat a mení ich interakcie (Bíreš et al., 1991; Bíreš et al., 1997). K vstupu najdôležitejších toxických prvkov do potravinového reťazca prispieva celý rad antropogénnych i prirodzených zdrojov (Nad' et al., 2005). Množstvo elementu, ktorý sa akumuluje v tele zvierat'a, závisí na intervale expozície, pozitívneho množstva, produkčnej a reprodukčnej fázy zvierat'a ako aj od veku a plemena (Bíreš et al., 1991).

Nikel je esenciálny element pre najmenej niekoľko druhov zvierat. Je to strieborno-biely kov. Hlavnými zdrojmi niklu sú pitná voda a potraviny. Štúdie na niektorých zvieratách poukazujú na súvislosť s nízkym množstvom niklu a depresiou rastu, redukciou reprodukčnej intenzity a alteráciou v sérových lipidoch a glukóze (Barceloux a Barceloux, 1999). Nikel je toxický prvok. Zlúčeniny dvojmocného niklu sú kancerogénne ako pre zvieratá, tak aj pre ľudí (Prokeš et al., 2005).

Nikel je považovaný za slabý karcinogén. Je známe, že môže určitým spôsobom ovplyvňovať DNA a proteíny podieľajúce sa na vytváraní DNA (Matkar et al., 2006). Existujú niektoré epidemiologické štúdie, ktoré dokazujú vzrastajúce riziko rakoviny v súvislosti s expozíciou kovového niklu (Barceloux a Barceloux, 1999). Tanojo et al. (2001) a Hostýnek

et al. (2001) uvádzajú bežné prípady kožných alergických reakcií po kontakte s niklom. Ohashi et al. (2006) zistil, že v moči bežnej populácie žien v Japonsku sa nachádza 2,1 g/l niklu.

Obone et al. (1999) nezistili žiadne poškodenia DNA v pečeni a obličkách po experimentálnom podaní niklu ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) v množstve 0,1% do pitnej vody. Autori však pozorovali signifikantný pokles plazmových proteínov a poškodenia pľúc. Poradie bioakumulácie sledovaného kovu v jednotlivých orgánoch zvierat bolo: obličky>semenníky>pľúca>mozog>slezina>srdce>pečeň.

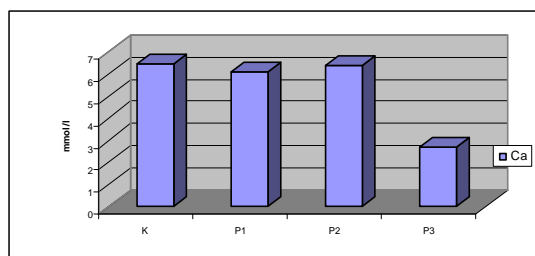
Do krmív pre hydinu sa v snahe znížiť chorobnosť často pridávajú stopové prvky. Avšak niektoré z nich sú toxické pre organizmus v prípade nadmerného podávania. V bežnom krmive pre brojlerove kurčatá sa množstvo niklu pohybovalo v rozmedzí 0,2-25,1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Kpombekou et al., 2002).

Materiál a metodika

Do experimentu bolo zaradených 20 nosníc Isa brown. Nosnice boli rozdelené do štyroch skupín K – kontrolná a pokusné skupiny P1, P2 a P3. Nosnice boli kŕmené kŕmnom zmesou HYD 10 *ad libitum*, pričom nosniciam pokusných skupín bol podaný do pitnej vody nikel v rôznych koncentráciách. V skupine P1 to bola koncentrácia 0,02 g/l, v skupine P2 0,2 g/l a v skupine P3 2 g/l. Nosnice boli umiestnené v trojetážovej kletkovej batérii. V 9. mesiaci znášky bola nosniciam odobratá krv – makrometódou (nasávanie do injekčnej striekačky). Zo vzoriek krvi sme separovali krvné sérum centrifugáciou pri otáčkach 3000/min. po dobu 30 minút. V krvnom sére sme stanovili jednotlivé biochemické ukazovatele: vápnik, fosfor, glukóza a cholesterol. Biochemické parametre boli zisťované použitím automatického klinického analyzátora Microlab 300.

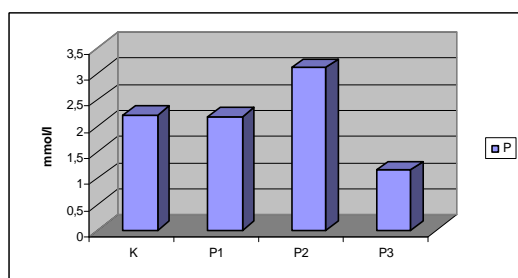
Výsledky a diskusia

Graf 1. Vplyv niklu na obsah vápnika v krvnom sére nosníc



Množstvo vápnika sa v kontrolnej skupine pohybovalo v rozmedzí od 6,23 do 6,79 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ s priemernou hodnotou 6,47 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Graf 1). Podobné hodnoty dosiahli Atencio et al. (2005). Podľa Kollárovej et al. (1996) počas znášky sa hodnoty vápnika v krvnom sére sliepok zvyšujú nad 5 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, čo korešpondovalo s našimi výsledkami. Nižšie hodnoty sme pozorovali v skupine P1 – 6,12 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (5,90-6,28 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). V skupine P2 obsah vápnika kolísal od 5,44 do 7,01 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ s priemernou hodnotou 6,42 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Signifikantný pokles obsahu sledovaného parametra sme pozorovali v skupine P3, a to 2,19-3,65 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ s priemernou hodnotou 2,70 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Prídavok niklu mal na obsah sledovaného ukazovateľa najväčší vplyv v skupine P3.

Ako prezentuje Graf 2, obsah fosforu sa v skupine bez prídavku niklu pohyboval v rozmedzí od 1,84 do 2,39 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ s priemernou hodnotou 2,21 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Podobné výsledky prezentujú Kyselovič et al. (2000) a Svobodová et al. (1996). Rovnaké výsledky sme dosiahli v skupine P1, kde obsah daného ukazovateľa sa pohyboval od 1,89 do 2,65 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ s priemernou hodnotou 2,18 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

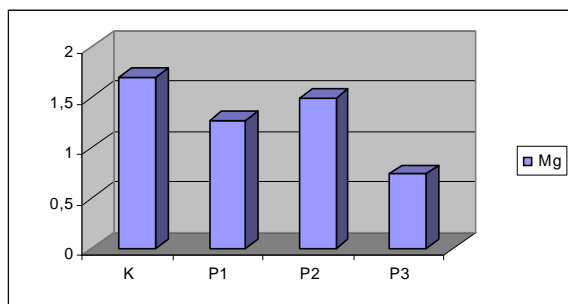


Graf 2. Vplyv niklu na obsah fosforu v krvnom sére nosníc

Prídavok niklu v množstve 0,02g/l vody nevplýval na množstvo fosforu v krvnom sére nosníc. Pri prídavku niklu v množstve 0,2 g/l spôsobil

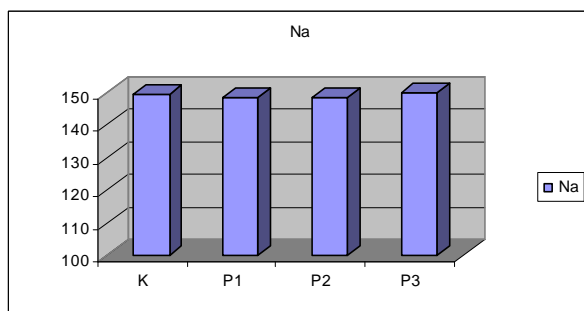
zvýšenie množstva fosforu v krvnom sére na hodnotu $3,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($1,62\text{-}7,23 \text{ mmol.l}^{-1}$). Prídavok niklu v množstve 2 g/l spôsobil naopak preukazné zníženie hodnôt. V skupine P3 to boli hodnoty $0,83\text{-}1,88 \text{ mmol.l}^{-1}$ s priemernou hodnotou $1,16 \text{ mmol.l}^{-1}$.

Graf 3. Vplyv niklu na obsah horčíka v krvnom sére nosníc



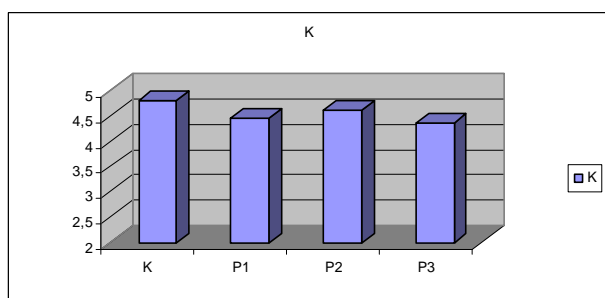
Obsah horčíka v kontrolnej skupine nosníc bol v rozmedzí $0,27\text{-}1,99 \text{ mmol.l}^{-1}$. Nižšie hodnoty sme namerali v ostatných skupinách. Prídavok niklu do pitnej vody znižoval koncentráciu horčíka v krvnom sére, pričom najvýraznejší preukazný vplyv bol v poslednej skupine s najvyššou koncentráciou niklu vo vode (Graf 3). Podobné hodnoty dosiahli Atencio et al. (2005)

Graf 4. Vplyv niklu na obsah sodíka v krvnom sére nosníc



V prípade ďalšieho sledovaného ukazovateľa – sodíka (Graf 4), sme zaznamenali v kontrolnej skupine hodnoty od 148 do 151 mmol.l^{-1} s priemernou hodnotou $149,50 \text{ mmol.l}^{-1}$. V ďalších dvoch skupinách P1 a P2 došlo k zníženiu jeho hodnôt ($148,50 \text{ mmol.l}^{-1}$). Naopak, v poslednej P3 skupine sme zistili nárast sodíka v krvnom sére sliepok na hodnotu 150 mmol.l^{-1} .

Graf 5. Vplyv niklu na obsah draslíka v krvnom sére nosníc



Obsah draslíka bol vo všetkých sledovaných skupinách pomerne vyrovnaný (Graf 5) a jeho hodnoty sa pohybovali od $4,70$ do $4,85 \text{ mmol.l}^{-1}$. Najvyšší obsah bol v kontrolnej skupine v ostatných skupinách sme zaznamenali nižšie hodnoty.

Záver

Niektoré stopové prvky sú dôležité pre rastliny, niektoré sú dôležité aj pre zvieratá a ľudí a niektoré stopové prvky, kde patrí aj nikel, sú často považované za kontaminanty. Počas nášho experimentu sme sledovali vplyv niklu, podaného v rôznych koncentráciách ($0,02 \text{ g/l}$, $0,2 \text{ g/l}$ a 2 g/l) do pitnej vody nosníciam, na minerálne ukazovatele krvnej plazmy nosníc. Nikel v koncentrácii 2 g/l mal najvýraznejší vplyv na niektoré biochemické ukazovatele. Zaznamenali sme výrazný pokles vápnika, fosforu, horčíka a draslíka v krvnom sére nosníc. V prípade sodíka sme dospeli k opačnému záveru, jeho množstvo bolo v poslednej skupine najvyššie.

Literatúra

1. Atencio A, Edwards HM Jr, Pesti GM. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler breeder hen diets on the performance and bone abnormalities of the progeny fed diets containing various levels of calcium or 25-hydroxycholecalciferol. *Poult Sci.*, roč. 84, 2005, č. 10, s. 1593-1603
2. Barceloux, D.G., Barceloux, D. Nickel. *Journal of Toxicology: Clinical toxicology.* roč. 37, 1999, č. 2, s. 239-258.
3. Bíreš, J., Kováč, G., Vrzhula, L. Mineral profile of serum in experimental copper intoxication of sheep from industrial emissions. *Vet Hum Toxicol.*, 1991, č. 33, s. 489-491.
4. Bíreš, J., Bartko, P., Huska, M., Bírešová, M. Distribution of risk elements in the organism of sheep after industrial intoxication with zinc. *Spectroscopy Lett.*, 1997, č. 30, s. 1263-1277.
5. Dip, R., Stieger, C., Deplazes, P. et al. 2001. Comparison of heavy metal concentrations in tissues of red foxes from adjacent urban, suburban, and rural areas. In: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2001, č. 40, s. 55-556.
6. Elkin RG, Zhong Y, Donkin SS, Hengstschlager-Ottndad E, Schneider WJ. Effects of atorvastatin on lipid metabolism in normolipidemic and hereditary hyperlipidemic, non-laying hens. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.*, roč. 143, 2006, č. 3, S. 319-329.
7. Hostýnek, J. J., Dreher, F., Pelosi, A., Anigbogu, A., Maibach, H. I. Human stratum corneum penetration by nickel. *Acta Dermato-Venereologica*, roč. 81, 2001, č. 212, s. 5-10.
8. Chowdhury SR, Sarker DK, Chowdhury SD, Smith TK, Roy PK, Wahid MA. Effects of dietary tamarind on cholesterol metabolism in laying hens. *Poult Sci.*, roč. 84, 2005, č. 1, s. 56-60.
9. Karlson, P., Gerok, W., Gross, W. *Pathobiochemie*. Praha : Academia, 1988, s. 50-91.
10. Kollárová, E., Kováčik, J., Genčiová, K. *Fyziológia neprežúvavcov*. Nitra : SPU, 1996. 72 s. ISBN 80-7137-284-6.
11. Kpombrekou, K., Ankumah, R. O., Ajwa, H. A. Trace and nontrace element contents of broiler litter. *Communication in Soil Science and Plant Analysis.* roč. 33, 2002, č. 11-12, s. 1799-1811.
12. Kurtoglu V, Kurtoglu F, Seker E, Coskun B, Balevi T, Polat ES. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Addit Contam.* roč. 21, 2004, č. 9, s. 817-823.
13. Kyselovič, J., Chmelničná, L., Weis, J. et al. Charakteristika biochemických ukazovateľov v krvnom sére hydiny. *Celoslovenský seminár z fyziológie živočíchov*. Nitra : SPU, 2000, s. 88-89.
14. Matkar, S.S., Wrischnik, L.A., Jones, P. R., Hellmann-Blumberg, U. Two closely related nickel complexes have different effects on DNA damage and cell viability. *Biochem Biophys Res Commun.*, roč. 343, 2006, č. 3, s. 754-761.
15. Nad', P., Skalická, M., Koréneková, B., Maršalková, S., Pisl, J., Šutiaková, I., Cigánková, V. Eliminácia účinku ťažkých kovov na kvalitu živočíšnych produktov a zdravie hospodárskych zvierat. *Kvalita, bezpečnosť a funkčnosť primárnych potravinových zdrojov*, Piešťany : VÚRV, 2005, s. 59-61. ISBN 80-88790-41-7.
16. Obone, E., Chakrabarti, S.K., Bai, Ch., Malick, M.A., Lamontagne, L., Subramanian, K.S. Toxicity and bioaccumulation of nickel sulfate in sprague-dawley rats following 13 weeks of subchronic exposure. *Journal of Toxicity and Environmental Health A*, roč. 57, 1999, č. 6, s. 379-401.

17. Ohashi, F., Fukui, Y., Takada, S., Moriguchi, J., Ezaki, T., Ikeda, M. Reference values for cobalt, copper, manganese, and nickel in urine among women of general population in Japan. *Int Arch Occup Environ Health.*, 2006, v tlači
18. Prokeš, J. et al. *Základy toxikologie*. Praha : Galen, 2005. ISBN 80-7262-301-X. 247 s.
19. Rous, P., Jelínek, P. 2000. The effect of increased soil contamination with heavy metals on their content in some rabbit tissues. In. *Cz. J. Animal Sci.*, 2000, č. 45, s. 319-324.
20. Sahin K, Kucuk O. A simple way to reduce heat stress in laying hens as judged by egg laying, body weight gain and biochemical parameters. *Acta Vet Hung.* roč. 49, 2001, č. 4, s. 421-430.
21. Svobodová, J., Jelínek, P., Kalová, J. et al. Minerální profil krve a kostí kuřic a slepic. *Agronomická fakulta a vývoj poľnohospodárstva na Slovensku*. Nitra : SPU, 1996, s. 104-106.
22. Tanojo, H., Hostýnek, J. J., Mountford, H. S., Maibach, H. I. In vitro permeation of nickel salts through human stratum corneum. *Acta Dermato-Venereologica*, roč. 81, 2001, č. 212, s. 19-23.
23. Webster AB. Physiology and behavior of the hen during induced molt. *Poult Sci.* roč. 82, 2003, č. 6, s. 992-1002.

VPLYV KADMIA NA ŠTRUKTÚRU DUODENA, OBLIČIEK A SEMENNÍKOV JAPONSKEJ PREPELICE

THE EFFECT OF CADMIUM ON THE STRUCTURE OF DUODENUM, KIDNEY AND TESTES IN JAPANESE QUIL

Cigánková, V., Nad', P., Skalická, M., Koréneková, B., *Massányi, P.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice, *Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstract

Studies were carried out to observe microscopical and macroscopical pictures of the duodenum, renal tissue and testes in Japanese quails that were administered cadmium (cadmium chloride) dissolved in water at a dose of 0,24 mg Cd per head and day for 57 and 118 days. Examination of duodenal mucosa by light microscopy showed no marked morphological changes. Necrotic changes in enterocytes were observed in the apical part of intestinal villi indicating physiological replacement of these structures with relatively short lifespan. The mucin-producing goblet cells had normal structure. More pronounced morphological changes were observed in all enterocytes using transmission electron microscopy. Their mitochondria were damaged and the cytoplasm contained flocculent material. However, no morphological damage to microvilli and tight intercellular connections between enterocytes was observed. Accumulation of cadmium in the renal tissue results in its marked damage. The macroscopically altered tissue was dark red and had watery consistence. Microscopical examination showed that the structure of individual renal components - renal corpuscles and tubules of proximal and distal segments was damaged. Damage occurred also in the interstitial zone which was extended and fibrotic. Due to the damage of blood vessels blood from the bloodstream poured to the interstitium. On the cellular level one could observe changes in the nucleus and cellular organelles, mitochondria were inflated even disintegrated and endoplasmic reticulum cisternae were dilated. Necrotic irreversible changes were observed resulting in renal failure. The aim of our study was to observe chronic effects of cadmium on testes tissue and to identify its influence on spermatogenesis by means of light and transmission electron microscopy. Morphological changes in testes were studied and described and the mechanism responsible for damage to individual testes cells was suggested. Evaluation of the influence of cadmium allows us to conclude that this element causes chemical castration of males.

Úvod

Kadmium je vysoko toxický a nebezpečný kontaminant prostredia a jeho výskyt životnom prostredí človeka aj zvierat je stále aktuálnym problémom. Neustále stúpa množstvo nových druhov zdrojov tohoto ťažkého kovu. Jeho nebezpečie spočíva v tom, že má tendenciu akumulovať sa v organizme, najmä v pečeni a obličkách, reprodukčné orgány nevynímajúc a má veľmi dlhý čas rozpadu. Pri perorálnom prijímaní sa len v malej miere vstrebáva v dutine ústnej a v žalúdku (Ewers a Schlipkötter, 1991). Avšak ľahko sa vstrebáva a koncentruje v črevnej stene, najmä v duodene, menej v jejune a ileu (Elsenhans a kol. 1999). Črevný jednovrstvový epitel je teda prvou bariérou pre prijatie kadmia. Podľa Duizera a kol. (1999) kadmium narúša spojenie buniek sliznice čreva a tým sa prestup kadmia cez stenu tráviaceho aparátu zvyšuje. Primárnym miestom pôsobenia kadmia sú biologické membrány, pretože kation kadmia ľahko reaguje s membránovými fosfolipidmi (Sokol a kol., 1998). Je schopné preniknúť do vnútra bunky a tu narušiť syntézu nukleových kyselín, čo je podstatou jeho mutagénneho účinku, chromozómových aberácií, karcinogénnych a teratogénnych účinkov a nekróz.

Napriek dlhoročnému výskumu účinku kadmia na živočíšny organizmus sa nepodarilo jednoznačne stanoviť presný mechanizmus vplyvu na jednotlivé orgány. Pre poznanie mechanizmu účinku kadmia je potrebné využívať metódy elektrónovej mikroskopie na skúmanie príznakov poškodenia buniek a ich organel. Touto metódou možno presne určiť miesto a rozsah kde škodlivá látka pôsobí a potom sa biochemickými metódami určí akým spôsobom došlo k poškodeniu a ktoré články metabolizmu bunky sú ovplyvnené.

V práci sme študovali mikroskopický a submikroskopický obraz tenkého čreva – duodena, obličiek a semenníkov japonských prepelíc (*Coturnix coturnix japonica*), ktorým sme dlhodoboperorálne podávali kadmium (chlorid kademnatý) rozpustený vo vode v dávke 0,24 mg Cd / kus /deň. Cieľom nášho pozorovania bolo študovať morfológické zmeny v jednotlivých tkanivách a zistiť mechanizmus akým dochádza ku poškodeniu jednotlivých orgánov.

Materiál a metodika

Do pokusu bolo zaradených 10 kontrolných a 20 pokusných Japonských prepelíc. Pokusným 5 týždňovým prepeliciam sme po dobu 57 a 118 dní každý deň pravidelne podávali CdCl₂ rozpustený vo vode v dávke 0,24 mg Cd na kus a deň, čo predstavovalo 12 násobok prípustnej dávky na kg kŕmnej zmesi. Zvieratá sme dekapitovali a odobrali vzorky duodena, obličiek a semenníkov na histologické vyšetrenie. Na svetelnú mikroskopiu sme odobraté vzorky fixovali v 4% neutrálnom formole, zaliali do parafínu a rezy ofarbili hematoxylín-eozínom. Na transmisnú elektrónovú mikroskopiu boli excízy fixované v 3% glutaraldehyde v 0,1M fosfátovom pufrí, postfixované 1% OsO₄, odvodnené v acetone a propylenoxide a zaliate do Durcupanu. Ultratenké rezy kontrastované metódou podľa Reynoldsa (1963) sme vyšetrovali na transmisnom elektrónovom mikroskope Tesla BS 500. Poloténkové rezy sme ofarbili toluidinovou modrou, vyšetrovali a fotografovali na mikroskope Jenamed.

Výsledky a diskusia

Tkanivo tenkého čreva – duodena experimentálnych zvierat po dlhodobom perorálnom podávaní kadmia nebolo makroskopicky zmenené. Pozorovaním poloténkových rezov svetelným mikroskopom sme tiež nezistili výraznejšie mikroskopické zmeny. V apikálnej časti črevných klkov sme nachádzali jednotlivo alebo častejšie v skupinkách odumierajúce enterocyty, ktoré svedčia o fyziologickej obmene enterocytov. Tieto všeobecne majú pomerne krátku životnosť. Pohárikové bunky, ktoré vylučujú mucín mali normálnu štruktúru a nachádzali sa pomerne rovnomerne rozptýlené v epitelovej výstelke čreva. Výraznejšie morfológické zmeny sme nezistili ani v štruktúre črevných krýpt. Avšak transmisným elektrónovým mikroskopom sme vo všetkých enterocytoch zistili zmeny v submikroskopickej štruktúre enterocytov. Všetky bunky mali poškodené mitochondrie a v cytoplazme, najmä v ich bazálnej časti sa nachádzal vločkovitý materiál. Opísané zmeny na mitochondriách zrejme súvisia s priamym pôsobením absorbovaného kadmia na biologické membrány a potvrdzujú tvrdenie Sokola a kol.(1998). Avšak pevné medzibunkové spojenia medzi enterocytmi typu zonula adherens, zonula occludens a interdigitácie neboli morfológicky porušené. Naše morfológické nálezy teda nepotvrdili zmeny na pevných medzibunkových spojeniach, hoci Druizer a kol.(1999) práve tieto považujú za prvoradú príčinu pri zvýšenej absorpcii kadmia. Pozorovania uvedených autorou však boli robené in vitro na úrovni molekulovej a nie morfológickej. Podobne ani mikrokľky na apikálnom povrchu enterocytov nevykazovali morfológické známky poškodenia. Predpokladáme, že prítomnosť vločkovitého materiálu v cytoplazme enterocytov môže súvisieť s produkciou metalotionéínu, ktorý má schopnosť naviazať kovy, teda aj kadmium a

takto ho kumulovať v bunkách enterocytov. Elsenhans a kol. (1997) uvádzajú, že nízke dávky perorálne podaného kadmia indukujú tvorbu intestinálneho metalotioneínu a kadmium metalotioneínových komplexov, ktoré sú zodpovedné za postupnú akumuláciu kadmia v obličkách najmä pri chronických intoxikáciách.

Tkanivo obličiek experimentálnych zvierat bolo už makroskopicky zmenené. Obličky boli tmavočervenej farby a mali mierne rozbredlú konzistenciu. Pri dlhodobom perorálnom podávaní kadmia vznikajú v parenchýme obličiek nekrotické zmeny. Dochádza k narušeniu štruktúry jednotlivých zložiek nefrónu – obličkových teliesok a kanálikov proximálneho aj distálneho segmentu. K poškodeniu dochádza aj v oblasti interstícia, ktoré je rozšírené a fibrotické. Poškodenie stien krvných ciev spôsobuje, že krv sa z krvného riečišťa vylieva do interstícia. Na úrovni buniek možno pozorovať zmeny na jadre a bunkových organelách, mitochondrie sú nafúknuté až rozpadnuté a dilatované sú aj cisterny endoplazmatického retikula.

Semenníky predstavujú špecifický orgán, ktorý všeobecne veľmi citlivo reaguje na pôsobenie škodlivej fyzikálnej alebo chemickej noxy, teda aj kadmia. Spôsobuje poruchy reprodukcie, pretože vyvoláva poruchy spermatogenézy, ktoré v závislosti od dávky a dĺžky prijímania vedú ku vzniku subfertility až infertility. Údaje o chronickom účinku kadmia na semenníky u rôznych druhov zvierat sú zriedkavé a často protichodné. Väčšina štúdií bolo robených na myšiach, potkanoch a králikoch. U vtákov sa tejto problematike venovalo menej pozornosti a získané poznatky u cicavcov nemožno zovšeobecniť, nakoľko sú tu aj výrazné rozdiely, napríklad v uložení a krvení semenníkov. Po 118 dňovom perorálnom podávaní kadmia sme makroskopicky nezaznamenali žiadne výraznejšie odchýlky oproti kontrole, čo sa týka tvaru, veľkosti a sfarbenia semenníkov. Subjektívnym posúdením mikroskopických preparátov sme zaznamenali mierne zhrubnutie tunica albuginea. Avšak mikroskopicky sme zistili zaujímavé zmeny. Semenotvorné kanáliky, ktoré sa nachádzali v centre semenníka v blízkosti rete testis mali takmer normálnu štruktúru. Na priečnom reze boli nepravidelného polygonálneho tvaru a nachádzali sa v nich Sertolihio bunky a všetky vývojové štádiá pohlavných buniek, vrátane spermíí. V semenotvornom epiteli sa nachádzali len ojedinelé prázdne miesta po degenerovaných odlúpnutých bunkách. Avšak semenotvorné kanáliky na periférii semenníka pod tunica albuginea javili výrazné známky poškodenia. Boli nepravidelného polygonálneho tvaru, stena kanálika bola mierne zvltnená. Najviac boli poškodené spermatogónie a spermatocyty, došlo k ich degenerácii a následnej deplécii. Odlúpnuté odumreté bunky sa nachádzali v lúmene semenotvorných kanálikov a zostali po nich len prázdne miesta. Sertolihio bunky, ktoré sa nachádzajú v blízkosti bazálnej membrány neboli výraznejšie poškodené. Leydigove bunky, fibrocyty, krvné a lymfatické cievy v interstíciu boli prítomné a nejavili výraznejšie známky poškodenia. V submikroskopickej štruktúre buniek z povrchovo ležiacich semenotvorných kanálikov sme pozorovali výrazné morfológické zmeny. Najviac boli poškodené spermatogónie, ktoré sa nachádzajú v blízkosti steny semenotvorného kanálika a intenzívne sa mitoticky delia. Zaznamenali sme zmeny na jadre, rozpadnuté mitochondrie a ostatné bunkové organely a výraznú vakuolizáciu cytoplazmy. Avšak spermatogónie A_0 , ktoré sú pomerne malé a málo diferencované a všeobecne sú považované za tzv. kmeňové bunky neboli poškodené. Výrazné známky poškodenia sme zaznamenali aj na spermatocytoch. Mali poškodené jadro a výrazne svetlú- elektrónlucentnú cytoplazmu v ktorej sa nachádzali zbytky degenerovaných organel. Sertolihio bunky – sustentocyty, ktoré sú považované za podporné bunky, nejavili morfológicky výraznejšie známky poškodenia. Boli vysoké, cylindrického tvaru s oválnym jadrom uloženým v blízkosti lamina basalis a v cytoplazme mali nepoškodené bunkové organely. Leydigove bunky v interstíciu obsahovali v cytoplazme v porovnaní s kontrolou početné tukové kvapôčky. Tieto často splývali a vypĺňali väčšinu buniek. Jadro a bunkové organely nemali poškodené. Ich prítomnosť svedčí o inhibícii produkcie testosterónu.. Spermatogenéza však môže prebiehať,

pretože spermatogónie A₀ – kmeňové bunky a Sertolihovy bunky sú voči účinku kadmia pomerne rezistentné.

Po aplikácii kadmia degeneráciu a nekrózu semenotvorného epitelu po predchádzajúcich edematózných a hemoragických zmenách u potkanov a králikov popísali Massányi a kol. (1991) a Toman a kol. (2002a, b). Zistili, že v akútnej fáze po aplikácii kadmia došlo k poškodeniu ciev v semenníkoch, rozpadu erytrocytov a vzniku hemorágií. Zastavenie prívodu živín a kyslíka k bunkám semenotvorného epitelu má za následok degeneráciu a odumieranie buniek semenotvorného epitelu. Najprv odumierajú spermatogónie, ktoré sa javia ako najcitlivejšie na sekundárne účinky kadmia, až potom spermatocyty, spermatídy, spermie a ostatné bunky semenníka. Aj Francavilla a kol. (1981) zistili degeneráciu semenotvorného epitelu, ktorú pripisujú ischemizácii mikrocirkulárneho systému. Degenerácia semenotvorného epitelu účinkom kadmia vzniká najmä v dôsledku ischemie, aj keď priamy účinok nie je vylúčený. Semenníkovou tepnou, ktorá prebieha v tunica albuginea sa kadmium dostáva najprv do semenotvorných kanálikov ležiacich pod ňou, čo vysvetľuje aj výraznejšie poškodenie buniek semenotvorného epitelu v povrchovo ležiacich semenotvorných kanálikoch. Tieto naše zistenia sú v súlade s pozorovaniami Massányiho a kol. (1991) a Tomana a kol. (2002 a, b), ktorý podobné morfológické zmeny opísali u potkanov a králikov. Nález zvýšeného množstva tukových kvapiek v cytoplazme Leydigových buniek svedčí o inhibícii produkcie testosterónu a tým aj zníženie libido sexualis. Kadmium vyvoláva v semenníkoch zvýšenú peroxidáciu tukov (Gun a Gould, 1970). Výrazné zmeny po aplikácii kadmia najmä v akútnej fáze na epitelu prisemenníka opísali Toman a Massányi (2000). Je nesporné, že kadmium okrem histologických zmien má za následok aj zmeny na úrovni cytogenetickej (Kropáčová a kol. 2000), podobne ako ionizujúce žiarenie (Staníková a kol., 2002). Nepriaznivo vplýva aj na kvalitu semena (Massányi a kol., 2000).

Napriek dlhoročnému výskumu účinku kadmia na živočíšny organizmus sa nepodarilo jednoznačne stanoviť presný mechanizmus vplyvu na jednotlivé orgány. Údaje o chronickom účinku kadmia na semenníky u rôznych druhov zvierat sú zriedkavé a často protichodné. Väčšina štúdií bolo robených na myšiach, potkanoch a králikoch. U vtákov sa tejto problematike venovalo menej pozornosti a získané poznatky u cicavcov nemožno zovšeobecniť, nakoľko sú tu aj výrazné rozdiely, napríklad v uložení a krvení semenníkov. Predpokladáme, že perorálne dlhodobo podávané kadmium sa po absorbovaní v črevách najprv naviaže na metalotionein a takto sa najprv kumuluje v cytoplazme enterocytov. Časť kadmia sa dostáva do krvi a viaže sa na krvné bunky, najmä erytrocyty. Takto sa kadmium dostáva do výdatne krvených orgánov, najmä obličiek (Kramárová a kol., 2005; Massányi a kol., 2003), ale aj pohlavných orgánov samcov aj samíc s následnými nepriaznivými účinkami na reprodukciu (Massányi 1996; Toman a Massányi 1997; Gunnarsson a kol., 2004; Toman a kol., 2005; Massányi a kol., 2005).

Literatúra

1. Duizer, E., Gilde, A. J., Versantvoort, Ch., Groten, J. P.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 155, 2, 1999, 117-126.
2. Elsenhans, B., Strugala, G. J., Schafer, S. G.: *Hum. Exp. Toxicol.*, 16, 8, 1997, 429-434.
3. Elsenhans, B., Hunder, G., Strugala, G., Schumann, K.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 3, 1999, 341-346.
4. Ewers, U., Schlipkötter, H. W.: *Chronic toxicity of metals and metal compounds*. In: Merian, E.: *Metals and their compounds in the environment*. Weinheim: VCH, 1991, 591-603.
5. Francavilla S., Moscardelli S., Francavilla F.: *Arch. Androl.*, 6, 1981, 1-11.

6. Gunnarsson, D., Svensson, M., Selstam, G., Nordberg, G.: *Toxicology*, 200, 1, 2004, 49-58.
7. Gunn S. A., Gould T. C.: Cadmium and other mineral elements. In: Johanson A. D., Gomes W. R., Vandemark N.L.: *The Testis*. London, Academic Press, 1970, pp. 377-481.
8. Kramárová, M., Massányi, P., Slamečka, J., Tartaruch, F., Jančová, A., Gašparík, J., Fabiš, M., Kováčik, J., Toman, R., Galová, J., Jurčík, R.: *J. Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, 40, 3, 2005, 593-600.
9. Kropáčová K., Mišúrová E., Kolesárová M.: Current trends in morphology, Košice June 2nd 2000, *Proceedings of international conference*, pp. 113-115.
10. Massányi P., Janovičová O., Bakitová Ľ., Paška J., Toman R.: *Pol'nohospodárstvo*, 37, 9 – 10, 1991, 830-847.
11. Massányi, P.: Nitra, VŠP, 1996, s.70, ISBN 80-7137-336-2.
12. Massányi P., Trandžík J., Lukáč N., Strapák P., Kováčik J., Toman R.: *Folia Vet.* 2000, 44, 150 - 153.
13. Massányi, P., Tartaruch, F., Slamečka, J., Toman, R., Jurík, R.: *J. Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, 38, 7, 2003, 1299-1309.
14. Massányi, P., Trandžík, J., Naď, P., Skalická, M., Koréneková, B., Lukáč, N., Fabiš, M., Toman, R.: *J. Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, 40, 5, 2005, 1097-1105.
15. Reynolds E. S.: *J. Cell. Biol.*, 17, 1963, 208-212.
16. Sokol, J., Uhrín, V., Massányi, P.: *Kadmium a jeho výskyt v organizmoch živočíchov*. Bratislava, ŠVS SR, ISBN 80-7148-022-3, 1998, s.116.
17. Staníková A., Pástorová B., Halagan J., Sopková D., Maraček I.: *Folia Veter.*, 46, 2, Suppl., 2002, 55-56.
18. Toman, R., Massányi, P.: *Štrukturálne zmeny semenníka a prisemenníka kráľíka po podaní kadmia*. Nitra, VŠP, 1997, s.83, ISBN 80-7137-420-2.
19. Toman R., Massányi P.: Current trends in morphology, Košice June 2nd 2000, *Proceedings of international conference*, pp.55-57.
20. Toman R., Massányi P., Uhrín V.: *Trace Elements and Electrolytes*, 19, 3, 2002a, 114-117.
21. Toman R., Massányi P., Lukáč N.: 5. Košický morfológický deň, Košice, 31. máj 2002b, *Zborník referátov*, 31-32.
22. Toman R.: *Reprodukčná toxicita kadmia u samcov a jeho kumulácia v organizme zvierat*. Habilitačná práca, SPU Nitra, 2002, s.96.
23. Toman, R., Massányi, P., Lukáč, N., Ducsay, L., Golian, J.: *Ecotoxicol Environ Saf.*, 62, 1, 2005, 112-117.

Práca bola riešená za podpory grantu ŠP 2003/SP 27/ 0280 OE 02/ 0208 OE 02

JAPONSKÁ PREPELICA AKO SÚČASŤ POTRAVOVÉHO REŤAZCA KOZMONAUTOV

JAPANESE QUAIL AS LINK OF THE FOOD CHAIN OF ASTRONAUTS

Cigánková, V., Zibrín, M., Holovská, K., Almášiová, V.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

The effect of short-term space conditions on the structure of selected organs and tissues of 3 Japanese quails, which had hatched on board of the MIR orbital station was investigated. Chicks were 4-5 old when landed. Eleven hours after landing 3 chicks were killed and samples were collected for light microscopical, electron microscopical and histochemical investigations. Three quails hatched on the Earth at the same time as the experimental ones, were used as the control. Both light and electron microscopy revealed massive deposits of lipid droplets in all the hepatocytes of all the flight chicks. Adipocytes, which were numerous in the bone marrow of the control chicks of the same age were not observed in the bone marrow. Our observations showed that microgravity during a brief space flight had no substantial effect on the structure and development of bones, lungs and kidneys of the flight chicks. Structural changes in liver, bone marrow and duodenum were probably caused by a decreased food intake and are reversible. A significant accumulation of lipid droplets, which were much more larger compared to the control, was found in the cortical cells of adrenal glands. Accumulation of lipid droplets indicates a reduction in cholesterol transformation and impairment of steroidogenesis. Medullary chromophilic cells were not significantly damaged. We supposed that described morphological changes are reversible and probably originated due to the load effect which stressed the organism.

Úvod

Cieľom kozmickej biológie je zabezpečiť život aj za hranicami zemskej biosféry a dosiahnutie biologickej nezávislosti človeka od našej planéty. Úlohou kozmickej veterinárnej medicíny je starostlivosť o zdravie a produkciu zvierat v kozme v súvislosti s medziplanetárnymi letmi a dlhodobými pobytmi ľudí na planetárnych staniciach.

Limitujúcim prvkom pri dlhodobých pobytach v kozme je zásoba potravín, čiže je nevyhnutné získať základné potraviny z vlastných zdrojov. Na splnenie týchto zámerov je potrebné vytvorenie uzavretého autonómneho ekologického systému. Orbitálne stanice alebo kozmické lode s ľudskou posádkou určené pre dlhodobé pobyty v kozme predstavujú vlastne umelý uzavretý ekologický systém ako zjednodušený model zemskej biosféry, ktorý zabezpečí chod života na základe kolobehu CO₂, O₂, energie a organickej hmoty. Fungujúci uzavretý systém sa dosiahne jedine spojením autotrofných, heterotrofných organizmov a deštruktorov. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté s kultiváciou a využitím jednobunkových rias *Chlorella*. Rastlinné bielkoviny majú nedostatok esenciálnych aminokyselín obsahujúcich síru, lyzín a tryptofán a ich potreba sa dá zabezpečiť iba plnohodnotnou živočíšnou bielkovinou. Je preto nutné zapojiť do tohto uzavretého ekologického systému vhodné produkčné zviera. Pri výbere vhodného živočíšneho druhu sa zohľadňuje schopnosť čo najefektívnejšie konvertovať rastlinnú masu na živočíšne bielkoviny. Uprednostňuje sa druh s nízkou hmotnosťou tela, vysokou produkčnou a reprodukčnou schopnosťou, krátkym individuálnym vývojom, dobrou toleranciou na stiesnené podmienky a adaptabilitou na mikrogravitáciu. Najefektívnejšími

konvertormi rastlinnej biomasy na živočíšne bielkoviny v uzavretom ekosystéme sa javia byť úžitkoví vtáci. Spomedzi nich sa s ohľadom na všetky požiadavky najlepšie osvedčila japonská prepelica, ktorá veľmi dobre znáša stiesnené podmienky. Navyiac pôsobí aj ako prvok, ktorý vytvára psychologicky príjemnejšie prostredie pri dlhodobých pobytoch v kozme (Boďa, 1993).

Letec kozmonaut A. J. Solovjov počas svojich 5 expedícií v r. 1989-1998 na orbitálnej stanici MIR pracoval celkovo 677 dní. Uskutočnil experimenty kultivácie rastlín – zákrpkovej pšenice a šošovice v kozmickom skleníku. V rámci experimentu Inkubátor 1 bola sledovaná embryogenéza japonských prepelíc. Získal sa prioritný poznatok o možnosti vyliahnutia mláďat v podmienkach mikrogravitácie z vajíec znesených a oplodnených na zemi. Sledoval ich správanie do 4. dňa po vyliahnutí, kedy tieto normálne reagovali na zvukové a svetelné podnety, prijímali potravu vo forme pasty. Zmeny boli pozorované v motoricko-senzorickom správaní, prepelice sa nedokázali orientovať v danom prostredí, ich pohyby boli nekoordinované, odrážali sa od stien kabíny a otáčali horizontálnym alebo vertikálnym smerom. V ďalšom experimente v rámci projektu Inkubátor 2 s dospelými prepelicami sa okrem zmien v motoricko-senzorickom správaní zistili zmeny v pohlavnom správaní, prejavujúcom sa sexuálnou apatiou oboch pohlaví, čo zabránilo uskutočneniu kopulácie.

20. februára 1999 kozmická loď Sojuz vyniesla na orbitálnu stanicu MIR nášho kozmonauta Ing. Ivana Bellu spolu s ruskými a francúzskym kozmonautom. Projekt Prepelica SK-6 „Sledovanie vplyvu gravitácie na postembryonálny vývoj japonských prepelíc“ sa uskutočnil v rámci medzinárodnej spolupráce Ústavu lekárskebiologických problémov v Moskve, Ústavu biochémie a genetiky živočíchov v Ivánke pri Dunaji a našou Univerzitou veterinárskeho lekárstva. Prekonanie kritického štádia raného vývoja vyliahnutých prepelíc sa malo uskutočniť pomocou špeciálnej centrifúgy slovenskej proviencie. Vďaka nestorovi kozmickej veterinárnej biológie akademika Kolomana Boďu sme mali možnosť podieľať sa na výskume unikátneho materiálu z troch živých prepelíc, ktoré sa vyliahli v kozme.

Cieľom projektu bolo študovať vplyv letu, 7 dňového pobytu v kozme a pristátia na vývoj a štruktúru niektorých tkanív a orgánov japonskej prepelice.

Materiál a metodika

Vajíčka japonských prepelíc boli ešte na Zemi inkubované a krátko pred štartom boli v inkubátore prenesené do kozmickej lode Sojuz, ktorá ich vyniesla na orbitálnu stanicu MIR. V čase odletu boli 2-3 dni pred vyliahnutím. Na orbitálnej stanici sa zo 60 vajíčok vyliahlo 37 prepelíc o ktoré sa staral plk. Ivan Bella za pomoci celej kozmickej posádky. Pri návrate na Zem mali prepelice 4-5 dní. 11 hodín po pristátí boli od 3 prepelíc odobrané vzorky na svetelnú mikroskopiu, transmisnú elektrónovú mikroskopiu a histochemické vyšetrenia. Ako kontroly boli použité prepelice, ktoré sa vyliahli na Zemi v rovnakom čase ako experimentálne zvieratá.

Výsledky a diskusia

Najvýraznejšie morfológické zmeny sme pozorovali v pečeni, kostnej dreni, priečne pruhovanej kostrovej svalovine (*m. gastrocnemius*), duodene a nadobličkách u všetkých troch prepelíc, ktoré sa vyliahli v kozme a živé sa vrátili na Zem.

Svetelným mikroskopom sme zistili malokvapôčkovú tukovú degeneráciu pečene. Elektrónovým mikroskopom sme pozorovali v cypoplazme hepatocytov početné tukové kvapôčky, ostatné bunkové organely v pečenevých bunkách neboli zmenené. Z kostnej drene vymizli tukové bunky, ktoré sa pravidelne vyskytujú v kostnej dreni kontrolných zvierat (Zibrín a kol., 2000, 2001).

V duodene sme zaznamenali zvýšený výskyt odumierajúcich enterocytov, pohárikové bunky neboli poškodené (Cigánková a kol., 2000 a) a v duodene prepelíc z kozmu sme zistili mierne zvýšenú aktivitu alkalickéj fosfatázy oproti kontrole (Lenhardt a kol., 2001). Predpokladáme, že všetky opísané zmeny súvisia s nedostatočným prijímaním potravy v kozme. Aj keď posádka kozmickej stanice MIR vyvinula maximálne úsilie v kŕmení vyliahnutých prepelíc pastovitou potravou, zvieratá mali znížený príjem energeticky bohatej potravy s optimálnym obsahom bielkovín.

Akumuláciu lipidových kvapôčiek sme pozorovali aj v cytolpazme kortikálnych buniek nadobličiek u prepelíc z kozmu, zatiaľ čo v medulárnych chromofilných bunkách sme výraznejšie morfológické zmeny nenašli (Cigánková a kol., 2001 b).

Mikroskopická a submikroskopická štruktúra kostí, hyalínnej chrupky vyvíjajúcich sa kostí, pľúc a obličiek experimentálnych prepelíc bola normálna.

Vplyv bezváhového stavu a mikrogravitácie na štruktúru a funkciu rôznych tkanív a orgánov sledovali viacerí autori

Literatúra

1. Boďa K.: Acta Veter., Brno, 62, Suppl. 6, 1993, 91-94.
2. Cigánková V., Lenhardt L., Zibrín M., Kočišová J., Tomajková E., Sabo V., Boďa K., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Slov. Vet. Čas., 25, 4, 2000, 222-227.
3. Cigánková V., Lenhardt L., Zibrín M., Kočišová J., Tomajková E., Komorová T., Sabo V., Boďa K., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Folia Veter., 45, 1, Suppl., 2001 a, 27-31.
4. Cigánková V., Zibrín M., Kočišová J., Sabo V., Boďa K., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Folia Veter., 45, 1, Suppl., 2001 b, 36-40.
5. Lenhardt L., Cigánková V., Zibrín M., Kočišová J., Tomková I., Tomajková E., Sabo V., Boďa K., Sabo V., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Folia Veter., 45, 1, Suppl., 2001, 23-26.
6. Zibrín M., Cigánková V., Kočišová J., Tomajková E., Komorová T., Lenhardt L., Páleník L., Sabo V., Boďa K., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Slov. Vet. Čas., 25, 1, 2000, 41-46.
7. Zibrín M., Cigánková V., Kočišová J., Tomajková E., Komorová T., Lenhardt L., Boďa K., Sabo V., Dadaševa O.A., Gurieva T.S.: Folia Veter., 45, 1, Suppl., 2001, 17-22.

Práca bola riešená za podpory grantu VEGA 1/3495/06

BIOGÉNNE AMÍNY AKO CHEMICKÉ NEBEZPEČENSTVO

BIOGENIC AMINES AS CHEMICAL HAZARD

Dičáková, Z., Dudriková, E.

Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach

Abstract

Biogenic amines should be used as indicators of quality in food of animal origin. PUT a CAD in meat are suitable as indicators of freshness. Sum of CAD, PUT, HIS and TYR < 5 mg/kg index BA represents a high hygienic quality of meat, TYR is an indicator quality of long stored meat. Biogenic amines index could be used for estimating quality of fish and total biogenic amines concentration for cheese.

Biogénne kmíny ako zásadité nízkomolekulárne látky sú súčasťou fyziologického metabolizmu ľudí, zvierat, rastlín i mikroorganizmov. Napriek tomu, že sú to látky pre organizmus nepostrádateľné, vo zvýšených koncentráciách sú toxické a z potravinárskeho hľadiska ich možno zaradiť medzi endogénne cudzorodé látky. Medzi najdôležitejšie biogénne amíny patrí histamín, tyramín, putrescín a kadaverín. Tieto biogénne amíny vznikajú v priebehu technologického procesu výroby potravín. Vysoké hladiny biogénnych amínov sa často nachádzajú v potravinách ovplyvnených mikrobiálnou aktivitou počas zrenia a uskladnenia. Týka sa to rýb, mäsa, fermentovaných mäsových výrobkov, syra, kyslej kapusty alebo piva, v ktorých vznikajú biogénne amíny mikrobiálnou dekarboxyláciou z príslušných voľných aminokyselín. Nežiaduce účinky biogénnych amínov sa najčastejšie prejavujú ako potravinové ochorenia, a to najmä otravami po konzumácii niektorých rýb, prípadne syrov. Organizmus sa proti takýmto stavom bráni detoxikačným systémom na ktorom sa podieľajú enzýmy monoaminoxidáza (MAO) a diaminoxidáza (DAO). Zlyhanie činnosti týchto enzýmov môže byť spôsobené genetickými predispozíciami, gastrointestinálnymi chorobami alebo inhibítormi (lieky, alkohol, káva, čaj, fajčenie) alebo po skonzumovaní potraviny s vysokým obsahom biogénnych amínov.

Podľa literatúry môže otravu vyvolať 10 až 100 mg histamínu. Konzumácia potravín s obsahom histamínu nad 100 mg · kg⁻¹ spôsobuje stredné a nad 1000 závažné otravy. Tyramín v množstve 10 až 80 mg môže vyvolať toxický opuch a nad 100 mg môže spôsobiť migrénu. U pacientov užívajúcich lieky inhibujúce MAO môže 10-25 mg tyramínu spôsobiť vážne bolesti hlavy až vnútrolebečné hemorágie.

Na Slovensku sú najvyššie prípustné limity stanovené len pre histamín v rybách, a pre tyramín v tvrdých syroch (200 mg · kg⁻¹) (Potravinový kódex SR, 2004). Obsahy biogénnych amínov v iných potravinách nie sú limitované.

Príkladom pre vznik biogénnych amínov je zretie syrov, pri ktorom dochádza k postupnému uvoľňovaniu voľných aminokyselín z bielkoviny. Z nich pôsobením mikroorganizmov s dekarboxylačnou aktivitou vznikajú biogénne amíny. Hladiny biogénnych amínov v potravinách stúpajú aj počas skladovania výrobkov. Typickým príkladom v našich podmienkach môže byť bryndza, v ktorej sa zistil vysoký obsah tyramínu (52,4 – 410 mg.kg⁻¹). Takéto množstvo tyramínu môže byť pre niektorých konzumentov nebezpečné (napríklad pacienti užívajúcich lieky, ktoré sú inhibítormi MAO). Zdravotné problémy by mohla spôsobiť konzumácia viac ako 24,4 g bryndze s najvyšším zisteným obsahom tyramínu. Z hľadiska ochrany spotrebiteľov by sa malo začať uvažovať o zavedení upozornenia na prítomnosť biogénnych amínov a ich možnej koncentrácii vo výrobku. Z výsledkov našich meraní vyplýva, že konzumenti citliví na zvýšené množstvá biogénnych amínov (histamínu alebo tyramínu) by

do svojho jedálneho lístka mali uprednostniť termizovanú bryndzu, nakoľko v nej sme zistili omnoho nižšie koncentrácie sledovaných biogénnych amínov. Okrem toho, v rámci správnej výrobnnej praxe, resp. zavedeného systému HACCP, by sa na tento aspekt pri zretí syrov nemalo zabúdať, a pri definovaní možného chemického nebezpečenstva toto nebezpečenstvo možného vzniku biogénnych amínov zohľadniť a zaradiť do monitorovacieho programu najmenej vo forme kontrolného bodu, pričom by sa množstvo biogénnych amínov stanovovalo najmenej jedenkrát ročne. Nápravné opatrenia by spočívali vo vyradení danej dávky vyrobených syrov, čo by síce predstavovalo pre daného výrobcu vysoké ekonomické straty, ale na druhej strane by sa zvýšila ochrana konzumentov pred nežiaducimi možnými účinkami biogénnych amínov na ľudský organizmus. A o tom by všetkým zainteresovaným stranám malo ísť predovšetkým.

Literatúra

1. Burdová, O.: Slovenská bryndza na prahu nového milénia. Slov.vet. čas. 27, 2 2002, 103–103.
2. Dičáková, Z., Dudriková, E., Cabadaj, R.: Biogenic amines in ewe's milk lump cheese and bryndza. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 48, 1, 2004, 53–57.
3. Křížek, M., Kalač, M.: Review. Biogenní aminy a jejich role ve výživě. Czech J. Food Sci., 16, 1998, 151-159.
4. Laciaková, A., Čonková, E., Pipová, M., Laciak, V.: Kontaminácia potravín mikroskopickými vláknitými hubami, Zborník z konferencie „Rizikové faktory potravinového reťazca V. -2005, Nitra.
5. Vojtaššáková, A. a kol.: Mlieko a vajcia. Potravinové tabuľky, Bratislava, 2000, s, 188..

Pod'akovanie: *práca bola vypracovaná za podpory grantu Vega 1/ 3493/06 a KEGA 3/4282/06.*

ENTEROKOKY IZOLOVANÉ Z BRYNDZE A ICH REZISTENCIA NA ANTIBIOTIKÁ

Ducková, V., Čanigová, M., Kročko, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v nitre

Abstract

The genus *Enterococcus* is the most controversial group of lactic acid bacteria. Enterococci are natural residents of the human and animal gastrointestinal tracts; many species are also found in soil, plants and food. The aim of this work was to determine the presence of enterococci in sheep milk cheese - bryndza, to identify randomly isolated strains and to determine their antibiotic resistance. 14 bryndza samples were examined for presence of enterococci. The average number of enterococci in analysed samples was $6.12 \log \text{cfu.g}^{-1}$. The majority of strains were identified as *E. faecium* (43.33 %) and *E. faecalis* (23.33 %). Several strains of *E. durans/E. hirae* and *E. casseliflavus* were also present. Antibiotic resistance was tested by agar disk diffusion method. More than 50 % of tested strains were resistant or intermediate resistant to ampicillin and erythromycin.

No resistance to vancomycin was detected.

Chov oviec na salašoch a získavanie mlieka na výrobu ovčieho hrudkového syra, bryndze, oštiepkov, pareníc, ale i ďalších krajových špecialít sú na území Slovenska historicky podmienené.

Slovenská bryndza je náš špecifický prírodný roztierateľný zrejúci syr, vyrábaný tradičným spôsobom mletia vykysnutého ovčieho (prípadne i kravského) hrudkového syra. Charakteristickým znakom výroby bryndze je drvenie a mletie vyzretých syrov a ich miešanie so soľou alebo špeciálne pripraveným soľným roztokom, čím sa táto výroba odlišuje od iných druhov ovčieho syra vyrábaných mimo územia Slovenska. Podľa Keresteša a Seleckého (2005) sú charakteristické senzorické znaky bryndze dané okrem spomínaného charakteristického spôsobu výroby i prirodzenou mikroflórou obsiahnutou v surovom ovčom mlieku a vo vyzreťom ovčom hrudkovom syre.

V súčasnosti sa však na našom trhu môžeme stretnúť s tromi rôznymi typmi výrobkov označovanými ako „bryndza“. Ide o bryndzu vyrobenú z pasterizovaného ovčieho mlieka, bryndzu termizovanú a bryndzu tradičnú, t. j. vyrobenú zo surového, nepasterizovaného ovčieho mlieka. O tom, či všetky spomínané výrobky sú „slovenskou bryndzou“ v pravom slova zmysle sa viedli viaceré diskusie medzi výrobcami bryndze i odbornou mliekarenskou verejnosťou.

Tradičná bryndza vyrobená z ovčieho hrudkového syra z nepasterizovaného mlieka obsahuje prirodzené široké spektrum mikroorganizmov. Je to podmienené vstupnou surovinou, kde mikrobiálny ekosystém surového ovčieho mlieka tvoria baktérie produkujúce kyselinu mliečnu z rodov – *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, ale detekované sú tiež mikrokoky, stafylokoky, enterokoky, ale tiež listérie a enterobaktérie (Dudríková, 2002). Z bryndze boli izolované aj *Kluyveromyces marxianus* a *Geotrichum candidum* (Keresteš a Selecký, 2005).

Ako bolo spomenuté, jednou zo skupín mikroorganizmov v ovčom mlieku sú aj enterokoky. Enterokoky predstavujú veľkú časť autochtónnych baktérií spojených s gastrointestinálnym traktom cicavcov. Greifová et al. (2003) označujú enterokoky ako ubiquitárne baktérie, ktoré sa frekventovane vyskytujú v značnom počte v mliekarenských výrobkoch, ale i iných fermentovaných potravinách. Výskyt enterokokov v mlieku a syroch bol dlho považovaný za výsledok nehygienických podmienok počas procesu získavania

a spracovania mlieka, ako priama kontaminácia fekáliami a nepriamo sa ich výskyt spájal s kontaminovaným vodným zdrojom, zovňajškom zvierat, dojacím zariadením a zbernými tankami (Gelsomino et al., 2002, Giraffa, 2002). Hoci niektorí autori v minulosti konštatovali, že vysoké počty kontaminujúcich enterokokov mohli viesť k zhoršeniu sensorických vlastností syrov (López-Díaz et al., 1995), iné odborné správy diskutujú o priaznivom pôsobení enterokokov v syre. Enterokoky hrajú dôležitú úlohu pri zrení syrov a vytváraní ich arómy, pravdepodobne v dôsledku rozpadu bielkovín, lipolýzy, rozkladu kyseliny citrónovej ako aj produkcie diacetylu, acetoínu a iných dôležitých prechavých látok, čím prispievajú k ich typickej chuti a korenistosti (Jensen et al., 1975a, b; Finn, 2003, Greifová et al., 2003, Klare et al., 2003).

Enterokoky sa tak uplatňujú v technológii výroby rôznych typov syrov (vyrábaných najmä zo surového ovčieho alebo kozieho mlieka) ako sú napr. Kefalotyri a Feta (Grécko), Tetilla (Španielsko), Caciotta a Fontina (Taliano), Kaškaval (Bulharsko), Kraški ovčji sir (Slovinsko), Ras a Domiatti (Egypt). Do tejto skupiny syrov patrí i naša bryndza. Dominantnou mikroflórou, ktorá sa podieľa na fermentácii a organoleptických vlastnostiach bryndze sú podľa Ebringera (2002) enterokoky v hodnotách cca 10^8 KTJ.g⁻¹. Z toho cca 70 % pripadá na druh *E. faecium* a cca 30 % na *E. faecalis*; ojedinele sa vyskytuje aj *E. durans*.

Vysoké počty enterokokov v rozsahu od 10^4 – 10^6 KTJ.g⁻¹ sa zistili aj v iných typoch syrov, pričom v plne vyzretých syroch enterokoky dosiahli hodnoty až 10^5 – 10^7 KTJ.g⁻¹ (Giraffa 2002, Bockelmann, 2002). Najčastejšie sa medzi izolátmi enterokokov zo syrov biochemicky potvrdzujú zástupcovia *E. faecalis*, *E. faecium* a *E. durans* (Coppola, 2000).

Enterokoky sú okrem už spomínaného priaznivého pôsobenia pri zrení syrov známe i ako baktérie produkujúce bakteriocíny, z ktorých mnohé majú i probiotické vlastnosti (Greifová et al., 2003, Lauková et al., 2004, Foulquié Moreno et al., 2006). Preto sa uvažuje o selekcii takých kmeňov *E. faecium*, ktoré by mohli byť využité ako bioaditíva pre zvýšenie hodnoty bryndze z hľadiska zdravia konzumenta (Lauková et al., 2004). Podobne i Arana (2003) vo svojej práci sledovali vlastnosti enterokokov z hľadiska ich výberu pre pridanie do štartovacej kultúry na výrobu ovčích syrov.

Okrem týchto pozitív však netreba zabúdať, že enterokoky negatívne pôsobia napr. ako producenti biogénnych amínov, ale najväčšie riziko sa spája s možnou rezistenciou niektorých kmeňov na antibiotiká. Vo väčšine európskych syrov sa detekovali enterokoky patriace medzi *E. faecalis* a *E. faecium* rezistentné na rôzne antibiotiká ako penicilín, tetracyklín, chloramphenicol, erytromycín, gentamicín, lincomycín, rifampicín a vankomycín. Tiež sa pozorovalo všeobecné rozšírenie rezistencie na širokospektrálne lieky (Greifová et al., 2003). Rezistentné kmene enterokokov izolované z mlieka a z mliečnych výrobkov uvádzajú i Šustáčková et al. (2003) a Foulquié Moreno et al. (2006).

Cieľom práce bolo zistiť kvantitatívne i kvalitatívne zastúpenie enterokokov v bryndzi a u izolovaných kmeňov určiť rezistenciu na vybrané antibiotiká – ampicilín, erytromycín, gentamicín, tetracyklín a vankomycín.

Materiál a metódy

K mikrobiologickému rozboru sa použili vzorky bryndze (n = 14) zakúpené v obchodnej sieti v období december 2005 – august 2006. Vzorky sa následne spracovali štandardnou zried'ovacou mikrobiologickou metódou vo fyziologickom roztoku s peptónom. Počty enterokokov sa zisťovali na selektívnom diagnostickom médiu Slanetz-Bartley (*HiMedia*, India) kultiváciou pri teplote 37 ± 1 °C po 48 hodinách.

Z vyrastených kolónií sa náhodne izolovalo 30 kmeňov. Čistota izolovaných kmeňov sa zisťovala na základe makroskopického vzhl'adu ich kolónií a mikroskopovaním natívných preparátov. Príslušnosť k rodu *Enterococcus* sa potvrdzovala rastom na selektívnom žlč-eskulín-azidovom médiu (*Biokar Diagnostic*, *Solabia*, Francúzsko) po 24 hodinách

kultivácie pri 37 ± 1 °C, negatívnym katalázovým a pozitívnym PYRA-testom. Potvrdené kmene sa druhovo identifikovali pomocou komerčných EN-COCCUS testov (*Lachema*, Brno, Česká republika). U identifikovaných kmeňov sa hodnotila ich proteolytická aktivita na mliečnom agare (kultivácia pri 37 ± 1 °C, 24 hodín) a hemolytická aktivita na krvnom agare (kultivácia pri 37 ± 1 °C, 24 hodín).

Citlivosť k antibiotikám sa hodnotila u 30 identifikovaných kmeňov rodu *Enterococcus* platňovou difúznou metódou. Z 24 hodinovej kultúry identifikovaných kmeňov enterokokov, ktoré rástli pri 37 ± 1 °C na GTKA (*HiMedia*) sa odobrali 2 mikrobiologické očká bakteriálnej biomasy, ktoré sa rozsusedovali v 4 ml sterilného živného bujónu (*HiMedia*) - približná hustota buniek 10^6 KTJ.ml⁻¹. Suspenzia mikroorganizmov sa nechala kultivovať 4 hodiny pri 37 ± 1 °C. Po uplynutí doby kultivácie sa do Petriho misiek naočkoval 1 ml bakteriálnej suspenzie, ktorý sa zalial 20 ml Mueller – Hinton agaru (*HiMedia*). Po stuhnutí média sa na povrch sterilne poukladali disky antibiotík – Ampicillin 10 mcg/disk (A¹⁰), Erythromycin 15 mcg/disk (E¹⁵), Gentamicin 10 mcg/disk (G¹⁰), Tetracycline 30 mcg/disk (T³⁰) a Vancomycin 30 mcg/disk (Va³⁰) (*HiMedia*). Kultivácia prebiehala pri 37 ± 1 °C a veľkosť inhibičných zón sa odčítavala po 14 - 19 hodinách. Citlivosť na antibiotiká sa u každého kmeňa stanovovala paralelne v dvoch vzorkách. Zaradenie jednotlivých kmeňov medzi rezistentné, stredne rezistentné a citlivé sa uskutočnilo podľa kritérií NCCLS (1999).

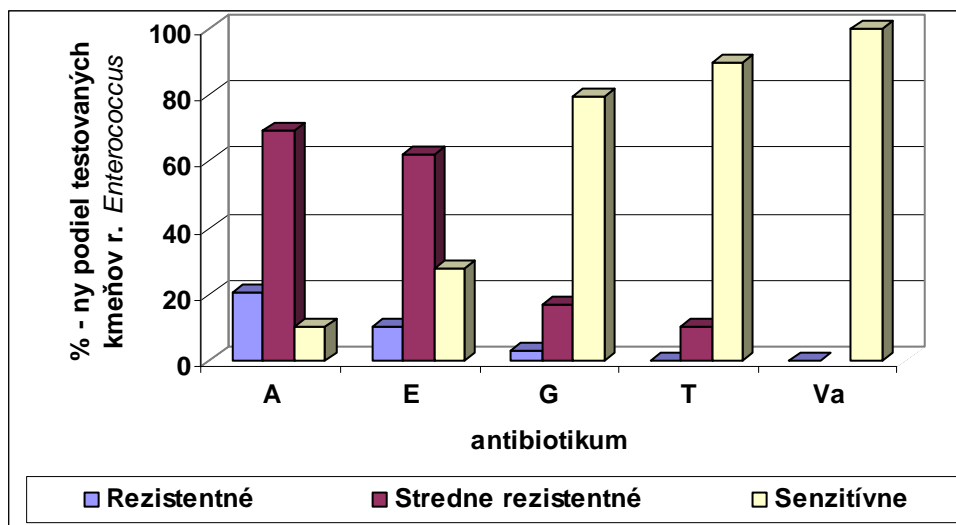
Výsledky a diskusia

Počty enterokokov v analyzovaných vzorkách bryndze dosahovali hodnoty v rozpätí od 2,40 log KTJ.g⁻¹ do 6,84 log KTJ.g⁻¹ s priemernou hodnotou 6,12 log KTJ.g⁻¹ (aritmetický priemer). Toto široké rozpätie zistených počtov enterokokov je spôsobené pravdepodobne tým, že tieto vzorky pochádzali od troch rôznych výrobcov. Môžeme predpokladať, že ich technologický postup výroby bryndze sa, ako už bolo v úvode naznačené, zrejme odlišuje. V rámci vzoriek bryndze od jednotlivých výrobcov sa zistili nasledovné priemerné počty enterokokov: výrobca A - $2,71\pm 0,12$ log KTJ.g⁻¹, výrobca B - $6,46\pm 0,24$ log KTJ.g⁻¹, výrobca C - $5,53\pm 0,84$ log KTJ.g⁻¹. Hodnotením mikrobiologickej kvality bryndze sa zaoberali i Lauková et al. (2004). Podľa týchto autorov dosahovali počty enterokokov v plnotučnej zimnej bryndzi a v sudovanom ovčom syre hodnoty 3,7 až $8,7\cdot 10^6$ resp. $6,6 - 8,5\cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹, čo je porovnateľné s našimi výsledkami u výrobcov, ktorí nepoužili tepelné ošetrenie suroviny alebo výrobku. Ako konštatujú Lauková et al. (2004) i napriek tomu, že tieto počty sú vyššie, neznamenajú nekvalitu pre výrobok, keďže enterokoky patria tiež medzi tzv. technologickú mikroflóru (najmä pri výrobe syrov). Na druhej strane však ku ich zvýšenému výskytu mohli viesť práve hygienické aspekty technológie výroby bryndze resp. nepasterizované mlieko ako ich zdroj. Naproti tomu Ebringer (2002) uvádza hodnoty enterokokov v bryndzi rádovo 10^8 KTJ.g⁻¹ pričom zdôrazňuje, že tejto skupine mliečnych baktérií by sa malo venovať viac pozornosti nielen z hľadiska ich technologických a organoleptických vlastností, ale aj z hľadiska zdravotneprospešných vlastností bryndze. Čo sa týka porovnania výskytu enterokokov v bryndzi s ďalšími literárnymi zdrojmi treba poznamenať, že bryndza je osobitný – tradičný slovenský výrobok, preto jeho hodnotenie zahraničnými autormi je bezpredmetné a väčšina slovenských autorov zaoberajúcich sa problematikou mikrobiologickej kvality bryndze sa skôr orientuje na výskyt patogénnych mikroorganizmov v tomto výrobku.

Pre porovnanie však napr. syr Idiazábal počas zrenia obsahuje počty enterokokov od 5 log KTJ.g⁻¹ do 7 log KTJ.g⁻¹ (Arana, 2003), syry vyrábané v južnej Európe $10^7 - 10^8$ KTJ.g⁻¹ (Cogan et al., 2004) a podľa Teubera et al. (1996) Emmentálsky syr 10^4 až 10^6 log KTJ.g⁻¹ a syr Appenzeller 10^4 až 10^7 log KTJ.g⁻¹ enterokokov.

Medzi kmeňmi enterokokov izolovanými z bryndze (n=30) mal najpočetnejšie zastúpenie druh *E. faecium* (43,33 %). V nižšom zastúpení sa zistili *E. faecalis* (23,33 %), enterokoky skupiny III. – *E. durans*/*E. hirae* (6,67 %), *E. casseliflavus* (3,33%). Použitým identifikačným testom sa

nepodarilo druhovo určiť 23,33 % izolátov rodu *Enterococcus*. Drahovská et al. (2004) z bryndze identifikovali v rámci rodu *Enterococcus* nasledovné druhy – *E. faecium* (76 %), *E. faecalis* (23 %). V nižšom zastúpení boli *E. durans* a *E. hirae*. Jurkovič et al. (2006) rovnako ako predchádzajúci autori zistili, že dominantným druhom rodu *Enterococcus* v bryndzi je *E. faecium* (177 izolátov). Ďalej identifikovali 59 druhov *E. durans* a 41 druhov *E. faecalis*. Práce Laukovej et al. (2004) a Ebringera (2002) rovnako potvrdzujú, že najčastejším druhom rodu *Enterococcus* v bryndzi je *E. faecalis* (70 - 80 %). Na základe týchto výsledkov možno konštatovať, že dominantné zastúpenie medzi enterokokmi v bryndzi má druh *E. faecium*. Výsledky rezistencie identifikovaných kmeňov enterokokov (n=30) izolovaných z bryndze na antibiotiká sú znázornené na obrázku 1.



Obr. 1. Citlivosť zástupcov r. *Enterococcus* izolovaných z bryndze k vybraným antibiotikám
 A- Ampicillin 10 mcg/disk, E- Erythromycin 15 mcg/disk, G- Gentamicin 10 mcg/disk, T- Tetracycline 30 mcg/disk, Va- Vancomycin 30 mcg/disk

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že diskovou difúznou metódou sa zistilo, že viac ako 50 % testovaných kmeňov enterokokov bolo rezistentných prípadne stredne rezistentných na ampicilín a erytromycín. Rezistencia na vankomycín sa nezistila u žiadneho z testovaných kmeňov enterokokov. U enterokokov izolovaných z Tureckého bieleho syra hodnotili Citak et al. (2004) rezistenciu k 13 rozličným antibiotikám Kirgby – Bauerovým difúznym testom. Najčastejšie u testovaných kmeňov zistili rezistenciu na streptomycín, erytromycín, oxacilín a vankomycín. Rezistenciu na vankomycín zistili títo autori u 96,8 % kmeňov *E. faecalis* a 76 % *E. faecium*. Najefektívnejším antibiotikom bol ampicilín (inhiboval 69,3 % izolátov rodu *Enterococcus*) a imipenem (76,3 % izolátov rodu *Enterococcus*). Šustáčková et al. (2001) zisťovali u 107 kmeňov rodu *Enterococcus* pochádzajúcich z bazénových vzoriek mlieka rezistenciu na antibiotiká pomocou mikrodilučnej metódy a diskovou difúznou metódou. Všetky vyšetrené kmene boli citlivé na ampicilín. Väčšina kmeňov vykazovala rezistenciu na gentamicín. Viac než polovica izolovaných kmeňov bola podľa týchto autorov rezistentná k erytromycínu a približne rovnaké množstvo k tetracyklínu. Diskovou metódou zachytili 20 kmeňov *E. faecalis* intermediálne citlivých na vankomycín. Rezistencii na vankomycín je v poslednej dobe venovaná zvýšená pozornosť. Vankomycín je používaný ako liek poslednej voľby pri závažných infekciách G⁺ baktériami, často rezistentnými na bežne používané antibiotiká (Lochman, 1994). PCR metódou sledovali Jurkovič et al. (2006) prítomnosť vanA a vanB génov (zodpovedné za rezistenciu na

vankomycín) u 308 izolátov enterokokov pochádzajúcich z bryndze. U žiadneho z vyšetrených kmeňov *Enterococcus sp.* sa nezistila prítomnosť týchto génov. Rovnako rezistenciu na vankomycín nedetekovali ani Drahovská et al. (2004), ktorí testovali 117 kmeňov enterokokov z bryndze.

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať, že v bryndzi sa diskovou difúznou metódou zistil výskyt enterokokov rezistentných alebo stredne rezistentných na bežne používané antibiotiká okrem vankomycínu.

Záver

Vo vzorkách analyzovanej bryndze zakúpenej v obchodnej sieti sa zistil priemerný počet enterokokov $6,12 \log \text{KTJ.g}^{-1}$. Dominantným druhom bol *E. faecium*, ktorý tvoril 43,33 % zo všetkých izolátov. U viac ako 50 % testovaných kmeňov enterokokov sa zistila platňovou difúznou metódou rezistencia alebo stredná rezistencia na ampicilín a erytromycín. Žiadny kmeň hodnotený touto metódou nepreukázal rezistenciu na vankomycín. K zabráneniu ďalšieho nárastu rezistentných kmeňov je potrebné seriózne zvažovať používanie antibiotík vo veterinárnej medicíne a monitorovať suroviny a potraviny živočíšneho pôvodu na výskyt rezistentných kmeňov mikroorganizmov.

Práca sa riešila v rámci projektu VEGA – 1 – 2427 – 05

Použitá literatúra

1. Arana, I. 2003. Technical attribute – based selection of *Enterococcus* strains for addition to a starter culture for making a ewe's milk cheese. In: *Milchwissenschaft*, vol. 58, 2003, no. 11/12, p. 627-630.
2. Bockelmann, W. 2002. Development of defined surface starter cultures for the ripening of smear cheeses. In: *Int. Dairy J.*, vol. 12, 2002, no. 2-3, p. 123-131.
3. Citak, S. – Yucel, N. – Orhan, S. 2004. Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. In: *Inter. J. Dairy Technol.*, vol. 57, 2004, no. 1, p. 27.
4. Cogan, T. M. – Rea, M. C. – Drinan, F. et al. 2004. Enterococci in Food Fermentations: Functional and Safety Aspects. [cit. 2004-08-30] Dostupné na internete: <<http://www.teagasc.ie/research/reports/dairyproduction/4547/eopr-4547.htm>>
5. Coppola, R. 2000. Microbiological characteristics of Parmigiano Reggiano cheese during the cheesemaking and the first months of the ripening. In: *Lait*, vol. 80, 2000, no. 5, p. 479-490.
6. Dudříková, E. 2002. In: Lauková, A. – Marciňáková, M. – Stropfová, V. et al. 2004. Použitie metodiky PCR na detegovanie kmeňov *Enterococcus faecium*, izolátov z plnotučnej zimnej bryndze a zo sudovaného ovčieho syra. In: *Hygiena alimentorum XXV „Aktuálne otázky výroby a spracovania mlieka – bezpečné potraviny pre všetkých“ – zborník prednášok a posterov*, 27. – 28. mája 2004. Štrbské Pleso – Vysoké Tatry. ISBN 80-88985-994
7. Drahovská, H. – Slobodníková, L. – Kocíncová, D. et al. 2004. Antibiotic resistance and virulence factors among clinical and food enterococci isolated in Slovakia. In: *Folia Microbiologica*, vol. 49, 2004, no. 6, p. 763-768.
8. Ebringer, L. 2002. Enterococci in Foods – Functional and Safety Aspects. In: *Bulletin čs. spol. mikrob.*, 43, 2002, č. 3, 87-92.
9. Finn, H. 2003. Enterokoky v potravinách. In: *Trendy v potravinárstve*, 10, 2003, č. 2, s. 4.

10. Foulquié Moreno, M. R. – Sarantinopoulos, P. – Tsakalidou, E. et al. 2006. The role and application of enterococci in food and health. In: *Inter. J. Food Microbiol.*, vol.106, 2006, p. 1-24.
11. Gelsomino, R. – Vancanneyt, M. – Cogan, T. M. et al. 2002. Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. In: *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 3560-3565.
12. Giraffa, G. 2002. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews* 26, 2002, p.163-171.
13. Greifová, M. - Greif, G. – Lešková, E. et al. 2003. Enterokoky a ich hodnotenie v mliekarenskej technológii. In: *Mliekarstvo*, roč. 34, 2003, č. 2, s. 42 - 45.
14. Jensen, J. P. – Reinbold, G. W. – Washam, C. J. et al. 1975a. Role of enterococci in Cheddar cheese : free fatty acid appearance and citric acid utilization. In: *Journal of Milk nad Food Technology*, vol. 38, 1975, p. 78-83
15. Jensen, J. P. – Reinbold, G. W. – Washam, C. J. et al. 1975b. Role of enterococci in Cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development. In: *Journal of Milk nad Food Technology*, vol. 38, 1975, p. 3-7.
16. Jurkovič, D. – Križková, L. – Dušínský, R. et al. 2006. Identification and characterization of enterococci from bryndza cheese. In: *Letters in Applied Microbiology*, vol. 42, 2006, no. 6, p. 556-559.
17. Keresteš, J. – Selecký, J. 2005. *Syrárstvo na Slovensku história a technológia*, Eminent s. r. o. – Považská Bystrica, s. 367
18. Klare, I, - Konstabel, C. – Badstubner, D. et al. 2003. Occurrence and spread of antibiotic resistance in *Enterococcus faecium*. In: *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 88,2003, p. 269-290.
19. Lauková, A. – Marciňáková, M. – Stropfiová, V. et al. 2004. Použitie metodiky PCR na detegovanie kmeňov *Enterococcus faecium*, izolátov z plnotučnej zimnej bryndze a zo sudovaného ovčieho syra. In: *Hygiena alimentorum XXV „Aktuálne otázky výroby a spracovania mlieka – bezpečné potraviny pre všetkých“ – zborník prednášok a posterov*, 27. – 28. mája 2004. Štrbské Pleso – Vysoké Tatry. s. 251-252. ISBN 80-88985-994
20. Lochman, O. 1994. *Základy antimikrobiální terapie*. Praha, Triton. 175 s. In: Schlegelová, J. – Ryšánek, D. 1999. Antibiotic resistance of bacteria nad its determination in veterinary medicine. In: *Vet. Med. – Czech*, vol. 44, 1999, no. 2, p. 53-59.
21. López-Díaz, T. M. – Santos, J. A. – Gonzalez, C. J. et al. 1995. Bacteriological quality of traditional Spanish blue cheese. In: *Michwissenschaft*, vol. 50, 1995, p. 503-505.
22. NCCLS. 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved Standard M31-A. NCCLS. Wayne, USA: 1999.
23. Šustáčková, A. – Lukášová, J. - Navrátilová, P. 2001. Antibiotická rezistence enterokoků izolovaných ze syrového mléka. In: *Hygiena alimentorum XXII „Mlieko a mliečne výrobky na začiatku nového milénia“ – zborník prednášok a posterov*, 5. – 7. jún 2001. Štrbské Pleso – Vysoké Tatry. s. 85-89. ISBN 80-88985-39-0
24. Šustáčková, A. – Nápravníková, E. – Navrátilová, P. et al. 2003. Potraviny živočíšného pôvodu jako vektor rezistence k antibakteriálním látkám. In: *Zborník z medzinárodného vedeckého seminára „Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe“*, Nitra, 2003, s. 328-342, ISBN 80-8069-295-5
25. Teuber, M. – Perreten, V. – Wirsching, F. 1996. Antibiotikumresistente Bakterien: Eine neue Dimension in der Lebensmitteltechnologie, 29, 182-199.

CHEMICKÉ NEBEZPEČENSTVÁ PRI CHOVE NIEKTORÝCH DRUHOV ZVIERAT PRODUKUJÚCICH POTRAVINY

CHEMICAL HAZARD IN THE BREEDING OF SOME FOOD-PRODUCING ANIMALS

Dudriková, E., Húska, M., Kočíšová, A.,

Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach

Abstract

Food products of animal origin (milk, meat, fish, consumer eggs) are one of the main sources of proteins, fat, minerals, vitamins in human nutrition since the child age. In the case of their using in human nutrition the most important is the quality from the hygienic viewpoints. That is why the chemical hazard must be included into the HACCP system. In this article we discuss about the possible chemical hazard observed during food-producing animal breeding according to the EU legislation. It was stated, that not only antibiotics, xenobiotic, sanitizing agents, but also heavy metals should be included into HACCP system, mainly on the farms situated in contaminated soil environment. We detected that daily intake of the industrial substrate containing copper and zinc in the amount of 32g/sheep caused intoxication in sheep.

Úvod

Hydinové mäso, konzumné ryby, mlieko a mliečne výrobky predstavujú významné potravinárske komodity z hľadiska racionálnej výživy ľudí. Problematika zdravej výživy zahŕňa noho aspektov, pri hydinových produktoch najmä tvorbu mäsa s nižším obsahom cholesterolu, vhodným zložením mastných kyselín a zvýšeným obsahom účinných látok, najmä minerálnych látok a vitamínov. Napr. Benková a kol. (2005) uvádzajú, že veľmi priaznivý je podiel mastných kyselín najmä v prsnej a stehnovej svalovine, či tuku sliepok (39-48,9% kyselina olejová, 24,6-30,6 % kyselina palmitová, 15-24,8 % kyselina linolová, 3,6 – 10,2 % kyselina palmitoolejová a 0,4-0,9 % kyselina linolénová). Podobne je priaznivý pomer mastných kyselín zistený aj v prsnej a stehnovej svalovine a v abdominálnom tuku husí a gunárov (44,5-54,9 % kyselina olejová, 22,3-24,9 % kyselina palmitová, 14,1-19,4 % kyselina linolová, 1,9-4,3 % kyselina palmitoolejová a 0,8–1,3 % kyselina linolénová).

Baumgartner a kol. (2005) vo svojom príspevku uvádzajú, že nutritívnych zložiek vajec, ktoré sú pre zdravie ľudí mimoriadne cenné je viacero. Predovšetkým je to vysoký obsah bielkovín a nízka energetická hodnota vajec, ktorá ich priam predurčuje pre výživu diabetikov ako aj celkove obéznych ľudí. Vajcia sú pre zdravú výživu cenné aj z hľadiska špecificky významných zložiek a to najmä rôznych typov bielkovín, lipidov, lipofilných vitamínov a vitamínov skupiny B, minerálnych prvkov a pod. Z hľadiska tvorby funkčných komponentov v konzumných vajciach prichádzajú do úvahy najmä karotenoidy (α -karotén, β -karotén, luteín, lykopen a zeaxantin), mastné kyseliny (omega-3-mastné kyseliny, konjugovaná kyselina linoleová, kyselina arachidonová), rôzne flavonoidy, vitamíny (lipofilné vitamíny A, D, E, vitamíny skupiny B, cholín, karnitín) ako aj rôzne minerálne látky, vrátane stopových prvkov, napr. selénu. Aj keď nutričné zloženie rybieho mäsa je výrazne ovplyvnené druhom, vekom, pohlavím, technológiou chovu, lokalitou, ročným obdobím a ďalšími faktormi, má vysokú dietetickú hodnotu. Vysoká dietetická hodnota rybieho mäsa je daná vyšším podielom jednoduchších bielkovín, priaznivým zložením tuku, vyššou nenasýtenosťou a obsahom polyénových mastných kyselín s dlhým reťazcom, vysokým obsahom lipofilných vitamínov, jemnosťou svalových vlákien, praktickou absenciou kolagénnych bielkovín väzivových tkanív a relatívne vysokým obsahom minerálnych látok (Sokol a kol., 2005). Mlieko, resp. mliečne výrobky, najmä kyslomliečne (jogurt, kyslá smotana, kefír, atď.), prírodné sladké a kyslé syry

majú rovnako nezastupiteľnú úlohu vo výžive. Kyslomliečne výrobky sú vhodné prakticky pre všetky populačné skupiny. Obsahujú všetky zložky z mlieka, sú organolepticky vhodné, syté a relatívne ľahko stráviteľné; zo žalúdka odchádzajú rýchlejšie ako sladké mlieko (Burdová, 2001; Lukášová a kol., 2001).

Pri získavaní a spracovaní jednotlivých komoditných prvotných produktov (produkty prvovýroby vrátane produktov z rastlinnej prvovýroby, chovu hospodárskych zvierat, lovu a rybolovu) na vlastné výrobky platia prísne stavebné, zdravotné a hygienické podmienky počas celého technologického procesu. K vecnému riešeniu zabezpečenia bezpečnosti uvedených produktov vo vzťahu k bezpečnosti človeka a nakoniec aj v prevencii civilizacyjnych chorôb prispievajú právne normy a legislatíva v Európskych spoločnostiach. Príkladom môže byť nariadenie (ES) č. 852/2004 Európskeho parlamentu a Rady z 29. apríla 2004 o hygiene potravín ktorá ustanovuje základné pravidlá a všeobecné predpisy o hygiene potravín pre prevádzkovateľov potravinárskych podnikov a Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 (z 29. apríla 2004), ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu a Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné predpisy na organizáciu úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu pre ľudskú spotrebu. Z týchto nariadení ES vyplýva, že prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, počínajúc prvovýrobou, pokiaľ je to možné, musia zabezpečiť, aby boli prvotné produkty chránené pred kontamináciou so zreteľom na akékoľvek spracovanie, ktoré prvotné produkty následne podstúpia. To znamená, že musia dodržiavať vhodné ustanovenia právnych predpisov spoločenstva a ustanovenia vnútroštátnych právnych predpisov, ktoré sa týkajú kontroly nebezpečenstiev už v prvovýrobe a v súvisiacich operáciách vrátane toho, aby boli prijaté, ako je vhodné, primerané opatrenia nielen na zdravotný stav a pohodu zvierat, ale aj na udržiavanie čistoty akéhokoľvek zariadenia používaného v súvislosti s prvovýrobou, ale aj z toho, aby sa, pokiaľ je to možné, zabránilo tomu, aby zvieratá a škodce spôsobovali kontamináciu, a aby sa odpady a nebezpečné látky skladovali a manipulovalo sa s nimi tak, aby sa zabránilo kontaminácii, atď.

Na zabezpečenie dosiahnutia cieľov nariadenia o hygiene potravín by sa mali identifikovať a náležite kontrolovať potravinové nebezpečenstvá prítomné už na úrovni prvovýroby, pretože prvotná zodpovednosť za bezpečnosť potravín spočíva na prevádzkovateľovi potravinárskeho podniku. Je teda potrebné zabezpečiť bezpečnosť potravín v celom potravinovom reťazci, počínajúc prvovýrobou, pričom zodpovednosť prevádzkovateľov potravinárskych podnikov by sa mala posilniť všeobecným zavedením postupov založených na zásadách HACCP spolu s uplatňovaním správnej hygienickej praxe. To znamená určenie, zavedenie a zachovávanie trvalých postupov alebo postupov založených na zásadách HACCP, ktoré pozostávajú z identifikovania všetkých nebezpečenstiev, ktorým sa musí zabrániť, vylúčiť ich alebo znížiť na prijateľnú úroveň; z identifikovania kritických kontrolných bodov v kroku alebo krokoch, v ktorých je nutná kontrola na zabránenie alebo vylúčenie nebezpečenstva alebo na jeho zníženie na prijateľnú úroveň; určenie kritických kontrolných limitov v kritických kontrolných bodoch; určenie a zavedenie účinných postupov monitorovania v kritických kontrolných bodoch; určenia nápravných opatrení, ak monitorovanie ukazuje, že kritický kontrolný bod nie je pod kontrolou; určenia postupov, ktoré sa musia pravidelne vykonávať na overovanie účinného fungovania opatrení a určenia dokumentov a záznamov zodpovedajúcich druhu a veľkosti potravinárskeho podniku na preukázanie účinného uplatňovania daných opatrení. Jedným z dôležitých krokov pri tvorbe plánu HACCP je určenie typu nebezpečenstva, medzi ktoré sa zaraďuje aj nebezpečenstvo chemické. Chemické nebezpečenstvo pri chove niektorých druhov zvierat predstavuje množstvo chemických zlúčenín, ktoré môžu byť nielen pre najmenšiu populáciu za určitých podmienok rizikové. Všeobecne podľa pôvodu rozdeľuje chemické zlúčeniny do niekoľkých skupín: Toxické látky: 1. Látky vyvolávajúce potravinovú neznášanlivosť, 2. Toxíny potravín; Aditívne látky: a) látky

predlžujúce údržnosť, b) látky upravujúce arómu, c) látky upravujúce farbu, d) látky upravujúce textúru, e) látky zvyšujúce biologickú hodnotu; kontaminujúce látky. A) Toxíny mikroorganizmov, b) Toxické anorganické látky, c) Toxické organické zlúčeniny, d) Veterinárne liečivá (Vorlová, 2003). Pre jednotlivé rizikové chemické zlúčeniny v potravinách sú stanovené príslušnou legislatívou najvyššie prípustné množstvá.

Chemické nebezpečenstvo pri chove niektorých druhov zvierat produkujúcich potraviny predstavujú najmä reziduá veterinárnych liečiv. Okrem toho, sú to aj ďalšie chemické látky, ktoré pochádzajú tak z endogénnych geochemických reakcií, ako aj z ľudských aktivít. Ľudské aktivity zvlášť v ostatných desaťročiach sa stali určujúcim faktorom zmenených biogénnych prvkov v prírodnom prostredí, vzniku a hromadeniu látok, ktoré sa predtým v prírode nevyskytovali a označujú sa ako cudzorodé látky, pretože nie sú súčasťou abiotických, ani biotických zložiek prostredia. Zdroje ich pôvodu sú veľmi rozmanité, tak ako je rozsiahla výroba energie, priemyselná činnosť, či intenzifikácia poľnohospodárstva (Hronec a kol., 2002; Vollmannová a kol., 2003; Pistl a kol., 2004; Tóth a kol., 2005). Chemické látky znečisťujúce ovzdušie vyvolávajú najzávažnejšie globálne problémy, medzi ktoré patria: skleníkový efekt, narušovanie ozónovej vrstvy a kyslé dažde. Zvlášť negatívna je spoluúčasť emisií organických xenobiotík, polycyklických aromatických uhľovodíkov, polychlórovaných bifenylov, dioxínov, rôznych chlorovaných fenolov a pod. Osobitnou kapitolou sú emisie rizikových ťažkých kovov, či už zo spaľovania fosílnych palív, alebo z mobilných zdrojov (automobilizmus), z hutníctva a pod. Štartovacím miestom chemických prvkov do rastlinných produktov a cez krmoviny do živočíšnych produktov je pôda. Nadlimitné obsahy chemických prvkov v potravinách znižujú výživovú a senzorickú hodnotu potravín a spôsobujú ich zdravotnú závadnosť, vyvolávajú chemickú a v niektorých prípadoch až akútnu toxicitu (Tóth a kol., 1989). Zinok v porovnaní s ostatnými rizikovými prvkami je pre zvieratá menej toxický. Vyplýva to z toho, že u zinku existuje pomerne bezpečná hranica medzi optimálnym príjmom a hladinou zinku, ktorá vyvoláva toxický účinok. Najčastejším zdrojom otravy zinkom je u zvierat príjem krmiva s vysokým obsahom zinku. U teliat boli popísané chronické intoxikácie zinkom v súvislosti so skrmovaním mliečnych náhrad a minerálnych doplnkov bohatých na zinok (Graham a kol., 1988). Intoxikácia zinkom sa môže vyskytnúť po predózovaní liečivami na báze zinku alebo sekundárne po styku zvierat s fungicídmi, konzervanciami, antibakterikami, kozmetickými prípravkami, náterovými hmotami, akumulátormi, batériami, galvanizovaným železom a ostatnými kovmi, ktorých súčasťou je zinok (Thompson a kol. 1991). Z uvedeného vyplýva, že z hľadiska výskytu chronických intoxikácií zinkom sú najviac ohrozené zvieratá chované v oblasti chemických a metalurgických závodov spracujúcich zlúčeniny zinku (Leita a kol. 1991). Priebeh týchto otráv je závislý na prítomnosti ostatných prvkov, popri zinku najmä medi, kadmia, železa a selénu. Príkladom takéhoto účinku cudzorodých látok nachádzajúcich sa v životnom prostredí môžu byť aj naše výsledky klinického a patologického obrazu priemyselnej intoxikácie zinkom a ostatnými rizikovými prvkami u oviec z oblasti stredného Spiša po experimentálnom skrmovaní emisie zo závodu na výrobu medi a zinku.

Materiál a metodika

Sledovania prebehli v experimentálnych podmienkach na 7 ovciach v druhom mesiaci gravidity plemena zošľachtená valaška vo veku 18 až 24 mesiacov. Všetky zvieratá dostávali denne po rannom nakŕmení pažerákovou sondou priemyselnú emisiu zo závodu na výrobu medi a zinku z oblasti stredného Spiša. Množstvo prijatej emisie na pokusnú bahnicu predstavovalo denne podľa východiskovej živej hmotnosti 31,99 g. Denný príjem Cu z testovaného substrátu predstavoval na ovcu 402,02 mg; Fe 95,97 mg; Zn 6158,07 mg; Mo 1,436 mg; Se 2,975 mg; As 15,38 mg; Cd 0,598 mg a Pb 22,14 mg. Podávanie emisie trvalo až po úhyn zvierat na intoxikáciu. Klinický stav zvierat sa hodnotil individuálne každý deň.

Výsledky a diskusia

Prvá fáza intoxikácie, ktorá trvala u väčšiny zvierat do 35. dňa experimentu, mala subklinický priebeh. Príjem krmiva počas tohto obdobia nebol významne zmenený. Trus bol formovaný s nápadne hnedozeleným odtieňom. Rúno bolo nesúvislé a vlna suchá, bez lesku.

Klinické príznaky sa začali objavovať v druhej fáze intoxikácie a u jednotlivých kusov mali rôznu intenzitu. Choré kusy sa objavovali postupne. Zjavná bola u nich apatia až somnolencia. Nerady sa pohybovali, ich chôdza bola potáčavá. Výživný stav sa zhoršoval a ovce mali zníženú chuť k prijímaniu potravy. Dochádzalo k zreteľnému vypadávaniu vlny. Po nástupe hemolytickej krízy postihnuté kusy uľahli a zostávali počas ďalšieho priebehu ležať s hlavou položenou bezvládne, vedľa seba. Niektoré ležali na boku s hlavou položenou dopredu a často napnutými panvovými končatinami. Predkladané krmivo vôbec neprijímali. Charakteristická bola profúzna hnačka. Trus bol vodnatý, tmavozelenej farby. Steny dutiny brušnej boli vpadnuté. U niektorých zvierat sa v tomto období objavil submandibulárny edém. Spojivky postihnutých kusov dostávali ikterický nádych. Sliznice dutiny ústnej a vagíny boli anemické s ikterickým nádychom. U niektorých zvierat mala žlté zafarbenie aj koža. Pri občasnej urinácii mal moč červené zafarbenie rôznej intenzity. Krv pri punkcii vény mala čokoládovohnedú farbu. Telesná teplota bola väčšinou nezmenená. Frekvencia pulzu bola zvýšená (90 – 125 za minútu), pulz bol slabšie hmatateľný a srdcová činnosť bola nepravidelná. Vény boli kolabované. U väčšiny oviec sa počas toxickéj fázy vyvinul emfyzém pľúc a dyspnoe a tachypnoe (40-70 dychov za minútu). Častý bol vodnatý až hlienovitý výtok z nosovej dutiny. Pozorovali sa konvulzívne kŕče, stonanie a škrípanie zubami. Okolie dutiny ústnej bolo v dôsledku neustáleho žuvania naprázdno a škrípania zubami potriesnené spenenou tekutinou a zbytkami potravy. Zvieratá v tomto štádiu mali ťažký stupeň dehydratácie. Málo alebo vôbec nereagovali na vonkajšie popudy (vpich ihlou, hluk). Pravidelne sa pozorovali plávacie pohyby. Päť bahníc v priebehu hemolytickej krízy zmetalo, pričom abortované plody svojou veľkosťou nezodpovedali dĺžke gravidity. Dĺžka hemolytickej krízy sa u jednotlivých zvierat pohybovala od 7 do 23 dní. Po uľahnutí zvieratá hynuli v priebehu 2 až 5 dní v komatóznom stave za príznakov celkovej slabosti a kachexie. Prvá ovca uhynula na intoxikáciu na 42. deň a posledná na 58. deň experimentu. Všetky uhynuté ovce na intoxikáciu zo zdroja priemyselnej emisie závodu na výrobu meďi a zinku boli kachektické. U všetkých oviec sa pozoroval ikterus, dystrofické zmeny v pečeni, splenomegália, hemosideróza obličiek, pečene a sleziny, tmavohnedé zafarbenie krvi, ruminitída, abomasitída a emfyzém pľúc. Ikterus u vyšetovaných jedincov mal rôznu intenzitu. Niektoré kusy mali ikterické zafarbenie intímy veľkých ciev, u iných sa zaznamenal generalizovaný ikterus kože a slizníc. Pečeň bola zväčšená, mala krehkejšiu konzistenciu a žltohnedú farbu. Pod Glissonovým púzdom na reznej ploche boli viditeľné drobné žltosede alebo hemoragické ostro ohraničené ložiská. Žlčový mechúr bol väčšinou preplnený tmavou žlčou. Obličky boli taktiež obojstranne zväčšené a mali tmavohnedú až hnedočiernu farbu s metalickým leskom. Tmavohnedé zafarbenie bolo zjavné v kôrovej časti a často zasahovalo aj do dreňovej časti. Obličková panvička bola zjavne ikterická. Slezina bola zväčšená a mala tmavohnedé zafarbenie. Na reze bola väčšinou rozbredlá zo zastretou štruktúrou. Klinický priebeh intoxikácie, výsledky patologických vyšetrení manifestovali u experimentálnych oviec hlavne hepatotoxický účinok testovaného úletu, čo vzhľadom na zloženie emisie vyvolali predovšetkým zlúčeniny Zn a Cu.

Literatúra

1. Baumgartner, J., Benková, J., Hetényi, L.: Využitie konzumných vajec ako funkčnej potravy. In: Zb. č. 9 SAPV, Nitra, 2005, 41-42. ISBN 80-89162-18-5.
2. Benková, J., Baumgartner, J., Hetényi, L.: Hydinové mäso – významná zložka racionálnej výživy obyvateľstva. In: Zb. č. 9 SAPV, Nitra, 2005, 31 – 32. ISBN 80-89162-18-5.

3. Burdová, O.: Hygiena a technológia mlieka a mliečnych výrobkov, Viena Košice, 2001, 342s.
4. Graham, T.W., Holmberg, C.A., Keen, C.L., Thurmond, M.C., Clegg, M.S.: Vet. Pathol., 25, 1988, 484-491.
5. Hronec, O., Tóth, J., Tomáš, J.: Cudzorodé látky a ich riziká. Košice, 2002, 202s.
6. Leita, L., Enne, G., De Nobili M., Baldini, M., Sequi, P.: Heavy metal bioaccumulation in lamb and sheep bred in smelting and mining areas of S. W. Sardinia (ITALY) Bull. Environ. Contam. Toxicol., 46, 1991, 487-893.
7. Lukášová, J., Burdová, O., Holec, J., Linhartová, E., Večerek, V.: Hygiena a technológia mliečnych výrobkov. Brno, ISBN: 80-7305-415-9, 2001, 180 s.
8. Sokol, J., Pipová, M., Golian, J., Rajský, D., Staruch, L.: Bezpečnosť produktov rybolovu vo vzťahu k zdraviu človeka a prevencii civilizačných chorôb (všeobecná časť). In: Zb. č. 9 SAPV, Nitra, 2005a, 70-76.
9. Sokol, J., Pipová, M., Golian, J., Rajský, D., Sabolová, G.: Bezpečnosť produktov rybolovu vo vzťahu k zdraviu človeka a prevencii civilizačných chorôb. In: Zb. č. 9 SAPV, Nitra, 2005b, 77-80.
10. Pistl, J., Kovalková, N., Legáth, J., Mikula, I., Holovská, V.: Imunotoxikológia vo veterinárnej medicíne. UVL v Košiciach, ISBN: 80-8077-013-1, 2004, 155s.
11. Thompson, L. J., Hall, J.O., Meerdink, G.L.: Food Animal Practice, 1991, 277-306.
12. Tóth, T. a kol.: Rizikové prvky v pôdach a plodinách Štiavnického regiónu. In: Chem Zb. 57. zjazdu Chem. Spoločností. Tatranské Matliare, 2005, s. 85.
13. Vollmannová, A., Tóth, T., Tomáš, J.: Mangán v životnom prostredí. Monografia. SPU Nitra, 2003, 73s.
14. Vorlová, L.: Chemické riziká z potravín. In: Hrstková, H. a kol. autorů. Výživa kojenců a mladších batolat. NCO NZO Brno. ISBN: 80-7013-385-6, 2003, 63-73.

Pod'akovanie: Príspevok bol podporený agentúrou KEGA 3/4282/06.

PROTECTIVE EFFECT OF SELENIUM IN MYCOTOXIN TOXICITY

¹Faixová, Z., ³Faix, Š., ³Leng, L., ²Váczi, P.

¹Institute of Pathophysiology, ²Department of Environmental protection, University of Veterinary Medicine in Košice, Slovak Republic, ³Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

Abstract

The aim of this study was to evaluate effect of deoxynivalenol on plasma indices and efficacy of dietary selenium to counteract toxicity of deoxynivalenol in growing broiler chicks. Three groups of broiler chicks were formed with 14 birds in each group. Three diets included control (0.2 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet), contaminated (3 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet) and contaminated (3 ppm deoxynivalenol) plus Sel-plex[®] (1.4 mg selenium/kg diet). After 6 weeks of feeding all birds were sacrificed and blood samples for chemical analyses were collected. Plasma calcium and alanine aminotransferase activity were significantly elevated and magnesium, total proteins, triglycerides and free glycerol were decreased in chicks fed deoxynivalenol-contaminated diet compared with those fed the control diet. Supplementation of Sel-plex[®] to the diet decreased plasma alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities and reversed plasma levels of magnesium in chicks induced by dietary deoxynivalenol. Chloride and phosphorus levels were not affected by diets. The inclusion of selenium to DON-contaminated diet, however, did not completely alleviate toxic effect on protein and lipid metabolism by the liver. Supplementation of selenium enriched yeast product (Sel-plex[®]) counteracted most of the plasma parameter alterations caused by deoxynivalenol-contaminated diet in chicks.

Introduction

Fusarium species occur widely on plants. They are found in a variety of agricultural products mainly on corn, wheat and other cereal grains for human and animal consumption.

Although more than 100 *Fusarium* mycotoxins are known, those fusariotoxins of most concern based on toxicity and occurrence on a worldwide basis are trichothecenes, zearalenone, fumonisins and moniliformin.

Deoxynivalenol (DON) is the most prevalent trichothecene in crops used for food and feed production. Toxic effects of DON on animals have been well documented and concern mainly the immune system and the gastrointestinal tract. The toxicity of DON is thought to be due to inhibition of protein synthesis and cytotoxicity was reported in a variety of cells.

Trichothecenes are also known to interfere with the metabolism of membrane phospholipids and to increase liver lipid peroxides *in vivo*.

The sensitivity to DON varies considerably between species. Poultry are more sensitive to DON than ruminants but less sensitive than pigs.

In order to avoid mycotoxicosis, several strategies have been investigated.

The most applied method for protecting animals against mycotoxicosis is the utilization of adsorbents mixed with the feed which are supposed to bind mycotoxins efficiently in the gastrointestinal tract. Many compounds have been tested for adsorptive effects on mycotoxins, but only few have proven successful (5).

Since some mycotoxins are known to produce membrane damage through increased lipid peroxidation, the protective properties of antioxidant substances have been extensively used.

Selenium, some vitamins (A, C and E) and their precursors act as superoxide anion scavengers. For these reasons, these substances have been used as protecting agents against

toxic effects of mycotoxins. Effect of selenium as protecting agent against toxic effects of mycotoxins has been reported by several researchers.

In a controlled study, Lin *et al.* (11) observed that selenium is able to reduce *in vitro* toxic effects of T-2 toxin on cultured chicken embryonic chondrocytes. These findings are in agreement with report of Shi *et al.* (15). They demonstrated that selenium inhibits aflatoxin B₁-DNA binding and adduct formation. The same authors (16) *in vitro* study on cultured hamster ovary cells found that sodium selenite and selenium-enriched yeast extract protect cells from aflatoxin B₁ cytotoxicity but not from mutagenicity.

However, much less information is available from studies on other mycotoxins, such as ochratoxin, zearalenone, deoxynivalenol, citrinin, moniliformin and fusaric acid.

The objective of this study was to evaluate the protective effect of selenium enriched product (Sel-plex[®]) to counteract toxicity of deoxynivalenol in growing broiler chicks.

Material and Methods

Three groups of broiler chickens were formed with 14 birds in each group. The birds were maintained on the floor for the course of the study. Three diets included control (0.2 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet), contaminated (3 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet) and contaminated (3 ppm deoxynivalenol) plus Sel-plex[®] (1.4 mg selenium/kg diet). Chicks were fed the diets from the day of hatch to 42 d of age.

All experimental procedures with animals were in accordance with European Guidelines for care and use of animals for research purposes and they were approved by a local ethic committee.

Then all birds were sacrificed and blood samples for chemical analyses were collected. Plasma was separated by centrifugation at 1 600 g for 10 min and stored at -20°C until analysis.

Alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities and concentration of calcium, magnesium, chlorides, phosphorus, total proteins, albumin, cholesterol, triglycerides and free glycerol were determined by the colorimetric methods using spectrophotometric kits. The mycotoxin doses were verified using ELISA method for DON.

The results are expressed as mean \pm S.E.M. Statistical significance was evaluated by ANOVA test.

Results

Plasma calcium and alanine aminotransferase activity were significantly elevated and magnesium, total proteins, triglycerides and free glycerol were decreased in animals fed the diet containing 3 ppm DON (Table 1).

Supplementation of Seplex[®] to the contaminated diet decreased plasma alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. Plasma concentration of magnesium and albumin were significantly increased if Sel-plex[®] was present in the diet. Chlorides and phosphorus levels were not affected by diets.

Inclusion of Sel-plex[®] to DON- contaminated diet, however, did not completely alleviate toxic effect on protein and lipid metabolism by the liver.

Table 1

Effect of dietary inclusion of deoxynivalenol and Sel-plex[®] on plasma indices in growing broiler chickens

Parameter	Control diet (0.2 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet)	Contaminated diet (3 ppm deoxynivalenol, 0.4 mg selenium/kg diet)	Contaminated diet (3 ppm deoxynivalenol) plus Sel-plex [®] (1.4mg selenium/kg diet)
Calcium (mmol/l)	2.171 ± 0.078 ^b	3.360 ± 0.347 ^{ab}	1.694 ± 0.091 ^a
Magnesium (mmol/l)	0.869 ± 0.052 ^b	0.349 ± 0.018 ^{ba}	0.892 ± 0.055 ^a
Chloride (mmol/l)	104.300 ± 4.887	114.400 ± 4.366	107.900 ± 1.284
Phosphorus (mmol/l)	1.011 ± 0.229	2.160 ± 0.249	3.011 ± 0.730
Alkaline phosphatase (μkat/l)	8.060 ± 0.819	10.720 ± 0.126 ^a	5.540 ± 0.629 ^a
Alanine aminotransferase (μkat/l)	0.251 ± 0.020 ^b	0.471 ± 0.004 ^{ba}	0.255 ± 0.020 ^a
Aspartate aminotransferase (μkat/l)	2.014 ± 0.165	2.129 ± 0.091 ^a	1.400 ± 0.087 ^a
Total protein (g/l)	39.110 ± 1.324 ^{ab}	27.590 ± 1.925 ^b	25.060 ± 1.287 ^a
Albumin (g/l)	16.260 ± 0.468 ^b	18.100 ± 0.323 ^a	25.773 ± 0.518 ^{ab}
Cholesterol (mmol/l)	4.089 ± 0.196 ^a	3.800 ± 0.343	2.816 ± 0.213 ^a
Triglycerides (mmol/l)	1.021 ± 0.068 ^{ab}	0.343 ± 0.220 ^b	0.506 ± 0.020 ^a
Free glycerol (mmol/l)	0.911 ± 0.068 ^{ab}	0.233 ± 0.023 ^b	0.395 ± 0.019 ^a

Values are mean ± S.E.M., n = 14. Significant differences within a row are indicated by using the same superscript letter, P < 0.01.

Discussion

The deoxynivalenol treatment significantly decreased plasma level of total protein of chicks. Our results are consistent with those of Kubena *et al.* (9) who found decreased total protein level in broiler chicks exposed to a DON (16 mg/kg) contaminated diet from 1 to 3 weeks of age.

Bergsjø *et al.* (4) reported a significant decrease in serum protein in growing pigs fed a diet containing 3.5 mg/kg DON. They considered that these effects may be secondary to the reduced feed uptake but inhibition of protein synthesis may play some role, too. One of the toxicities of DON was thought to be derived from the inhibition of protein synthesis. These data were confirmed by Mikami *et al.* (13).

We failed to demonstrate a protective effect of organic selenium against changes in protein metabolism in the liver induced by DON.

The toxicity of DON was expressed through decreased plasma triglycerides and free glycerol in broiler chicks. These findings are in agreement with the previous reports of Kubena *et al.* (8). DON has been reported to increase liver triglycerides and total liver lipid in White Leghorn hens fed a diet containing 0.25 or 0.70 ppm DON for 86 or 135 days.

Our results showed that Sel-plex[®] in the diet was ineffective in reducing the adverse effects of DON on lipid metabolism.

Dietary inclusion of 3 ppm DON resulted in increase plasma alanine aminotransferase activity, indicating liver damage. DON has also been reported to increase activities of aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and gamma glutamyltransferase in broiler chicks fed DON at 15 mg/kg, indicating possible tissue damage and leakage of the enzymes into the blood (10). Similar results were observed in horses and piglets fed *Fusarium* culture material.

Supplementation of organic selenium to the contaminated diet decreased plasma alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. Similar results were observed by Atroshi *et al.* (3) who reported that pretreatment with Co Q₁₀ (30 mg Co Q₁₀/kg diet) together with carnithine (2.8 mg carnithine/kg diet), alpha-tocopherol (30 IU vitamin E/kg diet) and selenium (1 mg selenium as sodium selenite/kg diet) decreased DNA damage and the activities of AST and ALT in the liver induced by fumonisin B₁ in rats.

In the present study, the administration of 3 ppm DON to diet altered plasma calcium. Previous data of Bergsjø *et al.* (4) reported a significant decrease in serum calcium and phosphorus in growing pigs fed a diet containing 3.5 mg DON /kg diet. DON has also been reported to induce weak hypocalcaemia in rats fed 1 mg/kg DON diet for 6 months, suggesting that calcium metabolism disorders during chronic action of mycotoxin could be partially associated with secondary vitamin D deficiency.

However, recently Gouze *et al.* (6) reported that electrolytes in plasma appeared to be insensitive to a 4-week exposure to low DON in mice.

The discrepancy between these results and our data could be due to a number of factors, including sensitivity to DON between species, DON-concentration, DON-source, animal genetics, sex and nutritional status.

Inclusion of organic selenium (Sel-plex[®]) in DON enriched diet of growing broiler chicks provided a significant protective effect against changes in calcium metabolism.

The role of dietary antioxidants such as vitamin C, E and selenium in preventing mycotoxins toxicity has attracted increasing attention at the present time and numerous trials are currently in progress to ascertain the benefits of these compounds in the diet.

Peng et Yang (14) observed that sodium selenite is able to reduce *in vitro* toxic effect of DON on cultured cardiomyocytes. Studies of Jakhar et Sadana (7) showed that supplementation of selenium (5 ppm sodium selenite) had some protective effect against the toxic effect of 1 ppm aflatoxin B₁ in Japanese quail.

However, McLeod *et al.* (12) reported that rats fed a selenium-deficient diet were resistant to aflatoxin B₁ than those fed a selenium-sufficient diet. According to the authors, the protection conferred by selenium deficiency against aflatoxin B₁ is associated with the hepatic expression of an aldo-keto reductase and a glutathione S-transferase subunit that efficiently metabolizes the mycotoxin.

Based on study on rats Atroshi *et al.* (2) concluded that selenium, vitamin E and vitamin C act as an antioxidant system and free radical scavenger that protects spleen and brain against membrane damage caused by T-2 toxin and DON. The same authors Atroshi *et al.* (1) reported a decrease of the GSH activity after two-week-treatment with ochratoxin in mice. Treatment of mice with the combined antioxidants could enhance hepatic oxidant/detoxification system, as indicated by increase in hepatic reduced glutathione level.

Our results show that dietary inclusion of deoxynivalenol resulted in changes of plasma indices in growing broiler chicks. Supplementation of organic selenium (Sel-plex[®]) counteracted most of the plasma parameter alterations caused by deoxynivalenol in broiler chicks.

On the basis of many reports about antimycotoxin action of antioxidant compounds and our findings it may be concluded that nutritional approaches for protection against mycotoxins should include increased levels of methionine, selenium and vitamin supplementation of affected diet. Mycotoxins, upon being absorbed, are detoxified in the liver, utilizing the glutathione system, which contains cystine (derivate of methionine). Hence the metabolic level of methionine is depleted, leading to poor growth and feed efficiency.

Higher levels of methionine, selenium and vitamin supplementation in feed, therefore, have been found to be beneficial.

Acknowledgments

This work was partially supported by the grants VEGA No 1/2443/05 and APVT 51004804. Dr. Z. Maková, PhD., Dr. R. Szabóová and Dr. J. Šimaiová are thanked for their technical assistance.

References

1. Atroshi F., Biese I., Saloniemi H., Ali-Vehmas T., Saari S., Rizso A., Veijalainen P.: *J Pharm Pharmaceut Sci* 2000, 3, 281-291.
2. Atroshi F., Rizzo A., Biese I., Lindberg L., Saloniemi H.: *J Anim Physiol Anim Nutr* 1995, 74, 157-164.
3. Atroshi F., Rizzo A., Biese I., Veijalainen P., Saloniemi H., Sankari S., Andersson K.: *Pharmacol Res* 1999, 40, 459-467.
4. Bergsjø B., Langseth W., Nafstad I., Jansen J.H., Larsen H.J.S *Vet Res Commun* 1993, 17, 283-294.
5. Diaz G.J., Cortés A., Rodán L.: *J Appl Poult Res* 2005, 14, 226-231.
6. Gouze M.E., Laffitte J., Rouimi P., Loiseau N., Oswald I.P., Galtier P.: *Food Chem Toxicol* 2006, 44, 476-483.
7. Jakhar K.K., Sadana J.R.: *Mycopathologia* 2004, 157, 99-109.
8. Kubena L.F., Harvey R.B., Corrie D.E., Huff W.E., Phillips T.D.: *Poult Sci* 1987, 66, 1612-1618.
9. Kubena L.F., Huff W.F., Harver B., Corrie D.E., Phillips T.D., Creger C.R.: *Poult Sci* 1988, 67, 253-260.
10. Kubena L.F., Edrington T.S., Harvey R.B., Buckley S.A. Phillips T.D., Tottinghaus G.E., Casper H.H.: *Poult Sci* 1997, 76, 1239-1247.
11. Lin Z.H., Li S.G., Wu L.Y., Sun S., Lu Q.W.: *J Clin Biochem Nutr* 1994, 17, 119-132.
12. McLeod R., Ellis E.M., Arthur J.R., Neal G.E., Judah D.J., Manson M.M., Hayes J.D.: *Cancer Res* 1997, 57, 4257-4266.
13. Mikami O., Yamamoto S., Yamanaka N., Nakajima Y.: *Toxicology* 2004, 15, 241-249.
14. Peng S.Q., Yang J.S.: *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2003, 37, 423-425.
15. Shi C.Y., Chua S.C., Lee H.P., Ong C.N: *Cancer Lett* 1994, 82, 203-208.
16. Shi C.Y., Hew Y.C., Ong C.N.: *Hum Exp Toxicol* 1995, 14, 55-60.

VIANOČNÉ KAPRE A FTALÁTY

Germuška, R., Vlčáková, M.

Štátny veterinárny a potravinový ústav, Dolný Kubín

Abstract

Phthalates are organic substances used mainly as plasticizers in the manufacture of plastics. They are much more readily soluble in organic solvents, and the longer their side chain, the higher their liposolubility and the boiling point.

This article describes the actual situation with phthalates in the fish during Christmas 2005. This monitoring was organised as an official control by State Food Safety Authority. State Veterinary and Food Institute in Dolny Kubin used GC/MS/MS method for determination of the phthalates in fish. Results confirmed of presence di(2-ethylhexyl) phthalate in fish.

Úvod

Estery kyseliny ftálovej, nazývané ftaláty, sú organické látky veľmi často používané v priemysle. Sú to bezfarebné alebo nažltlé olejové kvapaliny, bez zápachu. Veľmi dobre sa rozpúšťajú v organických rozpúšťadlách. Čím majú dlhší bočný reťazec, tým sa zvyšuje ich rozpustnosť v tukoch a zvyšuje sa ich bod varu.

Ftaláty nahradili predtým oveľa toxickejšie polychlórované bifenyly. Používajú sa ako plastifikátory – zlepšujú mechanické vlastnosti plastických materiálov, hlavne PVC. Hlavné ich využitie je pri výrobe hračiek [Európsky parlament dňa 5. júla 2005 schválil zákaz používania šiestich typov ftalátov pri výrobe hračiek a iných produktoch určených pre deti. Prvé tri typy ftalátov DEHP, DnBP, a BBP sa nesmú použiť ako zložky produktov v koncentráciách väčších ako 0,1% hmotnosti zmäkčovaného materiálu v akýchkoľvek hračkách a výrobkoch určených pre deti. Ďalšie tri ftaláty DIDP, DINP a DNOP sú zakázané v rovnakých koncentráciách vo všetkých výrobkoch, ktoré si môžu deti vkladať do úst, bez ohľadu na to, na aké použitie sú určené], parfumov [Directive 2003/15/EC zakázala používať v kozmetických výrobkoch DnBP a DEHP].

Tento široký rozmach použitia ftalátov v priemysle spôsobil kontamináciu životného prostredia. Ľudia a zvieratá sú vystavené tomuto nebezpečenstvu a to cez prijímanie potravy, dýchanie a kontaktom cez pokožku. Ftaláty nepriaznivo pôsobia na reprodukciu, na embryo v tele matky, na funkciu pečene a zvyšujú vznik astmy. V súčasnosti nie je legislatívne stanovený najvyšší prípustný limit ftalátov v potravinách, Európsky úrad pre bezpečnosť potravín zatiaľ určil tolerovateľnú dennú dávku.

Dňa 29.októbra 2003 Európska Komisia zverejnila návrh novej európskej legislatívy o chemikáliách, COM(2003)644. Podľa navrhovaného systému REACH (Registrácia, hodnotenie a autorizácia chemických látok), výrobcovia alebo dovozcovia chemickej látky v množstve väčšom ako 1 tona ročne, budú povinní ju zaregistrovať v centrálnej databáze. Cieľom navrhovaného nariadenia je zlepšiť ochranu ľudského zdravia a životného prostredia a podporovať inováciu a konkurencieschopnosť európskeho chemického priemyslu. REACH vyžaduje zodpovednejší prístup od priemyslu pri kontrole rizík, ktoré vyplývajú z chemikálií a poskytovanie informácií o chemických látkach. Zavedenie REACH systému sa predpokladá v rokoch 2006-2007. V súčasnosti prebiehajú konzultácie na medzinárodnej úrovni, ktorých cieľom je zdokonalenie a upresnenie návrhu REACH.

Greenpeace v snahe upriamiť pozornosť na nebezpečenstvo, ktoré nám hrozí pri nadmernom použití a využití chemikálií a na dôležitosť systému REACH, organizuje rôzne testy. V roku

2004 odobrali 2 vzorky rýb zo Štrbského plesa vo Vysokých Tatrách, kde bola potvrdená prítomnosť DEHP. V októbri 2005 testovalo 12 vzoriek kaprov na ftaláty. Vzorky (po 3 kusy) pochádzali z hypermarketov v Rakúsku, v Čechách, Poľsku a na Slovensku. Vo všetkých 3 slovenských vzorkách bolo zistené zvýšené množstvo diisobutyl ftalátu (DiBP), dinbutyl ftalátu (DnBP) a di(2-etylhexyl) ftalátu (DEHP).

Štátna veterinárna a potravinová správa poverila Štátny veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne (ďalej ako ŠVPÚ DK), aby otestoval ryby v predvianočnom období na prítomnosť ftalátov.

Materiál a metodika

Zlyofilizovaná vzorka ryby bola extrahovaná hexánom a prečistená. Seperácia bola prevedená na nepolárnej kapilárnej chromatografickej kolóne DB5-MS, 30 m x 0,25 mm ID, film 0,25 µm, J&W. Na kvantifikáciu bola použitá metóda externej kalibrácie. Ftaláty boli detekované hmotnostným detektorom (iónová pasca) pracujúcim v režime MS/MS (prístroj - plynový chromatograf SATURN 4D VARIAN s iónovou pascou), kde sa snímali po kolízií s héliom produkty:

Analyt	Parent ions (m/z)	RT (min)	Segment	Product ions (m/z)	CID RF (m/z)	CID Volt (V)
DMP	163	8,40	2	133	48	0,3
DEP	149	10,16	3	121	48	0,3
DiBP	149	13,33	3	121	48	0,3
DnBP	149	14,33	3	121	48	0,3
BzBuP	149	18,16	3	121	48	0,3
DEHP	149	19,76	3	121	48	0,3
DOP	149	22,18	3	121	48	0,3

Výsledky

V predvianočnom období 2005 inšpektori Štátnej veterinárnej a potravinovej správy odobrali 35 vzoriek rýb (kapor 23ks, pstruh 6ks, zmrazené filé 2ks, tolstolobik 1ks, pražma 1ks, sivoň 1ks, amur 1ks). Zistili sme, že v 13 vzorkách bol prítomný DEHP, v 2 vzorkách DnBP a v 1 vzorke DiBP.

Diskusia

Cielená kontrola rýb na obsah ftalátov v predvianočnom období poukázala na prítomnosť hlavne DEHP v rybách. Zistený obsah bol však 10 až 100 krát nižší ako zverejnil Greenpeace v 3 vzorkách kaprov zakúpených v slovenských hypermarketoch. Európsky úrad pre bezpečnosť potravín zatiaľ určil tolerovateľnú dennú dávku na 3,5 miligramu pre človeka s hmotnosťou 70 kilogramov. Aby sa človek dostal na túto dennú dávku, musel by denne zjesť 7 kg rýb. Priemerný slovenský spotrebiteľ skonzumuje ročne 4,3 kilogramu rýb. Odporúčaná zdravotná dávka je šesť kilogramov. Pritom priemer Európskej únie je 24 kilogramov rýb ročne. Z týchto údajov vyplýva, že pri konzumovaní rýb nemôže dôjsť k nadmernej kontaminácii organizmu.

Dôležité je pokračovať v monitoringu ftalátov v ďalších bioindikátoroch prostredia, pretože ftaláty sa nachádzajú v životnom prostredí a ku kontaminácii organizmu dochádza potom z rôznych zdrojov.

Vysvetlivky

GC/MS/MS – plynová chromatografia s hmotnostným detektorom

REACH – Registrácia, hodnotenie a autorizácia chemických látok

DEHP – di(2-etylhexyl) ftalát

DnBP – dinbutyl ftalát

DiBP – diisobutyl ftalát

BBP – benzylbutyl ftalát

DIDP – diisodecyl ftalát

DINP – diisononyl ftalát

DNOP – dinoctyl ftalát

Literatúra

1. Mikula P., Svobodová Z., Smutná M.: Phthalates: toxicology and food safety – a review. Czech J. Food Sci., 23: 217-223
2. Greenpeace: phthalates and alkylphenols in samples of Common carp (*Ciprinus carpio* L.) from 4 European countries, November 2005

OBSAH VYBRANÝCH MYKOTOXÍNOV V POTRAVINÁCH

CONTENT OF SELECTED MYCOTOXINS IN FOOD

Golian, J., Toman, R., Hreško, M.,¹

Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, ¹Štátny veterinárny a potravinový ústav
Dolný Kubín

Abstrakt

We were detected occurrence of selected mycotoxins in the samples of different products. from 38 of cereals, there were contaminated 5 samples of wheat by deoxynivalenol. We detected high concentration of DON in samples of wheat (3 mg. kg⁻¹). We were evaluated contents of T₂ – toxin in 30 samples of cereals. The contents of T₂ – toxin was under the detectable limit (0,075 mg. kg⁻¹) in all samples. 230 samples of cereals were evaluated to contents of fumosine B₁ + B₂. the contents of fumosine was 0,394 mg. kg⁻¹ in 5 samples, 0,425 mg. kg⁻¹ in 2 samples and 0,370 mg. kg⁻¹ in 1 sample. We were evaluated contents of zearalenon in 36 samples of cereals. The contents of zearalenon were under the maximal legal limit in all samples.

Úvod

Toxické účinky fuzáriových mykotoxínov kolíšu od hnačiek, zvracania, gastrointestinálnych zápalov až po nekompetitívnu inhibíciu proteosyntézy v eukaryotických bunkách (**Bretz et al., 2005**).

Jednotlivé druhy zvierat sa vyznačujú rozdielnou citlivosťou voči deoxynivalenolu. Najviac citlivé sú ošípané, nasledujú hlodavce, psy, mačky, hydina a prežúvavce. Už nízke hladiny deoxynivalenolu (0,05 až 0,1 mg.kg⁻¹ telesnej hmotnosti) vyvolávajú u ošípaných a psov zvracanie. Čínske epidemiologické štúdie uvádzajú, že deoxynivalenol môže mať emetické účinky aj na ľudský organizmus. Pokiaľ ide o chronické účinky, deoxynivalenol nepriaznivo ovplyvňuje rast (vyvoláva anorexiu a znižuje využiteľnosť živín), reprodukciu zvierat (menší počet mláďat) a oslabuje imunitu (**Pestka, Smolinski, 2005**).

Hlavnými znakmi trichotecénovej otravy zvierat je okrem zvracania aj strata hmotnosti, odmietanie potravy, krvavá hnačka, zápal kože, potraty i smrť. Deoxynivalenol má hemolytický účinok na erytrocyty a ako imunosupresant môže narušiť funkciu obličiek. Po akútnej otrave sa objavujú nekrózy gastrointestinálneho systému, kostnej drene a lymfoidných tkanív. Odmietanie potravy u zvierat sa pozorovalo pri dávke deoxynivalenolu 1 - 2 mg.kg⁻¹ krmiva (**Belajová, 2005**).

Trichotecény spôsobujú ochorenie ATA (alimentárna toxická aleukia – septická angína). Známe sú prípady intoxikácie z roku 1913, 1923 a z obdobia 2. svetovej vojny v bývalom ZSSR a to po konzumácii obilia, ktoré zimovalo pod snehom. U pacientov s týmto ochorením sa pozorovali poruchy krvotvorby, ktoré sa v neskoršom štádiu prejavovali oslabením imunitného systému. Úmrtnosť dosahovala až 60 % (**Šudyová, Šliková, Vančo, 2005**). V súčasnej dobe sa septická angína sporadicky vyskytuje v rozvojových krajinách (**Golian, 1998**). Ochorenie sa prejavuje zápalmi slizníc, hnačkami, leukopéniou, granulopéniou a lymfocytózou (**Toman, 2003**).

Hoci má zearalenón nízku akútnu toxicitu, vykazuje estrogénne účinky u myší, potkanov a najmä ošípaných. To sa prejavuje zväčšovaním maternice a opuchom vulvy samíc a prsných žliaz samcov. Tiež bolo indikované, že zearalenón a jeho metabolity môžu spôsobiť u niektorých živočíšnych druhov karcinogézu. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny

IARC klasifikuje zearalenón ako 2A karcinogén, čo je najvyššia možná klasifikácia, ak nie sú k dispozícii výsledky epidemiologických štúdií (**Belajová, 2005**).

Zearalenón má tiež teratogénne účinky a môže spôsobovať potraty. Keďže sa vylučuje do materského mlieka, jeho estrogénny vplyv sa môže prejavovať aj u detí (**Toman, 2003**).

Fumonizíny B₁ a B₂ vyvolávajú najväčší toxikologický záujem, pretože sa ukázalo, že spôsobujú leukoencefalomaláciu koní, pľúcny edém ošipovaných, nefrotoxicitu, hepatotoxicitu a rakovinu pečene potkanov a hovädzieho dobytku. Hoci karcinogenita u ľudí nie je definitívne potvrdená, rakovina pažeráka sa vyskytuje častejšie v tých regiónoch sveta, kde je kukurica základnou potravinou, a kde je vysoký výskyt plesne *Fusarium* a fumonizínovej kontaminácie (**Hlywka, Bullerman, 1999**). **Soriano, Dragacci (2004)** potvrdili, že existuje štatisticky preukázaná súvislosť medzi rakovinou pažeráka ľudí a konzumáciou kukurice v Južnej Afrike, severnom Taliansku a Iráne.

Štrukturálna podobnosť fumonizínu B₁ so sfingolipidmi viedla k hypotéze, že fumonizíny môžu inhibovať enzým sfingozín a sfinganín N-acyltransferázu. V dôsledku toho potom dochádza k akumulácii voľných sfinganínov, ktoré inhibujú rast a sú cytotoxické pre bunku, čo sa môže prejavovať porušením jej membránových štruktúr (**Soriano, Gonzáles, Catalá, 2005**).

Vplyv fumonizínov na syntézu lipidov v nervových bunkách sa môže u zvierat prejavovať rôznymi symptómami, napr. stratou chuti do jedla, poškodením nervového systému, hepatotoxicitou či poškodením pľúc (**FAO, 1990**).

Cetin, Bullerman (2005) skúmali cytotoxické pôsobenie deoxynivalenolu, zearalenónu, fumonizínu B₁ a moniliformínu na bunky cicavcov. Zistili, že vaječnikové bunky čínskych škrečkov boli najcitlivejšie voči pôsobeniu deoxynivalenolu a fumonizínu B₁ a keratínové bunky myši voči zearalenónu. Bunky pochádzajúce z pečeneového karcinómu vykazovali najvyššiu citlivosť voči moniliformínu. Zo všetkých štyroch testovaných mykotoxínov vykazuje najvyššiu cytotoxicitu deoxynivalenol, za ním nasledujú moniliformín, zearalenón a fumonizínu B₁.

Bunky ľudských lymfocytov a bunky cibule veľmi citlivo reagujú na fumonizín B₁. **Lerda et al. (2005)** pozorovali, že v bunkách cibule dochádzalo pôsobením fumonizínu B₁ k zvýšenému výskytu genetických poškodení – chromozómových aberácií a sesterských výmien chromatidov.

Materiál a metodika

Stanovenie deoxynivalenolu, T-2 toxínu, zearalenónu a fumonizínov B₁ + B₂ metódou ELISA

AgraQunat testy sú priame kompetitívne ELISA testy založené na schopnosti voľného mykotoxínu (vo vzorkách a štandardoch) súťažiť s enzymaticky značeným mykotoxínom (konjugátom) o väzobné miesta na protilátke, ktorá pokrýva mikrotitračné jamky. Po premytí sa pridá substrát, ktorý reaguje s naviazaným konjugátom za vzniku modrého sfarbenia. Vyššia intenzita modrej farby znamená nižšiu koncentráciu mykotoxínu. Výsledky testov sa odčítajú readrom, pomocou ktorého sa získajú optické denzity vzoriek. Optické denzity štandardov vytvoria kalibračnú krivku a z nej sa vypočítajú presné koncentrácie daného mykotoxínu vo vzorke.

Skladovanie:

Reagencie je potrebné uskladňovať pri teplote + 2 °C až + 8 °C.

Každá testovaná vzorka sa rozdrví použitím mlyna príp. drviča a dôkladne sa premieša tak, aby sa zabezpečila jej homogenizácia. Do sklenenej banky sa odváži 20 g zhomogenizovanej vzorky a pri stanovení na T-2 toxín a fumonizíny B₁ + B₂ sa pridá 100 ml 70

% metanolového roztoku. Pri stanovení na zearalenon sa k 70 % metanolovému roztoku pridajú 4 g NaCl. Pri stanovení na deoxynivalenol sa metanol nepridáva. Vzorka sa vyextrahuje destilovanou vodou v pomere 1 : 5 (vzorka : destilovaná vzorka) a prefiltruje sa cez Whatman No.1 alebo ekvivalentný filter. Pri stanovení na zearalenon sa extrakt zriedi v pomere 1 : 5 so 70 % roztokom metanolu, pri stanovení na deoxynivalenol v pomere 1 : 4 s destilovanou vodou, pri stanovení na T-2 toxín v pomere 1 : 10 s destilovanou vodou a pri stanovení na fumonizíny B₁ + B₂ v pomere 1 : 20 s destilovanou vodou. Štandardy pri stanovení na T-2 toxín sa riedia destilovanou vodou v pomere 1 : 10.

1. Do mikrotitračnej doštičky vložíme príslušný počet dilučných jamiek (označených modrým pásikom) a jamiek potiahnutých protilátkou pre všetky štandardy a vzorky.
2. Rozplníme 200µl konjugátu do každej dilučnej jamky pomocou osemkanálovej pipety. Pridáme 100µl štandardov a vzoriek do dilučných jamiek použitím jednokanálovej pipety.
3. Obsah dilučných jamiek 3-krát premiešame pomocou osemkanálovej pipety a preniesieme 100µl z každej jamky do jamiek potiahnutých protilátkou.
4. Inkubujeme 10 minút (zearalenon a T-2 toxín) alebo 15 minút (fumonizíny B₁ + B₂ a deoxynivalenol) pri teplote 20 – 25 °C.
5. Obsah jamiek vyprázdňujeme do pripravenej nádoby. Každú jamku doplníme premývacím roztokom a obsah vytrasieme do pripravenej dekontaminačnej nádoby. Zbytky premývacieho roztoku odstránime z jamiek vytrásením do savého papiera alebo papierovej vaty. Tento postup opakujeme 4x (spolu 5 premytí).
6. Rozplníme 100µl substrátu do každej jamky pomocou osemkanálovej pipety a inkubujeme 5 minút pri teplote 20 – 25 °C.
7. Rozplníme 100µl stopovacieho roztoku do každej jamky pomocou osemkanálovej pipety. Farba obsahu jamiek sa zmení z modrej na žltú.
8. Na mikroplatničkovom readri PR 2100 odčítame absorbanciu pri vlnovej dĺžke 450 nm s referenčným filtrom 620 nm (pri T-2 toxíne iba pri 450 nm).

Vypočítaným hodnotám $B_{\text{štandard}} / B_0$ sa priradia v semilogaritmickej krivke zodpovedajúce hodnoty koncentrácií mykotoxínov v ppm ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a zostrojí sa kalibračná krivka. Meranie absorbancie sa robí pomocou mikroplatničkového readera PR 2100 a vyhodnotenie výsledkov pomocou softwaru REVELATION.

Výsledky a diskusia

Množstvo deoxynivalenolu sme sledovali v 38 vzorkách obilnín a obilninových výrobkov. Kontaminovaných bolo 5 vzoriek (17,9 %) potravinárskej pšenice s obsahom DON $0,296 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 1 vzorka (100 %) pšeničných otrúb s obsahom $0,45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a 3 vzorky (37,5 %) potravinárskej raže s obsahom $0,37 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Analýzou 3 vzoriek (10,7 %) potravinárskej pšenice sme zistili tieto množstvá DON: $1,13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1,57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a $6,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Vzorky pšenice svojou priemernou koncentráciou $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DON výrazne prekročili stanovený limit $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. NPM prekročila tiež 1 vzorka potravinárskej raže, ktorá obsahovala DON v množstve $0,58 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Celkovo obsahovalo prijateľnú hodnotu DON 9 vyšetrených vzoriek (23,68 %) obilnín a výrobkov z obilnín, 4 vzorky (10,53 %) boli nadlimitné a 25 vzoriek (65,79 %) nedosiahlo detekčný limit $0,250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Na prítomnosť T-2 toxínu sme vyšetrili 30 vzoriek obilnín – 21 vzoriek pšenice, 8 vzoriek raže a 1 vzorka kukurice. Žiadna zo vzoriek obsahom T-2 toxínu nedosiahla detekčný limit $0,075 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Obsah zearalenónu sme zisťovali v 36 vzorkách obilnín (26 vzoriek pšenice, 9 vzoriek raže, 1 vzorka kukurice). Stanovili sme hodnotu $0,160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ v 1 vzorke (11,11 %) potravinárskej raže. Žiadna zo vzoriek neprekročila NPM stanovené pre ZEA. Obsah ZEA bol

v 1 vzorke (2,77 %) prijateľný a zvyšných 35 vzoriek (97,22 %) bolo pod detekčným limitom 0,040 mg.kg⁻¹.

Sumu fumonizínov B₁ + B₂ sme stanovili v 30 vzorkách obilnín. Fumonizíny sme zistili v 5 vzorkách (23,8 %) potravinárskej pšenice v množstve 0,394 mg.kg⁻¹, v 2 vzorkách (25 %) potravinárskej raže v množstve 0,425 mg.kg⁻¹ a v 1 vzorke (100 %) jedlej kukurice v množstve 0,370 mg.kg⁻¹. V Potravinovom kódexe SR je NPM stanovené iba pre FB₁ (0,5 mg.kg⁻¹), avšak ani suma FB₁ + FB₂ v našich vzorkách neprevýšila tento limit. Ostatné vzorky pšenice a raže nedosiahli detekčný limit 0,250 mg.kg⁻¹. Prijateľnú hodnotu FB₁ + FB₂ obsahovalo spolu 8 vzoriek (26,67 %) obilnín a 22 vzoriek (73,33 %) pšenice a raže nedosiahlo detekčný limit 0,250 mg.kg⁻¹.

Arranz et al. (2004) uvádzajú, že fumonizínová kontaminácia kukurice je pravdepodobne spôsobená suchým počasím v čase opelenia alebo krátko pred ním. Podľa **Hreška (2005)** dochádza k zvýšenej kontaminácii fuzáriovými toxínmi, medzi ktoré patrí i fumonizín B₁, najmä počas vegetačného obdobia s nadmernými zrážkami. **Papadopoulou-Bouraoui et al. (2004)** zastávajú názor, že chladné a vlhké podmienky prispievajú tiež k produkcii deoxynivalenolu, nivalenolu a T-2 toxínu.

Pri nízkych koncentráciách mykotoxínovej kontaminácie (0,05 – 1,0 mg.kg⁻¹) sa dexynivalenol akumuluje blízko vonkajšieho povrchu zrna. Koncentrácie DON vyššie ako 4,0 mg.kg⁻¹ môžu spôsobiť homogénnejšiu distribúciu tohoto mykotoxínu vzhľadom k prenikaniu mikromicét do hĺbky zrna. Potom obsah DON v múke pripravenej z vysoko kontaminovaného obilia môže byť porovnateľný s obsahom v otrubách (**Malíř, Ostrý, 2003**). Vzorky, ktoré sme posudzovali, mali obsah DON v priemere 1,648 mg.kg⁻¹ (pšenica) a 0,45 mg.kg⁻¹ (pšeničné otruby).

Literatúra

1. ARRANZ, I. – BAEYENS, W. R. G. – VAN DER WEKEN, G. – DE SAEGER, S. – VAN PETHEGAM, C. 2004. Review: HPLC determination of fumonisin mycotoxins. In *Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.*, vol. 44, 2004, no. 3, p. 195–203.
2. BELAJOVÁ, E. 2005. Mykotoxíny v potravinovom reťazci. In *Trendy v potravinárstve*, roč. 12, 2005, č. 4, s. 2-5.
3. BRETZ, M. – KNECHT, A. – GOCKLER, S. – HUMPF, H. U. 2005. Structural elucidation and analysis of thermal degradation products of the *Fusarium* mycotoxin nivalenol. In *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 49, 2005, no. 4, p. 309-316.
4. CETIN, Y. – BULLERMAN, L. B. 2005. Cytotoxicity of *Fusarium* mycotoxins to mammalian cell cultures as determined by the MTT bioassay. In *Food Chem. Toxicol.*, vol. 43, 2005, no. 5, p. 755-764.
5. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 1990. *Manuals of food quality control. 10. training in mycotoxins analysis 14/10*. Rome : FAO, 1990, 110 p., ISBN 92-5-102947-4.
6. GOLIAN, J. 1998. *Ochorenia z potravín*. Nitra : SPU, 1998, 123 s., ISBN 80-7137-519-5.
7. HLYWKA, J. J. – BULLERMAN L. B. 1999. Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in beer. In *Food Addit. Contam.*, vol. 16, 1999, no. 8, p. 319-324.
8. LERDA, D. – BIAGGI, B. M. – PERALTA, N. – YCHARI, S. – VAZQUEZ, M. – BOSIO, G. 2005. Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. In *Food Chem. Toxicol.*, vol. 43, 2005, no. 5, p. 691-698.
9. MALÍŘ, F. – OSTRÝ, V. 2003. *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno : Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských odborů, 2003, 349 s., ISBN 80-7013-395-3.

10. PAPADOPOULOU-BOURAOUI, A. – VRABCHEVA, T. – VALZACCHI, S. – STROKA, J. – ANKLAM, E. 2004. Screening survey of deoxynivalenol in beer from the European market by an enzyme-linked immunosorbent assay. In *Food Addit. Contam.*, vol. 21, 2004, no. 6, p. 607-617.
11. PESTKA, J. J. – SMOLINSKI, A. T. 2005. Deoxynivalenol : toxicology and potential effects on humans. In *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.*, vol. 8, 2005, no. 1, p. 39- 69.
12. SORIANO, J. M. – DRAGACCI, S. 2004. Intake, decontamination and legislation of fumonisins in foods. In *Food Research Int.*, vol. 37, 2004, no. 4, p. 367-374.
13. SORIANO, J. M. – GONZÁLEZ, L. – CATALÁ, A. I. 2005. Mechanizm of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B₁. In *Progress in Lipid Research*, vol. 44, 2005. no. 6, p. 345-356.
14. TOMAN, R. , MASSÁNYI, P., GOLIAN. J. 2003. *Toxikológia potravín*. Nitra : SPU, 2003, 113 s., ISBN 80-8069-1665.

Práca podporená riešením grantu VEGA 1/3475/06

BEZPEČNOSŤ A MIKROBIOLOGICKÉ RIZIKÁ KONZUMÁCIE MAJENÉZOVÝCH ŠALÁTOV

SAFETY AND MICROBIOLOGICAL RISKS OF CONSUMMATION OF MAYONNAISE SALADS

Golian, J., Šiška, B., Čarnogurský, J.,

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstrakt

We were evaluated microbiological safety of mayonnaise salads during 3 years in region of Nitra. There were too high contents of yeasts, coliform bacterias and *Staphylococcus aureus* in 12 samples of salads in year 2002. Contents of yeasts were high in 4 samples in year 2003 samples there were high contents of coliform bacterias and in 7. Contents of yeasts were high in 5 samples, contents of coliform bacterias were high in 15 samples in year 2004. Contents of yeasts were high than is maximal legal limit in 16 samples, contents of coliform bacterias were higher than is maximal legal limit in 21 samples and contents of *S. aureus* were higher than is maximal legal limit in 1 sample in year 2005. *Staphylococcus aureus* is the biggest health hazard for consumers.

Úvod

Zdravotná bezpečnosť potravín je podmienkou súčasnej potravinárskej výroby. Výroba bezpečných potravín je ovplyvňovaná viacerými faktormi, ktoré sa rozdielnou mierou podieľajú na ekonomike výroby. Za bezpečné potraviny možno považovať iba také, ktoré neobsahujú patogénne alebo podmienene patogénne mikroorganizmy, ani cudzorodé, zdraviu škodlivé alebo toxické látky, a u ktorých je miera rizika veľmi nízka. Preto je pri výrobe potravín nevyhnutné stanoviť dôležité mikrobiologické kritéria, kontrolovať ich a tak zvyšovať bezpečnosť potravín.

Mikroorganizmy v prostredí predstavujú vysoké riziko pre výrobu a balenie potravín, liečiv a kozmetických prípravkov. Prvým krokom k aplikácii preventívnych opatrení je mikrobiálne monitorovanie prostredia priamo na výrobnom mieste. V minulosti používané neštandardné metódy poskytovali ťažko reprodukovateľné a porovnateľné výsledky a tým znižovali význam monitoringu v praxi (Pitzura, 2001).

Vo vzduchu sa môžu vyskytovať spóry plesní, spóry baktérií, prachové alebo kvapalné častice, v ktorých sa mikroorganizmy nachádzajú. Kontaminácia zo vzduchu sa musí brať do úvahy vždy, keď ide o nezabalené potraviny určené na priamy konzum alebo materiály určené na priamy styk s potravinami, na ktorých mikroorganizmy alebo formy ich života zostanú zachované (Hudecová a Majtán, 2002).

Výskyt baktérií na povrchoch, ktoré sú v kontakte s potravinami zvyšuje riziko krížovej kontaminácie týchto mikroorganizmov a potravín. Riziko bolo posúdené ako nižšie, keď je povrch suchý a to preto, že môže byť redukovaný rast a prežitie baktérií. Niektoré nesporelujúce baktérie sú schopné znášať suché podmienky na povrchoch dlhšie časové obdobie. Výskum odhalil fakt, že patogény zostávajú životaschopné aj na suchých antikorových povrchoch a predstavujú riziko dlhší čas, v závislosti od stupňa kontaminácie a typu patogénu (Kusumaningrum et al., 2003).

Majonéza patrí k najviac používaným zložkám lahôdkarských výrobkov. Vyrába sa emulgiáciou jedlých rastlinných olejov a vodnej fázy obsahujúcej vodu, soľ, cukor, ocot, polysacharidy a ďalšie aditíva a chuťové látky. Emulgátorom je vaječný žĺtok. Podľa Codex Alimentarius sa za majonézu považujú iba emulzné systémy s viac ako 65 % oleja (Míková, 2002).

Kvantifikácia rizika krížovej kontaminácie, spojeného s rôznymi krokmi v príprave potravín, môže poskytnúť vedecký základ pre úsilie manažmentu rizika v domácnosti aj v spoločnom stravovaní (**Chen et al., 2001**).

Materiál a metodika

Mikrobiologickú kvalitu majonézových šalátov sme hodnotili počas štyroch rokov (2002, 2003, 2004, 2005) v Nitrianskom kraji. Spolu sme analyzovali 880 vzoriek majonézových šalátov. Za sledované obdobie bolo analyzovaných 42 druhov majonézových šalátov. Vzorky šalátov boli odoberané z obchodnej a reštauračnej siete.

Ukazovatele mikrobiologickej kvality šalátov - koliformné baktérie, kvasinky, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* a anaeróbne baktérie sme satovali podľa platných noriem.

Výsledky a diskusia

Za ukazovatele hodnotiace mikrobiologickú kvalitu šalátov sú stanovené koliformné baktérie, kvasinky, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* a anaeróbne baktérie. *Salmonella sp.* a anaeróbne baktérie počas rokov 2002 – 2005 neboli preukázané ani v jednej odobranej vzorke šalátu, čiže šaláty spĺňali kritéria stanovené Potravinovým kódexom SR. Koliformné baktérie, kvasinky a *S. aureus* v niektorých šalátoch boli stanovené v nadlimitných množstvách, preto sme sa pri vyhodnocovaní zamerali len na tieto ukazovatele. Vzorka šalátu bola posúdená ako nevyhovujúca ak ktorýkoľvek sledovaný znak presahoval povolenú limitnú hodnotu.

Graf 1 zobrazuje počty odobraných vzoriek šalátov za obdobie rokov 2002 – 2005 (ďalej za sledované obdobie), počty odobraných vzoriek majonézových šalátov za sledované obdobie a počty odobraných vzoriek nemajonézových šalátov za sledované obdobie (tie uvádzame len pre porovnanie počtu odobraných vzoriek, v tejto práci neboli hodnotené).

Počet odberov majonézových šalátov sa od roku 2002 až po rok 2004 mierne zvyšoval. V roku 2003 sa počet odberov zvýšil v porovnaní s rokom 2002 o 18,79 %, v roku 2004 oproti roku 2002 o 16,45 %. Prírastok 120 % odberov v roku 2005 je zapríčinený zmenou veľkosti priestorového záberu odberov vzoriek.

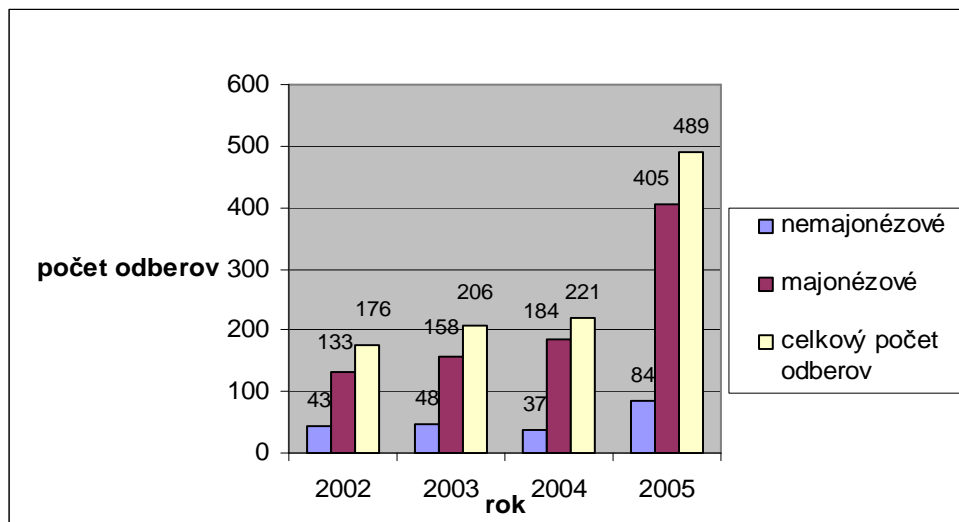
Hodnotili sme počty nevyhovujúcich šalátov za sledované obdobie vzhľadom na prekročené hodnoty kvasiniek, koliformných baktérii a prítomnosť *S. aureus* (**graf 2**). V roku 2002 nevyhovovalo požiadavkám Potravinového kódexu dvanásť šalátov v dôsledku vysokého počtu kvasiniek, koliformné baktérie boli prekročené u deviatich šalátov, *S. aureus* bol prítomný v dvoch vzorkách šalátov. V roku 2003 boli v štyroch prípadoch prekročené hodnoty kvasiniek a v siedmych šalátoch koliformné baktérie. V roku 2004 boli kvasinky prekročené u piatich šalátov, koliformné baktérie v pätnástich prípadoch a v roku 2005 kvasinky prekročili normu v šestnástich šalátoch, koliformné baktérie v dvadsaťjeden šalátoch, *S. aureus* bol identifikovaný v jednej vzorke šalátu. Z priebehu tohto grafu vyplýva, že za mikrobiálnu kontamináciu v prevažnej miere zodpovedajú koliformné baktérie. *Staphylococcus aureus* bol za sledované obdobie stanovený v troch vzorkách, podľa Potravinového kódexu sa *S. aureus* nemôže v šalátoch vôbec vyskytovať.

Graf 3 zobrazuje počty nevyhovujúcich majonézových šalátov za sledované obdobie. V roku 2002 bolo jedenásť šalátov nevyhovujúcich vzhľadom na vysoký počet kvasiniek, jeden šalát nevyhovoval požiadavkám na obsah koliformných baktérii a v dvoch bola zistená prítomnosť *S. aureus*. V roku 2003 norme na obsah koliformných baktérii nevyhovovali 4 šaláty, kvasiniek 2 šaláty, v roku 2004 koliformným baktériám 7 šalátov, kvasinkám 4

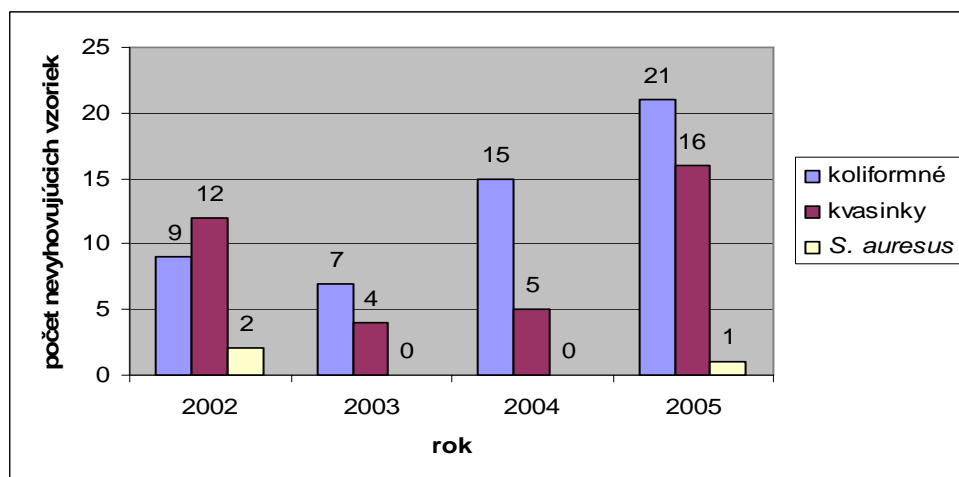
šaláty. V roku 2005 boli počty koliformných mikroorganizmov zvýšené u 12 šalátov, kvasinky u 8 šalátov, v jednej vzorke bola stanovená prítomnosť *S. aureus*.

Nebezpečenstvo hroziace prítomnosťou baktérie *S. aureus* je zvýšené jeho rezistenciou voči tradičným antibiotikám. **Miyamoto (2006)** uvádza, že ochorenia vypuknuté v spoločnosti rezistentnou formou *Staphylococcus aureus*, spôsobili vážne choroby až smrť u predtým zdravých detí a dospelých. Pre zníženie šírenia takýchto bakteriostaticky rezistentných patogénov schopných vyvolať ochorenie v spoločnosti, je potrebné lepšie pochopenie podmienok ich prežitia a šírenia.

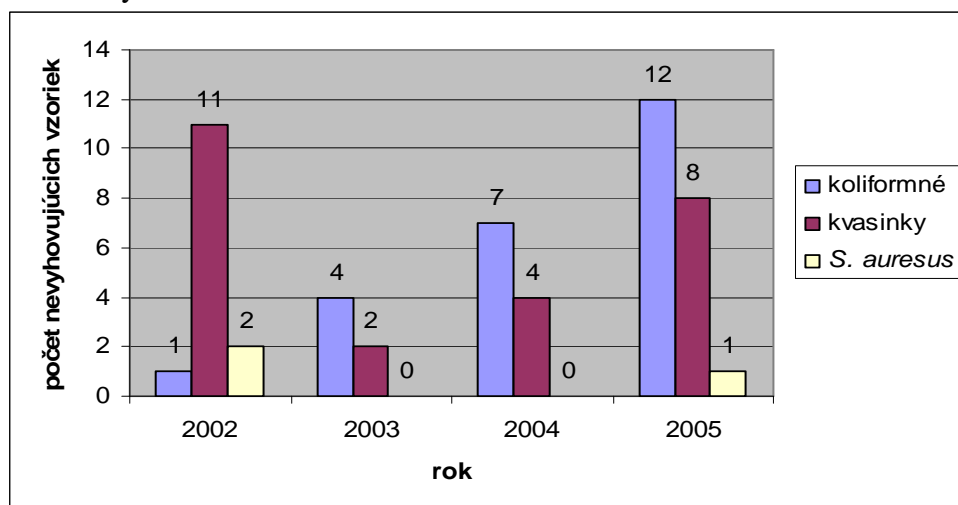
Graf 1 Počty odberov vzoriek šalátov za rok 2002 – 2005



Graf 2 Počty nevyhovujúcich vzoriek šalátov za roky 2002 – 2005 podľa sledovaných kritérií



Graf 3 Počty nevyhovujúcich majonézových šalátov za roky 2002 – 2005 podľa sledovaných kritérií



Literatúra

1. HUDECOVÁ, D. – MAJTÁN, V. 2002. Mikrobiológia I. Vydavateľstvo STU, Bratislava, 2002, 189s., ISBN 80-7137-742-2.
2. CHEN, Y. H. – JACKSON, K. M. – CHEA, F. P. – SCHAFFNER, D. W. 2001. Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food services. *Journal of Food Protection*, 64, 2001, p. 72 – 80.
3. KUSUMANINGRUM, H. D. – RIBOLDI, G. – HAZELEGER, W. C. – BEUMER, R. 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 2003, p. 227 – 236.
4. MÍKOVÁ, K. 2002. Majonézy z hygienického a výživového pohľadu. In : Výživa a potraviny, roč. 57, 2002, č. 3, s. 5 – 6.
5. MIYAMOTO, K. – FISHER, D. J. – LI, J. – SAYEED, S. – AKIMOTO, S. – MCCLANE, B. A. 2006. Complete sequencing and diversity analysis of the enterotoxin- encoding plasmids in *Clostridium perfringens* type A non-food-borne human gastrointestinal disease isolates. *J. Bacteriol.* 188 (4), 2006, p. 1585 – 1598.
6. PITZURA, O. 2001. Microbial air monitoring in food industry. *Laboratory Journal*, 2, 2001, 62 – 64.

Práca podporená riešením grantu VEGA 1/3475/06

SYSTÉM SAMOKONTROLY V MLIEKARENSKEJ PREVÁDZKE

SYSTEM OF SELF-CONTROL IN DAIRY FACTORY

Golian, J.,¹ Zajác, P.,² Vácziová, Z.²

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, ²Štátny veterinárny a potravinový ústav Nitra, Národné referenčné laboratórium pre mlieko a mliečne výrobky

Abstract

Requirements for execution of self-control are given by legislation in Slovakia. Self-control is process of data capturing, data analyses and evaluations of data related to the production process to ensure that production process is under the control and products meet specified qualitative and hygienic requirements. Results captured by self-control should be applied for auto-control system. Auto-control is a system based on official use of results of self-monitoring obtained by a factory.

Úvod a legislatíva

Podľa Zákona o potravinách č. **152/1995 Z.z.** v znení neskorších predpisov podnikatelia, ktorí vyrábajú potraviny, manipulujú s nimi a uvádzajú ich do obehu, sú povinní zabezpečiť podmienky dodržiavania hygieny, požiadavky zdravotnej neškodnosti a kvality vyrábaných potravín a zabezpečiť podmienky a predpoklady, aby potraviny zodpovedali ustanoveniam tohto zákona. Podnikatelia sú ďalej povinní zabezpečiť pri vyrábaných potravinách pravidelnú kontrolu nad dodržiavaním požiadaviek na zdravotnú neškodnosť a kvalitu (**vlastná kontrola**) ustanovených potravinovým kódexom a viesť o tom evidenciu.

Podľa Nariadenia (ES) č. **852/2004**, musia prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, ktorí vykonávajú ktorýkoľvek stupeň výroby, spracovania a distribúcie potravín po prvovýrobe a s ňou spojených operáciách zaviesť, vykonávať a dodržiavať postupy založené na analýze nebezpečenstiev a zásadách kritických kontrolných bodov. Táto činnosť je úzko spätá s výkonom samokontroly v mliekarenskej prevádzke.

Podľa Nariadenia (ES) č. **853/2004**, prevádzkovatelia potravinárskych podnikov zabezpečujú, aby všetky stupne výroby, spracovania a distribúcie potravín pod ich kontrolou spĺňali príslušné hygienické požiadavky ustanovené určením kritických limitov v kritických kontrolných bodoch, ktoré pre zabránenie, vylúčenie alebo zníženie identifikovaných nebezpečenstiev oddeľujú prijateľnosť od neprijateľnosti.

Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov spolupracujú s príslušnými orgánmi v súlade s ostatnými uplatniteľnými právnymi predpismi spoločenstva a v zmysle Nariadenia (ES) č. **854/2004**. Ak sú prevádzkovatelia potravinárskych podnikov informovaní o problémoch zistených počas úradných kontrol, musia prijať vhodné nápravné opatrenia.

Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov musia pravidelne kontrolovať hlavné príslušné parametre (najmä teplotu, tlak, tesnosť uzáverov a mikrobiológiu), aj s použitím automatických prístrojov, aby zabezpečili, že používaný proces dosahuje požadované ciele.

Vykonávaním Nariadenia (ES) č. **854/2004** nie je dotknutá primárna právna zodpovednosť prevádzkovateľov potravinárskych podnikov za zabezpečenie bezpečnosti potravín, ako je uvedené v Nariadení (ES) č. **178/2002**, ktoré ustanovuje všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, a ktorým sa ustanovujú postupy vo veciach bezpečnosti potravín a akejkolvek občiansko-právnej alebo trestnej zodpovednosti vyplývajúcej z porušenia týchto povinností.

Význam a úloha samokontroly

Samokontrola je proces získavania, analyzovania a vyhodnocovania údajov spätých s výrobným procesom, za účelom uistenia sa že výrobný proces je pod kontrolou a vyrábané výrobky spĺňajú kvalitatívne a hygienické kritériá.

Samokontrolu je nutné vykonávať za účelom splnenia legislatívnych požiadaviek a predovšetkým za účelom zabezpečenia výroby hygienicky bezpečných potravín.

Náplň samokontroly v mliekarenskej prevádzke

Je potrebné zdefinovať frekvenciu:

- mikrobiologickej kontroly vstupnej suroviny (napr. celkový počet mikroorganizmov a počet somatických buniek v surovom kravskom mlieku, mikrobiologické vyšetrenie vstupnej suroviny pre tavené syry ...),
- kontroly prítomnosti rezíduí inhibičných látok vo vstupnej surovine,
- kontroly prítomnosti pesticídov a antiparazitík vo vstupnej surovine,
- mikrobiologickej kontroly finálnych výrobkov v rámci vnútornej kontroly v laboratóriu mliekarenskej prevádzky,
- mikrobiologickej kontroly finálnych výrobkov v akreditovanom skúšobnom laboratóriu,
- mikrobiologickej kontroly pitnej vody v zmysle Nariadenia vlády SR č. 354/2006 Z.z.,
- mikrobiologickej kontroly prevádzkovej hygieny v mliekarenskej prevádzke,
- mikrobiologickej kontroly osobnej hygieny v mliekarenskej prevádzke,
- mikrobiologickú kontrolu obalových materiálov,
- laboratórnych vyšetrení pre všetky výrobné procesy a výrobky,
- kontroly balenia a senzorických vlastností finálnych výrobkov.

Laboratórne vyšetrenia kvalitatívnych a hygienických parametrov finálnych výrobkov je nutné vykonávať v zmysle platnej legislatívy. Laboratórne vyšetrenia musia byť zamerané na kontrolu patogénnych a podmienenčne patogénnych mikroorganizmov (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* a ďalších), na kontrolu rádioaktivity, toxických produktov mikroskopických vláknitých húb (napr. aflatoxíny), na vyšetrenie PCB, Pb, Hg, Cd, dusitanov, dusičnanov a ďalších kontaminantov.

Ďalej je potrebné zdefinovať:

- množstvá odobratých vzoriek
- výrobné dávky a výrobné šarže
- konkrétnu zodpovednosť za výkon jednotlivých častí samokontroly

Každý plán samokontroly musí mať spracovaný akčný plán pre prípad zistenia prítomnosti patogénnych a podmienenčne patogénnych mikroorganizmov vo finálnych výrobkoch.

Plán musí obsahovať postup pre skladovanie a označenie podozrivých výrobkov, postup pre odber vzoriek. O zadržaných výrobkoch sa musí viesť evidencia (dátum výroby, výrobná šarža, množstvo a dátum zadržania, uvoľnenia). Plán musí ďalej obsahovať postup pre stiahnutie už vyexpedovaných výrobkov a určenie zodpovednosti za priebeh ďalšieho postupu. **Výsledky získané zo samokontroly priamo vo výrobnej prevádzke je možné použiť pre výkon nového systému – autokontroly.**

Za predpokladu, že bude možné overiť spoľahlivosť výsledkov získaných vo výrobnej prevádzke, v budúcnosti by mohli tieto nahradiť laboratórne výsledky oficiálnej kontroly.

Je autokontrola novým konceptom?

Autokontrola sa zakladá na princípoch štatistickej procesnej kontroly. Je to známa technika pre kontrolu kvality, ktorá sa široko využíva vo výrobe tovarov s definovanými špecifikáciami kvality. Vo veľkých potravinárskych firmách sa kontrola kvality často rutinne monitoruje pomocou moderných techník ako infračervená analýza. Výrobcovia mliečnych výrobkov sa potrebujú uistiť o tom, že ich výrobok je v súlade so špecifikáciou (legislatívnymi požiadavkami). Ak výrobok nie je v súlade so špecifikáciou musia vykonať nápravné opatrenia. Infraštruktúra a prístrojové vybavenie potrebné pre implementovanie autokontroly sú preto v mnohých prevádzkach už prítomné.

Za účelom využitia dát získaných v prevádzke pre vytvorenie úradnými orgánmi akceptovateľného systému autokontroly sa dáta musia zozbierať, nahráť, spracovať vopred odsúhlaseným spôsobom. Okrem toho sa musia zaviesť verifikované postupy na kontrolovanie dôveryhodnosti získaných dát.

U výrobcov so zabehnutým systémom kontroly kvality, u ktorých sa bežne dosahuje malá hodnota štandardnej odchýlky výrobného procesu bude možné stanoviť dlhodobý procesný priemer, ktorý bude veľmi blízko k dovoleným limitom. Keďže výrobca by mal hodnoty dlhodobého priemeru výrobného procesu a štandardnej odchýlky dlhodobého výrobného procesu predložiť úradnej kontrole, mal by si byť nimi istý, a mal by si byť istý aj tým, že dokáže udržať výrobný proces pod kontrolou.

Ideálny stav je ak sa po stanovení priemeru výrobného procesu, štandardnej odchýlky výrobného procesu, a po ich predbežnom schválení úradným kontrolným orgánom vytvorí systém, ktorý funguje už bez ďalšieho zasahovania.

Je veľmi dôležité aby výrobcom získané dáta boli čo najpresnejšie. Kompetentný orgán by v prípade autokontroly mal kompetenciu vykonávať kontroly v rámci ktorých by identickú vzorku nechal analyzovať u výrobcu ako aj v úradnom kontrolnom laboratóriu (napr. Národné referenčné laboratórium pre mlieko a mliečne výrobky v Nitre) a pomocou štatistických postupov by mohol zistiť či nedochádza k výraznému odchýleniu sa výsledkov výrobcu od výsledkov úradného kontrolného laboratória. Laboratória výrobcov by sa preto mali v pravidelných intervaloch zúčastňovať medzilaboratórných skúšok spôsobilosti, najlepšie organizovaných v Národnom referenčnom laboratóriu pre mlieko a mliečne výrobky v Nitre. V medzilaboratórných skúškach spôsobilosti sa skúša identická vzorka vo viacerých laboratóriách a umožňuje výrobcovi porovnať si jeho výsledok s výsledkami ostatných laboratórií. Na základe výsledkov medzilaboratórných skúšok spôsobilosti môže výrobca vykonávať nápravné opatrenia. Taktiež sa odporúča vykonávať tréning personálu laboratória výrobcu priamo v laboratóriu kontrolného orgánu za účelom zosúladenia laboratórných metodík. Existuje tu aj možnosť vykonať tréning personálu laboratória priamo u výrobcu. Takýto postup by si vyžiadal kooperáciu kompetentného úradného laboratória.

Výkon takýchto činností je nevyhnutný, pretože zo skúseností z laboratórnej praxe vyplýva, že aj nepatrné rozdiely v metodike môžu výrazne ovplyvniť výsledok skúšky.

Aké sú výhody autokontroly pre výrobcu?

Existuje celá rada výhod pre výrobcu ako napríklad:

- autokontrola umožňuje lepšie vykonávať celkovú kontrolu kvality výrobku pretože, využíva podstatne väčší počet výsledkov než je tomu v prípade úradnej kontroly,
- nezvyšuje výrazným spôsobom náklady výrobcu na výkon analýz za predpokladu že disponuje vyškoleným personálom so štatistickými vedomosťami,
- poskytuje okamžité informácie o kvalite výrobku pre výrobcu ako aj zákazníka,
- na základe výsledkov autokontroly sa môžu vykonávať okamžité rozhodnutia bez nutnosti čakania na výsledky úradnej kontroly,
- umožňuje výrobcovi lepšie plánovať výrobný proces,

- umožňuje, aby sa malé množstvo výsledkov nachádzajúcich sa mimo stanovený limit ešte akceptovalo a aby nebola zničená celá výrobná dávka,
- je prevenciou pred rizikom zamietnutia veľkých dodávok výrobku na základe nevyhovujúcich výsledkov úradných kontrol,
- je prevenciou pred diskusiou o rozdieloch medzi výsledkami úradnej kontroly a vnútornej kontroly
- stav keď je autokontrola oficiálne schválená je možnou marketingovou výhodou pretože dáva výrobcovi vyšší kredit keďže systém kontroly bol schválený kontrolným orgánom.

Záver

Požiadavky pre výkon samokontroly sú v Slovenskej republike dané legislatívou. Zavedenie efektívneho systému samokontroly spolu so systémom zabezpečenia kontroly hygieny potravín HACCP napomáha výrobcovi zaručiť hygienickú bezchybnosť finálneho výrobku.

Systém autokontroly by v budúcnosti mohol prispieť k skvalitneniu systému samokontroly v mliekarenských prevádzkach a tým k zvýšeniu bezpečnosti potravín. Systém autokontroly by sa mal zaviesť na základe dobrovoľnosti a mal by vychádzať z dát, ktoré mliekareň predloží kontrolnému orgánu. Pre zavedenie systému autokontroly je nutná úzka spolupráca medzi výrobcom a kontrolným orgánom.

Literatúra

1. Derek Farrington: Document No.CHEM/40162/2006 Auto-control – an explanatory paper. Experts group on milk and milk products, European Commission, Brussels, (May, 2006).
2. *Nariadenie (ES) č. 178/2002 Európskeho parlamentu a Rady z 28. januára 2002, ktoré ustanovuje všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje sa Európsky orgán pre bezpečnosť potravín a ktorým sa ustanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín.*
3. *Nariadenie vlády SR č. 354/2006 Z.z. ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenú na ľudskú spotrebu a kontrolu kvality vody určenej na ľudskú spotrebu.*
4. *Nariadenie (ES) č. 852/2004 Európskeho parlamentu a Rady z 29. apríla 2004, o hygiene potravín.*
5. *Nariadenie (ES) č. 853/2004 Európskeho parlamentu a Rady z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.*
6. *Nariadenie (ES) č. 854/2004 Európskeho parlamentu a Rady z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné predpisy na organizáciu úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu.*
7. *Zákon o potravinách č. 152/1998 Z.z. v znení neskorších predpisov.*

Práca podporená riešením grantu VEGA 1/3475/06

KONTROLA KVALITY HYDINOVÝCH PÁRKOV

EVALUATION OF POULTRY FRANKFURTERS QUALITY

Haščík, P., Čuboň, J., Kačániová, M., Kulíšek, V.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

In this study we followed the sensorical and chemical qualitative parameters of poultry frankfurters from the Bratislava different stores. Achieved results we compared with norm of this sort product. We detected that sensorical evaluation of poultry frankfurters were default quality firstly in area of taste. Others results of sensorical evaluation with 3 points and below contributed about worse quality with clear sensorical error of product. From the nutritional structure as much as 4 corporations were advanced of water up allowed limit 62 %. The content fat were either or lower or higher norm, but were respond to requests of norm. The requests of norm were maximum 33 %. The worst parameter was higher content of sodium chloride, which often were higher than limit 2,3 % and doubly. These products from this perspective were taste under. The content of sodium chloride can be create disease in the human organism of long consummation

Key words: meat products, frankfurters, sensorical quality, chemical composition

Úvod

Mäso je z nutričného hľadiska veľmi cenné, nakoľko je zdrojom plnohodnotných bielkovín, nenasýtených mastných kyselín, vitamínov a minerálnych látok. Mäso je často považované za nenahraditeľnú zložku výživy a v prípade jeho náhrady je veľmi ťažké vybrať prirodzenú stravu len na báze rastlinných potravín. Rastlinné potraviny je nutné pre zabezpečenie správne nutričnej požiadavky človeka kombinovať minimálne s mliekom a vajíčkami (Pipek, 1995).

Pipek (2000) uvádza, že potravinová bezpečnosť agrárnej koncepcie vymedzuje slovenskému poľnohospodárstvu úlohu zabezpečiť v základných komoditách agropotravinový trh SR vlastnou domácou produkciou potravín a potravinových surovín v rozsahu reálneho spotrebiteľského dopytu tak, aby úroveň zabezpečovania v podmienkach relatívne otvoreného trhu neklesla pod 90 %. V oblasti výživy obsahová mnohotvárnosť a pestrosť znamená organickú vyváženosť. Niektoré alternatívne smery vo výžive niekedy nadmerne akceptujú rastlinné zdroje a u časti verejnosti vytvárajú zaujato nepriaznivý postoj k mäsu, mäsovým výrobkom a ostatným potravinám živočíšneho pôvodu.

Drdák a kol. (196) konštatujú, že výživa je základným predpokladom ľudskej existencie. Z toho vyplýva veľký ekonomický a sociálny význam procesov, ktoré súvisia so spoločenskou a individuálnou realizáciou uspokojenia dopytu po potravinách. Strava musí byť pestrá, musí obsahovať dostatočné množstvo živín, vitamínov ako aj minerálnych látok.

Mäso je podľa pipeka (1995) považované za nenahraditeľnú zložku výživy, aj keď je iste možné zaistiť plnohodnotnú výživu aj bez mäsa. Nutné je však pritom prirodzenú stravu zahrňujúcu mäso nahradiť inými zdrojmi a pri ich výbere je dôležité predovšetkým vybrať a kombinovať rastlinné potraviny s mliekom a vajíčkami.

Zo zdravotného hľadiska existuje isté optimum spotreby mäsa, ktoré je určené tak zvyklosťami ako aj fyziologickými potrebami určitej populácie. V našej oblasti predstavuje optimum spotreby mäsa na obyvateľa približne 90 kg za rok. Pri vyšších spotrebách dochádza často k nežiaducim zmenám mikrobiálnych procesov v tráviacej sústave a začínajú sa tvoriť vo

väčšej miere aj hnilobné procesy, ktoré zvyšujú v organizme tak podiel biogénnych amínov, resp. dochádza k prebytku purínových báz, čo vedie často k hyperglykémii, ukladaniu kyseliny močovej v kĺboch a iným závažným ochoreniam (Pipek, 1995).

Mäso v priemere obsahuje 72 až 76 % vody, 19 % bielkovín, 2 % extraktívnych dusíkatých látok, 1-3 % tuku a 1 % minerálnych látok (Hudec et al., 1971).

Okrem mäsa z rôznych druhov zvierat dôležitou zložkou v potravinovom reťazci človeka sú aj mäsové výrobky, pričom ich samotná výroba má veľmi starú históriu. Spočiatku išlo len o nasolenie mäsa, jeho drobenie a miešanie so zmesou rôznych bylín. V súčasnosti patria mäsové výrobky medzi najpočetnejšie v rámci potravinového priemyslu a vďaka ich výrobe sa stala mäsová výroba najrozsiahlejšou a najzložitejšou výrobnou fázou v mäsovom priemysle (Drdák et al., 1996).

Pre požadovanú kvalitu mäsových výrobkov je nutné dodržiavať správny technologický postup výroby, ktorý sa skladá z prípravy diela, solenia, prídavku pomocných látok a tepelného opracovania. Kvalita mäsových výrobkov je posudzovaná cez komplex senzoričných, nutričných, fyziologických, hygienických, toxikologických a spracovateľsko-technologických ukazovateľov (Franklová, 1993).

Len správne deklarované hodnoty tohto komplexu ukazovateľov, ktoré sú dané pre jednotlivé typy výrobkov z hľadiska predpísaných štátnych noriem sú dobrým predpokladom aj pre zdravšiu výživu človeka (Haščík a kol., 2006)

Cieľom práce bolo hodnotenie kvality fyzikálno-chemických a zmyslových znakov vybraného mäsového výrobku (hydínové párky).

Materiál a metodika

Hodnotenie vybraného mäsového výrobku (hydínové párky) sme uskutočnili na počte 24 vzoriek z každého vybraného podniku (počet 5) mesta Bratislava. Senzorické ukazovatele (povrchový vzhľad, konzistencia, vzhľad v nákreji a vypracovanie, vôňa a chuť) sme hodnotili 5-bodovým systémom podľa prof. Tilgnera, kde 5 bodov je najvyšší možný ukazovateľ kvality a 1 bod je nevyhovujúci ukazovateľ kvality. Senzorické hodnotenie bolo vyhodnotené 5-člennou komisiou. Súčasne bola vykonaná na mäsovom výrobku chemická analýza, kde sme sledovali obsah vody, tuku, NaCl a sušiny. Obsah vody sme stanovili rýchlou informačnou metódou t.j. sušením bez piesku pri teplote 170 °C, obsah tuku butyrometrickou metódou a obsah NaCl sa stanovil podľa metódy stanovenia chloridov. Sušina bola získaná výpočtom. Získané výsledky sme spracovali pomocou programu Statgraphics a porovnávali k príslušnej štátnej norme STN 57 7125 pre daný druh mäsového výrobku.

Výsledky a diskusia

V práci sme sledovali hydínové párky patriace podľa Potravinárskeho kódexu Slovenskej republiky do skupiny mäkkých mäsových výrobkov tretej podskupiny. Senzorické hodnotenie kvality bratislavských párek z rôznych distribučných predajní je znázornené v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Senzorické hodnotenie hydínových párek

Ukazovateľ	n	Podnik 1	Podnik 2	Podnik 3	Podnik 4	Podnik 5
Počet bodov						
Povrchový vzhľad	24	2,5	5,0	3,0	3,0	3,5
Vzhľad na reze	24	4,0	5,0	5,0	2,0	3,5
Konzistencia	24	3,5	4,5	4,0	3,0	3,0
Vôňa	24	4,0	4,5	5,0	3,5	3,0
Chuť	24	2,5	3,5	4,5	2,5	3,0
Spolu bodové hodnotenie		16,5	22,5	21,5	14,0	16,0

Povrchový vzhľad hydínových párkov bol hodnotený od 2,5 bodu (podnik 1), čo znamená, že vo výrobku boli výraznejšie senzorické chyby predovšetkým vo farbe výrobku a povrch nebol vždy suchý ako je to s doporučeniami normy STN 57 7125 pre hydínové párky. Ostatné podniky dosahovali úroveň v tomto ukazovateli 3,0 bodu a viac, čo znamená, že výrobky v priemere zodpovedali u podnikov 2 až 5 norme.

Vzhľad na reze dosiahol najnižšie hodnotenie v podniku č. 4 (2,0 bodu), čo znamená, že v tomto výrobku nebol vzhľad na reze mäsovoružovej farby, mal väčšiu pôrovitosť, t.j. väčší podiel drobných dutiniek v kolagéne a výrobok bol hrubšie vypracovaný. U ostatných podnikoch tento znak dosiahol požadovanú kvalitu a pohyboval sa na úrovni 3,5 až 5,0 bodu.

Konzistencia hydínových párkov u všetkých 5 podnikoch dosahovala dobrú až veľmi dobrú kvalitu, čo zodpovedalo aj bodovému ohodnoteniu a to od 3,0 bodu (podnik 4, 5) až po 4,5 bodu (podnik 2), čo je v súlade s výsledkami Haščíka a kol. (2006), ktorí u bratislavských párkov zistili podobné tendencie a priemerné bodové ohodnotenie u tohto ukazovateľa zaznamenali až na úrovni 4,25 bodu.

Vôňa ako jeden z dôležitých senzorických vlastností pre samotného konzumenta bola hodnotená 3,0 bodmi (podnik 5) až 5,0 bodmi (podnik 3), kde môžeme skonštatovať, že zníženie bodového ohodnotenia bolo v dôsledku nevýraznosti vône, predovšetkým z pohľadu slabšieho zaúdenia, ale aj opačne, t.j. prenikavej vône z pohľadu možného vyššieho obsahu korenín. Bodové zníženie vône u bratislavských párkov zistili z pohľadu vyššieho zastúpeniam korenín aj Haščík a kol. (2006).

Chuť hydínových párkov bola hodnotená senzorickou komisiou najprísnejšie a zo všetkých senzorických vlastností dosiahla najnižšiu úroveň podobne ako aj vo výsledkoch Haščíka a kol. (2006), nakoľko až 2 podniky (podnik 1, 4) dosiahli hodnotu len 2,5 bodu v tomto ukazovateli, čo znamená, že výrobok sa prevažne javil buď ako nadmerne slaný, resp. prekorený a len hodnoty nad 3,5 bodu v sledovaných podnikoch 2 a 3 považujeme za vyhovujúce a primerané.

Ovplyvnenie jednotlivých senzorických vlastností mohlo byť tak na základe nedodržania dávkovania a podielu jednotlivých surovín a doplnkových látok pri vlastnej výrobe výrobku, čo v konečnom dôsledku môže výrazne narušiť konečnú kvalitu výrobku a týmto spôsobom sa zvyšuje riziko klamlivej reklamy pre spotrebiteľa.

Priemerný obsah jednotlivých sledovaných zložiek z chemického hľadiska u hydínových párkov je zobrazený v tabuľke 2.

Tabuľka 2 Chemické zloženie hydínových párkov (%)

Ukazovateľ	Norma STN	n	Podnik 1	Podnik 2	Podnik 3	Podnik 4	Podnik 5
			Obsah v %				
Sušina	min. 38	24	35,2	37,5	34	38,9	36,9
Voda	max. 62	24	64,8	62,5	66	61,1	63
Tuk	max. 33	24	26-26,3	23,5-23,0	30,0-30,3	22,0-22,5	16,0-16,5
NaCl	2,3±0,6	24	4,4	5,1	4,2	3,8	4,0

Na základe chemického zloženia hydínových párkov môžeme skonštatovať, že obsah vody ako jeden z deklarovaných ukazovateľov vyplývajúci z normy sa pohyboval nad 62 % okrem podniku č. 3, čo v konečnom dôsledku znamená, že podniky č. 1, 2, 3 a 5 nevyhovovali v tomto ukazovateli. Naše výsledky v tomto ukazovateli sú v zhode s výsledkami Haščíka a kol. (2006), ktorí podobne u viacerých vzoriek, ale u bratislavských párkov zaznamenali vyšší obsah vody ako povoľuje norma STN pre tento druh výrobku a opačnú tendenciu zaznamenala Vyletelová (2000), ktorá zistila priemerný obsah vody na úrovni 59,59 %.

Tuk ako zložka, ktorá úzko ovplyvňuje aj chuť, resp. vôňu vyrábaného mäsového výrobku a jeho maximálna hranica je podľa normy 33 % sa pohyboval len na veľmi nízkej

úrovni, kde sa dosiahli hodnoty aj 2 krát nižšie ako napríklad v podniku č. 5 (16,0-16,5 %) a ostatné podniky dosahovali taktiež jeho nízke zastúpenie. Jedinou výnimkou bol podnik č. 3, kde sme zistili obsah tuku na úrovni 30,0 – 30,3 %, čo v konečnom dôsledku znamená, že uvedené hydínové párky obsahovali aj dostatočný podiel mäsovej zložky a neboli nahradzované vo väčšej miere alternatívnymi zložkami prevažne rastlinného pôvodu. V našom prípade sa nepotvrdil trend a názor Steinhausera et al. (1995), ktorí konštatujú, že medzi tukom a vodou je nepriama závislosť, keď pri zvýšení obsahu tuku vo výrobku klesá obsah vody a naopak

Soľ ako dôležitá zložka mäsových výrobkov sa pohybovala často vo všetkých podnikoch na vysokej úrovni a presahovala požiadavky normy. Dosiahnuté hodnoty obsahu NaCl 3,8 % (podnik 4) až 5,1 % (podnik 2) sú vysoké a nevyhovujúce a pravdepodobne výrobcom išlo o zachovanie trvanlivosti výrobku aj na úkor jeho kvality, čo pre konzumenta nie je vhodné zistenie, nakoľko vysoký obsah soli vo výrobku môže ovplyvňovať tak jeho sensorickú kvalitu, ale v konečnom dôsledku pri zvýšenom príjme solí môže dochádzať aj k závažným ochoreniam. Pri porovnaní obsahu NaCl v hydínových párkoch nášho experimentu sme dosiahli jednoznačne vysoké, nadlimitné hodnoty v porovnaní so zisteniami Haščíka akol. (2006), resp. Vyleteľovej (2000), ktorých úroveň obsahu NaCl v bratislavských párkoch bola na požadovanej úrovni a to 2,09 až 2,14 %.

Záver

Z hľadiska dosiahnutých výsledkov kontroly kvality bratislavských párkov z rôznych distribučných predajní mesta Bratislava môžeme konštatovať, že vzorky nevyhovujú z hľadiska obsahu vody. Zvýšeným podielom vody vo výrobku je predovšetkým ukrátený kupujúci (konzument), ktorý prakticky zaplatí za tovar s nižšou energetickou a výživnou hodnotou ako deklaruje samotný výrobca.

Z pohľadu zloženia a zlepšenia sensorických ako aj chemických ukazovateľov odporúčame vyberať pre tvorbu diela suroviny s cieľom dosiahnuť obsah vody maximálne 62 %, s optimálnym obsahom tuku 20-25 % a primeraným obsahom soli do 2,1 %. Rešpektovanie týchto požiadaviek zabezpečí tak pre výrobcu samozrejmu kvalitu jeho výrobku so zachovaním dobrého mena značky výrobku a zabezpečí taktiež vyváženejšie sensorické vlastnosti mäsového výrobku pre samotného konzumenta.

Literatúra

1. FRANKLOVÁ, T. 1993. Súčasná kvalita mäsových výrobkov. In. Potraviny – súčasné problémy kvality, roč. 5, 1993, č. 3, s. 23-27.
2. DRDÁK, M. – STUDNICKÝ, J. – MÓROVÁ, E. 1996. Základy potravinárskych technológií. In: Praha, Malé centrum, 1996, s. 512, ISBN 80-967064-1-1.
3. HAŠČÍK, P. – ČUBOŇ, J. – KAČÁNIOVÁ, M. 2006. Hodnotenie kvality párkov. In: Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie: Bezpečnosť a kvalita potravín, Nitra, SPU, 2006, s. 204-207., ISBN 80-8069-681-0
4. HUDEC, I. – STANKOVSKÝ, I. – SMIRNOV, V. 1971. Hygiena a výživná hodnota potravín živočíšneho pôvodu. In: 2. vydanie, Príroda, Bratislava, 1971, s. 68.
5. PIPEK, P. 1995. Extrakty koření a jakost masných výrobků. In: Maso, roč. 10, 1999, č. 5, s. 43-44.
6. PIPEK, P. 1995. Technologie masa I. In: Praha, b.v., 1995, s. 334, ISBN 80-7080.
7. PIPEK, P. 2000. Kvalitní hovězí maso z technologického a spotřebitelského hlediska. In: maso, 2000, roč. 11, č. 3, s. 18-22.
8. STEINHAUSER, L. 1995. Hygiena a technologie masa. In: Brno, Vydavatelství potravinářské literatury LAST, 1995, s. 664, ISBN 80-900260-4-4.
9. VYLETELOVÁ, A. 2000. Porovnanie kvality mäsových výrobkov od vybraného výrobcu v dvoch rozdielnych predajniach. In: Diplomová práca, Nitra, SPU, s. 55.

CHEMICKÉ ZLOŽENIE MÄSA NUTRIE RIEČNEJ (MYOCASTOR COYPUS) Z FARMOVÉHO CHOVU

CHEMICAL COMPOSITION OF MYOCASTOR COYPUS MEAT FROM FARM BREEDING

Haščík, P., Bobko, M., Hanusová, J., Kačániová, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstrakt

In this study we were evaluated chemical composition of coypus meat from farm breeding. Of the base results we were detected indifferent content of proteins in the standard 21.08 g and content of fats 4.81 g in 100 g meat. Consequential value of energy from 100 g meat coypus were in the indifferent 534.33 kJ. From the view of the nutritional value of the coypus meat we were evaluated, that this meat were highly quality and dietetic, where content of fat don't were of limit 10 %. From the utilization we can use this meat in the consummation or supplement to meat product production without raising risk of creation cardiovascular disease and next disease, which are raising content of fat in the human foods.

Key words: coypus, male, meat chemical composition,, proteins, fat, content of energy

Úvod

Mäso zvierat v širšom zmysle slova je všetko, čo sa z tela zvierat'a dá použiť pre výživu ľudí, alebo čo slúži pre výrobu potravín. V užšom zmysle slova rozumieme pod mäsom len kostrové priečne pruhované svalstvo zdravých zvierat, ktoré sú zabíjané odborným spôsobom. Už z tejto charakteristiky vyplýva, že rôzne časti jatočného tela zvierat ako aj jednotlivé orgány môžu mať rôznu výživnú a biologickú hodnotu, ako aj rôzne chuťové a senzorické vlastnosti, pričom základnou príčinou týchto rozdielov je rôzne zastúpenie bielkovín, tukov, sacharidov, minerálnych látok, vitamínov a vody pri jednotlivých druhoch zvierat, respektíve jednotlivých častiach ich jatočného tela (Čuboň a kol., 2006).

Vlastnú nutričnú hodnotu mäsa posudzujeme podľa obsahu a zloženia bielkovín, tuku, sacharidov, minerálnych látok a vitamínov, pričom významnú úlohu pri vlastnej kvalite mäsa zohráva predovšetkým obsah bielkovín a tuku (Straková et al., 2002).

Obraz o nutričnej hodnote mäsa z domácich ako aj voľne žijúcich zvierat nám dokumentujú vo svojich prácach Mojto a Palanská (1997), Mojto a Zaujec (2001), Haščík et al. (2004, 2005, 2006) a iní.

O chemickom zložení a výživnej hodnote mäsa nutrií nie je veľa informácií, nakoľko mäso nutrií do verejného stravovania človeka nepreniklo v potrebnej miere.

Mäso nutrií (bez kostí, vnútorného tuku a vnútornosti) obsahuje 67 – 70 % vody, 20 – 21 % bielkovín, 4 – 10 % tuku a 1,0 % minerálnych látok. Energetická hodnota nutrií je 672 – 882 kJ (160 – 210 kcal) v 100 g mäsa (Mertin et al., 2000).

Uvedenej problematike sa v našich podmienkach venovali aj Barta a Palanská (1983), resp. Palanská et al. (1985), ktorí zaznamenali u nutrií podľa pohlavia vo veku 8 mesiacov nasledovné chemické zloženie mäsa nutrié riečnej (tabuľka 1).

Tabuľka 1 Chemické zloženie mäsa nutrií (Palanská, Barta a Paleník, 1985)

Ukazovateľ	Samce vo veku 8 mesiacov	Samice vo veku 8 mesiacov
Celková voda (%)	73,84	72,53
Sušina (%)	26,16	27,47
Celkové bielkoviny (%)	22,56	22,85
Celkový tuk (%)	2,40	3,52
Celkový popol (%)	0,98	0,97
Energetická hodnota (kJ/100g)	520,00	568,36

Uvedení autori na základe dosiahnutých výsledkov skonštatovali, že svalstvo nutrií riečnej so zisteným obsahom celkovej vody, bielkovín, tukov a popola je blízke svalstvu hydiny, králikov a mladého hovädzieho dobytku. Podobne zistenia sa dosiahli aj v obsahu hydroxyprolínu a z neho vyplývajúcich väzivových bielkovín.

Súčasne Palanská et al. (1985) konštatujú, že svalstvo nutrií je jemno vláknité s dobrou údržnosťou vody, nízkym obsahom tuku a väzivových bielkovín a možno ho pokladať za zdroj biologicky vysokohodnotných bielkovín, vhodných pre ich využitie v racionálnej ľudskej výžive.

Cieľom našej práce bolo vyhodnotiť chemické zloženie mäsa nutrií riečnej (myocastor coypus) a zároveň zvýrazniť jej dosahovanú nutričnú hodnotu

Materiál a metódy

V preverovanom experimente sme použili ako materiál nutrií riečnu (myocastor coypus) samčieho pohlavia v počte 20 ks. Jedince pochádzali z farmového chovu Skačany, pričom vek samcov bol 10 mesiacov. Zvieratá boli usmrtené a zabíjané povoleným spôsobom na farme Skačany a v chladiacich boxoch transportované na Katedru hydínarstva a malých hospodárskych zvierat SPU Nitra, kde sme jatočné telá nutrií podrobili dokonalej jatočnej rozrábke. Pre chemické zloženie svaloviny (základný rozbor) sa odobrli vzorky svaloviny od každého kusa zvieratá z vybraných častí jatočného tela a to z lopatky, chrbta, rebier a stehna ako najcennejších častí jatočného tela nutrií.

Chemické zloženie svaloviny bolo spracované pomocou prístroja INFRATEC 1265 (NSR), kde sme vyhodnocovali obsah sušiny, obsah celkovej vody, obsah bielkovín a obsah tukov v $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Energetickú hodnotu v $\text{kJ} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ sme získali výpočtom pomocou prepočítacích koeficientov z obsahu analyzovaných bielkovín a tuku.

Zo získaných údajov sme pomocou štatistického programu SAS vypočítali základné variačno-štatistické hodnoty (aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, minimum, maximum, variačný koeficient).

Pokus bol riešený v rámci projektu **VEGA 1/2413/05**.

Výsledky a diskusia

Variabilita hodnôt nutričného zloženia mäsa je aj v rámci druhu zvierat veľká, pričom na jeho zloženie vplýva celý rad intravitálnych ako aj extravitálnych činiteľov. Aj keď mäso nutrií nie je každodenným druhom mäsa podávaného pre človeka v potravinovom reťazci, snahou nášho experimentu bolo preveriť jeho chemické zloženie, ktoré by dalo človeku obraz o jeho

dosahovanej nutričnej hodnote a tým možného zaradenia do jedálneho lístka, resp. ao doplnku na výrobu rôznych druhov mäsových výrobkov.

Údaje o základnom chemickom zložení a nutričnej hodnote mäsa nutrie riečnej z farmového chovu nášho experimentu sú uvedené v tabuľke 2 .

Tabuľka 2 Základné chemické zloženie svaloviny nutrie riečnej (g.100 g⁻¹)

Ukazovateľ	n	\bar{x}	s_x	min.	max.	v %
Sušina (g.100 g ⁻¹)	20	26,03	0,89	24,90	28,70	3,31
Celková voda (g.100 g ⁻¹)	20	73,07	0,89	71,30	75,10	1,22
Bielkoviny (g.100 g ⁻¹)	20	21,08	0,59	20,00	22,00	2,79
Tuk (g.100 g ⁻¹)	20	4,81	1,27	2,50	6,90	26,46
Energetická hodnota (kJ.100 g ⁻¹)	20	534,33	40,55	454,74	534,33	7,59

x - priemerná hodnota, *s_x* - smerodajná odchýlka, min. - minimálna hodnota, max. - maximálna hodnota, v - variačný koeficient [%]

Na základe dosiahnutých hodnôt nášho experimentu môžeme konštatovať, že v svalovine samcov nutrie riečnej z farmy Skačany sa dosiahol podiel sušiny 26,93 g.100 g⁻¹, čo je porovnateľná hodnota s výsledkami Bartu a Palanskej (1983), resp. Palanskej et al. (1985), ktorí zistili obsah sušiny u nutrií na úrovni 26,16 resp. 27,47 g. 100 g⁻¹. Dosiahnuté výsledky obsahu sušiny sú mierne nižšie ako uvádza Mertin a kol. (2005), ktorí deklarujú u obsah sušiny v mäse nutrií na úrovni 26,16 g.100 g⁻¹.

S množstvom sušiny v mäse zvierat'a úzko súvisí aj obsah bielkovín, resp. tuku. Obsah bielkovín u samcov nutrie riečnej z farmového chovu sa pohyboval od 20,0 po 22,00 g.100 g⁻¹ (priemer 21,08 g.100 g⁻¹), čo je v súlade so zisteniami Mertina a kol. (2005) ako aj Palanskej et al. (1985) a iných. Z hľadiska obsahu bielkovín a porovnaním napríklad s mäsom bojlerových kurčiat má mäso nutrií nižší obsah bielkovín v porovnaní s prsnou svalovinou, ale jednoznačne vyšší v porovnaní so stehennou svalovinou kurčiat

Dôležitým ukazovateľom pre konzumenta, okrem obsahu bielkovín je aj obsah tuku, ktorý je dôležitý tak z hľadiska kulinárskych vlastností mäsa ale aj zo zdravotnej stránky. Dosiahnuté hodnoty obsahu tuku 2,50 až 6,90 g. 100 g⁻¹ (priemer 4,81 g.100 g⁻¹) u samcov nutrie riečnej z farmového chovu sú vyššie ako zistili Palanská et al. (1985), ale nižšie ako zistili Mertin et al. (2000). Dôležitým zistením nášho experimentu je aj tá skutočnosť, že mäso nutrií neobsahuje viac tuku ako 10 % a preto ho možno považovať za mäso dietetické a v porovnaní s mäsom brojleorvých kurčiat obsahuje viac tuku ako prsná svalovina, ale menšie ako stehenná svalovina kurčiar konzumovaná s kožou (Haščík et al., 2005, 2006).

Vlastnou konzumáciou tohto netradičného druhu mäsa sa teda nebude zvyšovať doporučená denná tukov a tým aj cholesterolu, čo v konečnom dôsledku potvrdzuje skutočnosť možného zníženého výskytu kardiovaskulárnych chorôb, hypercholesterolemie ako aj iných chorôb spojených s nadlimitným príjmom tukov do organizmu človeka (Chizolini et al., 1999).

Energetická hodnota mäsa zvierat'a závisí predovšetkým od obsahu tuku a bielkovín, ktorá u mäsa nutrií z farmového chovu Skačany dosiahla úroveň v priemere 534,33 kJ .100 g⁻¹. Dosiahnutá hodnota je porovnateľná s výsledkami Palanskej et al. (1985), ale nižšia ako

deklarujú vo svojich výsledkoch Mertin et al. (2000), ktorí zistili jej úroveň 672 až 882 kJ v 100 g mäsa.

Záver

V pokuse sme vyhodnotili a porovnávali základné chemické zloženie svaloviny u nutrie riečnej (*myocastor coypus*).

Na základe dosiahnutých výsledkov sme u nutrie riečnej zistili podiel sušiny (26,93 g.100 g⁻¹) a podiel celkovej vody (73,07 g.100 g⁻¹).

Vysoký obsah bielkovín v svalovine nutrie riečnej (21,08 g.100 g⁻¹) a nízky obsah tuku (4,81 g.100 g⁻¹) svedčí o možnosti využitia mäsa nutrie riečnej ako mäsa dietetického v kulinárskej oblasti a potravinovom reťazci človeka, ktoré zabezpečuje tak kvalitnú výživu ale aj zamedzuje zvýšený výskyt kardiovaskulárnych chorôb, hypercholesterolémie a iných ochorení, ktoré sú spojené prevažne s vyšším denným príjmom tukov.

Z celkového hľadiska svalovina nutrie riečnej môže byť vhodným doplnkom na spestrenie a obohatenie jedálneho lístka človeka, ale ich častá konzumácia by mohla viesť k nežiaducemu zvýšeniu príjmu tukov do jeho organizmu.

Literatúra

1. BARTA, M. – PALANSKÁO. 1983. Tkanivové zloženie tela, jatočná výťažnosť a nutričná hodnota mäsa nutrií. In: Výskumná správa VÚŽV Nitra, 1983, 34 s.
2. ČUBOŇ, J. – HAŠČÍK, P. – MICHALCOVÁ, A. 2006. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu. In: Nitra, SPU, 2006, 162 s., ISBN 80-8069-643-8.
3. HAŠČÍK, P. – ČUBOŇ, J. – VAGAČ, V. 2004. Hodnotenie senzorickej kvality hydínového mäsa vplyvom probiotického preparátu IMB 52. In: Maso, XV, Praha, 2004, č.1, s. 62-65.
4. HAŠČÍK, P. – ČUBOŇ, J. – HORNIÁKOVÁ, E. – KRIVÁNEK, L. – KULÍŠEK, V. 2005. Vzťah medzi aplikáciou probiotického preparátu a množstvom abdominálneho tuku u výkrmových kurčiat. In: Agriculture (Poľnohospodárstvo), 51, Nitra, 2005, č. 11, s. 574-579, ISSN 0551-3677.
5. HAŠČÍK, P. – WEIS, J., – ČUBOŇ, J. – KULÍŠEK, V. – MAKOVICKÝ, P. – KAČÁNIOVÁ, M. 2005. Vplyv probiotického preparátu v KKZ bojlerových kurčiat ROSS 308 na chemické zloženie mäsa. In: Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 8, Nitra, 2005, č. 1, s. 20-24, ISSN 1335-258X.
6. HAŠČÍK, P. – GAŠPARÍK, J. – VLADÁROVÁ, D. – KULÍŠEK, V. 2006. Nutričná kvalita m. pectoralis major lysky čiernej (*Fulica atra*). In: Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie „Bezpečnosť a kontrola potravín“, SPU Nitra, 2006, s. 328-332, ISBN 80-8069-682-9 (II.diel).
7. CHIZZOLINI, R. – ZANARDI, E. – DORIGONI, V. et al. 1999. Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. Trends in Food Science and technology, 10, 1999, no. 4-5, pp. 119 – 128.
8. MERTIN, D. – BAŇÁK, M. – HANUSOVÁ, E. – HANUSOVÁ, J. – KAPLAN, J. – MERTIN, D. – PARKÁNYI, V. – SUVEGOVÁ, K. 2005. Biologické aspekty chovu nutrie riečnej (*Myocastor coypus*). In: Nitra, VÚŽV, 2005, 210 s., ISBN 80-88872-47-2.
9. MOJTO, J. – PALANSKÁ, O. 1997. O nutričnej hodnote mäsa hospodárskych a divých zvierat. In: Výživa a zdravie, 42, 1997, č.1, s. 23-24.
10. MOJTO, J. – ZAUJEC, K. 2001. Aktuálne údaje o chemickom zložení a nutričnej hodnote mäsa hospodárskych a divých zvierat. In: Maso, 2001, č. 4, s. 39-41.

11. PALANSKÁ, O. – BARTA, M. – PÁLENÍK, Š.1985. Chemické zloženie a nutritívna hodnota kostrového svalstva nutrií. In: Poľnohospodárstvo, 1985, roč. 31, č. 2, s. 145 – 155.
12. STRAKOVÁ, E. – SUCHÝ, P. – PAŽOUT, V. 2002. Efekt výkrmu bojlerových kuřat do vyššieho veku a hmotnosti. In: Technologické systémy v chovu drúbeže (sbor. Z mezinár. Konf.), Brno, MZLU, 2002, s. 165-168, ISBN 80-7157-579-8.

Kontaktná adresa: Ing. Peter Haščík, PhD., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, FBP, SPU Nitra, tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. email: peter.hascik@uniag.sk

AKUMULÁCIA ŤAŽKÝCH KOVOV V REPKE OLEJKE V ZAŤAŽENEJ OBLASTI

THE ACCUMULATION OF HEAVY METAL IN RAPS IN LOADED TERRITORY

Hecl, J.

SCPV - oddelenie agroekológie Michalovce

Abstract

Results from monitoring of selected heavy metals and their was observed in environmentally loaded territory in rape in 2005. We can conclude on the basis of the gained results that with the exception of cadmium there was not determined the increased content of critical heavy metals. The content of cadmium was in the range 0,124-0,587 mg.kg⁻¹. There was not observed any linear statistical correlation between the content of heavy metals in the rape and in the soil. On account of its sensitivity to cadmium we recommend to utilize the rape for the production of biofuels on the basis of the methylester of plant oils in hazardous territories.

Úvod

Dôsledok industrializácie počas posledných storočí spôsobil celosvetový nárast koncentrácie ťažkých kovov tak v pôdach ako aj v rastlinách (Adriano, 2001).

Zo súčasného stupňa poznania kvalitatívnych a kvantitatívnych údajov o znečistení pôd Slovenska vyplýva, že najväčší potenciál transportu z pôdy do potravinového reťazca majú okrem dusičnanov ťažké kovy. V regióne Východoslovenskej nížiny (VSN) je toto znečistenie spojené hlavne so súčasnou a predchádzajúcou priemyselnou výrobou (Chemko a.s. Strážske, Elektrárne Vojany, Bukóza Vranov).

V tejto oblasti synergicky pôsobí široká paleta plyných, ale aj tuhých imisií. Hoci v posledných rokoch na Slovensku, čiže aj v tejto oblasti najmä obmedzením výroby nastalo zníženie produkcie exhalátov, nežiadúce následky na krajinu sa budú odstraňovať ešte veľmi dlho. Hoci vo väčšine prípadov sú zistené hodnoty obsahov ťažkých kovov v pôdach priemerné alebo nízke a koncentrácie v rastlinách väčšinou nie také vysoké pre vznik akútnej toxicity, ale za dlhšie časové obdobie môžu (pri zapojení do potravinového reťazca) spôsobiť chronické poškodenie zdravia obyvateľstva (Adriano, 2001).

Cieľom práce bolo sledovať obsah vybraných ťažkých kovov v pôde a semene repke ozimnej olejke.

Materiál a metóda

Kontaminácia semena repky olejky a pôdy na ktorej sa pestovala ťažkými kovmi sa sledovala v roku 2005 v rámci monitoringu na 13 lokalitách z okolia chemického závodu Chemko a.s. Strážske, (Zbudza, Staré, Krivošľany, Strážske 1, Strážske 2, Pusté Čemerné, Voľa, Naciná Ves, Vybuchanec, Lesné, Suché, Petrovce n/L a Michalovce).

Rastlinný materiál (semeno repky), bol odoberaný v čase technologickej zrelosti plodiny. Miesto odberu pôdných vzoriek bolo totožné s miestom odberu príslušného rastlinného materiálu. Pôdne vzorky sa odoberali pôdnym vzorkovačom z hĺbky 0,0 – 0,3 m. Ťažké kovy sa stanovili metódou atómovej absorpčnej spektrometrie po predchádzajúcej mineralizácii koncentrovanou kyselinou dusičnou pre rastlinný materiál a vo výluhu 2 M HNO₃ pre pôdny materiál. V rastlinnom a pôdnom materiáli sa stanovili nasledovné ťažké kovy: (Cd, Pb, Cr, Ni, Cu a Zn).

Získané výsledky pôdy sa hodnotili podľa „Rozhodnutia Ministerstva pôdohospodárstva SR o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde z januára 1994,“ pre výluh v 2 M HNO₃. Orientačne sa výsledky tiež zhodnotili podľa zákona o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy č.220/2004 Z.z. Namerané koncentrácie ťažkých kovov v repke sa posudzovali oproti „Potravínovému kodexu“ SR z júna 1996 (tabuľka 1). Výsledky sa matematicky spracovali a podrobili lineárnej korelačno-regresnej analýze.

Tabuľka1 Najvyššie prípustné množstvo rizikových prvkov pre repku olejku v [mg.kg⁻¹]

Olejniny	Cd	Cr	Ni	Pb	Cu	Zn
	0,5	0,5	2,0	1,0	25	80

Výsledky a diskusia

V predkladanej práci sa zameriavame na oblasť v okolí chemického kombinátu Chemko Strážske a.s. Dcérske spoločnosti skupiny Chemko, a.s. prevádzkujú v súčasnej dobe 25 evidovaných stacionárnych zdrojov znečisťovania ovzdušia. Stanovené minimálne a maximálne obsahy ťažkých kovov vo výluhu 2 M HNO₃ na lokalitách repky olejky v pôdach svedčia o dosť veľkom rozptyle (tabuľka 2). Pri Cd sa obsahy pohybovali od 0,099 mg.kg⁻¹ na lokalite Suché až po hodnotu 0,425 mg.kg⁻¹ na lokalite Strážske 1, pri obsahu Pb od 8,91 mg.kg⁻¹ na lokalite Staré po hodnotu 110,6 mg.kg⁻¹ na lokalite Petrovce n/Laborcom. Obsah Pb na tejto lokalite je výrazne vyšší ako referenčná hodnota A uvedená legislatívnym predpise SR z januára 1994, ktorá znamená, že pôda nie je kontaminovaná ak je stanovená hodnota pod túto hodnotu. Obsahy ostatných sledovaných kovov (Cr, Ni, Cu a Zn) neprekročili referenčnú hodnotu A z legislatívneho predpisu pre príslušný kov. Obsahy vo výluhu 2 M HNO₃, ktoré sú porovnateľné s referenčnou hodnotou A₁ z tohto predpisu boli prekročené v 10 prípadoch, a to pri Cd v 4 prípadoch (lokality: Zbudza, Strážske 1, Naciná Ves, Petrovce n/Laborcom), pri Pb v 1 prípade (lokality: Petrovce n/Laborcom), pri Ni v 1 prípade (lokality: Petrovce n/Laborcom), pri Cu v 1 prípade (lokality: Petrovce n/Laborcom) a pri Zn v 2 prípadoch (lokality: Vybuchanec a Petrovce n/Laborcom). Na lokalite Petrovce n/Laborcom sa prekročila referenčná hodnota A₁ okrem Cr vo všetkých ostatných sledovaných kovoch. Lokality sa nachádzajú v blízkosti rieky Laborec, ktorá svojimi naplaveninami mohla spôsobiť jej kontamináciu. Orientačným porovnaním kontaminácie sledovaných lokalít (druh pôdy: hlinitá až ílovito-hlinitá pôda) podľa zákona č. 220/2004 (kontaminácia sa určuje vo výluhu lúčavky kráľovskej) sa okrem obsahu olova na lokalite Petrovce n/Laborcom nezaznamenali obsahy, ktoré by prekročovali limitné hodnoty podľa tohto zákona.

Tabuľka 2 Minimálne, maximálne, priemerné obsahy a medián ťažkých kovov v pôdach vo výluhu 2 M HNO₃ na 13 vybraných lokalitách [mg.kg⁻¹]

parameter	Cd	Pb	Cr	Ni	Cu	Zn
min.	0,099	8,91	2,58	0,69	4,31	12,58
max.	0,425	110,60	8,16	18,24	24,26	60,17
priemer	0,234	19,611	5,276	5,938	9,420	27,795
medián	0,201	11,880	5,240	4,290	8,290	23,180

Medzi priemernou hodnotou jednotlivých ťažkých kovov na sledovaných lokalitách a ich mediánom nepozorujeme veľký rozdiel, okrem obsahu Pb. V tomto prípade tento rozdiel súvisí s kontamináciou vzorky pôdy z lokality Petrovce n/Laborcom.

Tabuľka 3 Minimálne, maximálne, priemerné obsahy a medián ťažkých kovov v repke olejke na 13 vybraných lokalitách [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]

parameter	Cd	Pb	Cr	Ni	Cu	Zn
min.	0,124	0,08	0,15	0,89	1,23	14,46
max.	0,587	0,75	1,11	5,02	7,02	46,23
priemer	0,337	0,467	0,623	2,992	3,420	30,381
medián	0,311	0,540	0,520	3,300	3,700	31,950

Obsah Cd v repke olejke na 3 lokalitách (Strážske 2, Voľa, Petrovce n/Laborcom) prekročil maximálne povolenú hodnotu $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Týmto stanovením sa potvrdili naše predchádzajúce zistenia, že repka olejka je citlivá na kadmium (Danielovič – Hecl, 2004). Pri obsahu Ni sme stanovili na 10 lokalitách vyšší obsah ako povoľuje norma SR z roku 1996, ale táto hodnota je problematicky hodnotiteľná, pretože norma neuvádza maximálne povolenú hodnotu pre daný prvok v príslušnej komodite a preto sa táto hodnotí ako ostatné požívatinu, čo podľa nášho názoru nevystihuje druhovú rozdielnosť príslušnej rastliny voči predmetnému kovu. Pri štatistickom hodnotení závislosti obsahu jednotlivých ťažkých kovov v repke olejke od obsahu týchto kovov v pôde vo výluhu 2 M HNO_3 (tabuľka 4) sa nezistili žiadne štatisticky preukazné závislosti.

Štyri závislosti medzi obsahom kadmia, olova, niklu a medi v pôde a jeho obsahom v repke ozimnej olejke, boli aj napriek vyšším hodnotám korelačných koeficientov (-0,33842, 0,349876, 0,362712 a 0,490477) štatisticky nevýznamné.

Tabuľka 4 Parametre štatistickej analýzy závislostí obsahu sledovaných ťažkých kovov v repke olejke od obsahu týchto látok v pôde

	Parameter	R Cd
PV Cd	r	-0,33842
	úmernosť	N
	hl. význam.	0,25805
	r-sq %	11,45
	št. preukaznosť	-
PV Pb	r	R Pb
	úmernosť	0,349876
	hl. význam.	P
	r-sq %	0,24124
	št. preukaznosť	12,24
		-
PV Cr	r	R Cr
	úmernosť	0,041363
	hl. význam.	P
	r-sq %	0,89327
	št. preukaznosť	0,17
		-
PV Ni	r	R Ni
	úmernosť	0,362712
	hl. význam.	P
	r-sq %	0,22321
	št. preukaznosť	13,16
		-
PV Cu	r	R Cu
	úmernosť	0,490477
	hl. význam.	P
	r-sq %	0,08881
	št. preukaznosť	24,06
		-
PV Zn	r	R Zn
	úmernosť	0,0868729
	hl. význam.	P
	r-sq %	0,7779
	št. preukaznosť	0,75
		-

R – repka olejka, PV – výluh v 2 M HNO_3

Záver

Problematika rizikových látok je v narušených lokalitách vysoko aktuálna. Okres Michalovce patrí v rámci Slovenskej republiky medzi okresy s najnižšou priemernou dĺžkou života. Z uvedených dôvodov je preto ich sledovanie v centre pozornosti vedeckovýskumnej základne mnohých inštitúcií.

Na základe výsledkov môžeme sformulovať nasledujúce závery:

Obsah Cd v repke olejke na 3 lokalitách (Strážske 2, Voľa, Petrovce n/Laborcom) prekročil maximálne povolenú hodnotu $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Pri štatistickom hodnotení závislosti obsahu jednotlivých ťažkých kovov v repke olejke od celkového obsahu kovov v pôde vo výluhu v 2 M HNO_3 sa nezistili žiadne štatisticky preukazné korelácie.

Z dôvodu citlivosti repky olejky na kadmium odporúčame v rizikových oblastiach jej využitie na výrobu biopalív na báze metylesteru rastlinných olejov.

Literatúra

1. ADRIANO D.C. 2001. Trace elements in the terrestrial environment. Spinger, New York, 2001, 114p.
2. ANONYM. 1994. Rozhodnutie Ministerstva pôdohospodárstva SR o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde a o určení organizácii oprávnených zisťovať skutočné hodnoty týchto látok (číslo 531/1994-540)
3. ANONYM. 1996. Rozhodnutie Ministerstva pôdohospodárstva SR – Potravinový kodex Slovenskej republiky (číslo 981/1996-100)
4. ANONYM. 2004. Zákon o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy č. 220/2004 Z.z.
5. DANIELOVIČ, I. - HECL, J. 2004. Správa za účelovú činnosť za rok 2004, OVÚA Michalovce, 2004, 49s.

RNDr. Ján Hecl, PhD., Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu – oddelenie agroekológie, Špitálska 1273, 071 01 Michalovce, hecl@minet.sk

DISTRIBÚCIA ZINKU U RÓMSKYCH DETÍ

ZINC DISTRIBUTION IN ROMANY CHILDREN

Hijová, E., Petrášová, D., Chmelárová, A., Žofčáková, M.*

Ústav experimentálnej medicíny LF UPJŠ a *II.Klinika detí a dorastu LFUPJŠ a DFN, Košice

Abstract

Zinc as an essential trace element have multiple biological functions and is integral component of antioxidant enzymes that protect organism against free radical damage. In selected group of 47 Romany children (25 boys and 22 girls) aged from 2 month to 6 years hospitalized in IIInd Dept. of Pediatrics, Adolescent Medicine Faculty of Medicine P.J.Safarik University and Children Faculty Hospital in Košice we examined the serum concentration of zinc (Zn) and alpha-2-macroglobulin (α_2M), enzymatic activity of Cu/Zn superoxiddismutase (Cu/Zn SOD) and their relationship. The mean concentration of zinc was $11.78 \pm 3.54 \mu\text{mol/L}$. The zinc deficiency, it means the serum concentration of zinc lower than $9 \mu\text{mol/L}$ had 23.4% children and zinc concentration more than $16 \mu\text{mol/L}$ had 12.8% children. Significant correlation ($r=0.326; p<0.05$) was between Zn and α_2M only in the physiological range of zinc. The activity of SOD was increased with mean concentration of zinc and α_2M . Results of our study showed on decreased saturation of organism with Zn in Romany children caused by insufficient exogenous intake of zinc or as a secondary consequence of respiratory system infection. Zinc supplementation may be an effective public health intervention means to improve the zinc status of the population.

Úvod

Zinok (Zn) je nepostrádateľným prvkom vo výžive ľudí a zvierat so širokým spektrom biologických účinkov. Zinok má katalytickú, štruktúrnu a regulačnú úlohu vo viac ako 400 zinok obsahujúcich metaloenzýmoch, ktoré sú prítomné v biologických systémoch, rovnako tak transkripčných faktoroch s motívom tzv.zinkových prstov (zing fingers) a antioxidantnú funkciu, kde prostredníctvom Cu/Zn superoxiddismutázy (Cu/Zn SOD) chráni bunky pred poškodením voľnými radikálmi. Zinok v metaloenzýmoch tvorí tzv. nemeňteľný pool, ktorý nie je závislý na prívode zinku v diéte na rozdiel od tzv. meniteľného poolu, ktorý je závislý na prívode zinku diétou a je tvorený 5-10% obsahu zinku v organizme. Celkové množstvo zinku v tele dospelého jedinca je 2-3g. Odporúčané dávky Zn sú pre dojčatá 5 mg/deň, detí 10 mg/deň, dorast, dospelých a tehotné ženy 15 mg/deň a pre dojčiacie matky 16-19 mg/deň. Väčšina tkanív obsahuje približne 20-200 $\mu\text{gZn/g}$ tkaniva. Biologický polčas Zn v organizme sa odhaduje na 160-500 dni. Väčšinu z denného príjmu zinku organizmus neutilizuje, takže u mnohých je obsah Zn v organizme prinajmenšom na hranici nedostatčnosti. Približne 90% z celkového množstva Zn v organizme je uložené v kostrovom svalstve a kostiach. Viac ako 95% z celkového množstva Zn je naviazané na proteíny buniek a bunkových membrán. Väčšia časť zinku (75-88%) v krvi je v červených krvinkách. V krvnej plazme (0,1% Zn), 18% Zn je naviazané na alfa-2-makroglobulín, 80% na albumín a 2% na proteíny ako sú transferín a ceruloplazmín.

Cieľom tejto práce bolo zistiť vzájomnú súvislosť medzi koncentráciou zinku a alfa-2-makroglobulínu (α_2M) v krvnom sére a aktivitou Cu/Zn SOD.

Materiál a metódy

V sledovanom náhodne selektovanom súbore 47 rómskych detí (25 chlapcov a 22 dievčat) vo veku od 2 mesiacov do 6 rokov hospitalizovaných na II. Klinike detí a dorastu LF UPJŠ a DFN v Košiciach s diagnózami postihnutia dýchacieho aparátu sme stanovili koncentráciu Zn v krvnom sére komerčným setom fy AMP Diagnostics (Rakúsko) a koncentráciu α_2M setom fy Sevapharma (ČR). Aktivitu Cu/Zn SOD v červených krvinkách sme stanovili spektrofotometrickou metódou meracou súpravou RANSOD (Randox Laboratories, Veľká Británia), (Tab.1).

Tab.1. Charakteristika súboru

Parameter	X \pm SD	min – max
vek (roky)	1,50 \pm 1,21	0,2 - 6
váha (kg)	8,35 \pm 3,60	3,67 - 25
výška (cm)	73,08 \pm 11,99	50 - 99
BMI (kg/m ²)	15,04 \pm 2,48	11,05 - 25,5
α_2M (g/L)	3,17 \pm 1,36	1,2 - 6,0
SOD (U/gHb)	1257,15 \pm 256,81	585 - 2000
Zn ($\mu\text{mol/L}$)	11,78 \pm 3,54	6,0 - 24,0

Výsledky:

Priemerná koncentrácia Zn bola 11,78 \pm 3,54 $\mu\text{mol/L}$, z toho 23,4% detí malo hodnotu Zn nižšiu ako 9 $\mu\text{mol/L}$ a 12,8% hodnotu vyššiu ako 16 $\mu\text{mol/L}$, pričom za fyziologické pásmo hodnôt Zn sme považovali interval 9-16 $\mu\text{mol/L}$. Fyziologické hodnoty Zn malo 30 detí (63,8%), (Tab. 2). Zinok štatisticky významne koreloval s α_2M ($r=0,326$; $p<0,05$). Pri hodnotách Zn mimo pásma fyziologických hodnôt sme štatisticky významnú koreláciu s α_2M nenašli. U detí mladších ako 1 rok ($n=29$) bola priemerná koncentrácia Zn 11,90 \pm 3,84 $\mu\text{mol/L}$ a α_2M 3,43 \pm 1,34 g/L bez ich vzájomnej korelácie. Deti staršie ako 1 rok mali priemernú koncentráciu Zn 11,60 \pm 3,10 $\mu\text{mol/L}$ a α_2M 2,75 \pm 1,33 g/L, pričom $r=0,57$; $p<0,01$ (Tab.3.). Zinok nekoreloval s SOD v žiadnej sledovanej skupine detí. Aktivita SOD sa zvyšovala s priemernou koncentráciou Zn, ale aj α_2M .

Tab. 2. Zmeny parametrov v závislosti od koncentrácie zinku

Parameter	Zn <9,00 $\mu\text{mol/L}$	Zn 9,1-16,0 $\mu\text{mol/L}$	Zn >16,1 $\mu\text{mol/L}$
n=47	n=11 /23,4%	n=30 /63,8%	n=6 /12,8%
vek (roky)	1,66 \pm 1,13	1,51 \pm 1,30	1,15 \pm 0,9
váha (kg)	8,44 \pm 2,80	8,59 \pm 3,94	7,01 \pm 3,30
výška (cm)	75,63 \pm 12,68	73,23 \pm 11,65	67,66 \pm 12,83
BMI (kg/m ²)	14,49 \pm 2,53	15,35 \pm 2,45	14,50 \pm 2,71
α_2M (g/L)	2,83 \pm 1,40	3,12 \pm 1,30	4,05 \pm 1,47
SOD (U/gHb)	1307,4 \pm 301,17	1222,0 \pm 218,94	1349,17 \pm 360,06
Zn ($\mu\text{mol/L}$)	7,57 \pm 1,06	12,19 \pm 2,04	17,48 \pm 3,19

Tab.3. Zmeny parametrov v závislosti od veku

Parameter	vek < 1 rok	vek > 1,1 roka
n=47	n=29	n=18
vek (roky)	0,76 ± 0,28	2,68 ± 1,19
váha (kg)	6,64 ± 2,08	11,12 ± 3,85
výška (cm)	66,48 ± 9,52	83,72 ± 6,78
BMI (kg/m ²)	14,70 ± 1,88	15,59 ± 3,21
α ₂ M (g/L)	3,43 ± 1,34	2,75 ± 1,33
SOD (U/gHb)	1248,5 ± 252,83	1270,6 ± 269,70
Zn (μmol/L)	11,90 ± 3,84	11,60 ± 3,10

Diskusia

Homeostáza zinku je v ľudskom organizme udržiavaná gastrointestinálnym systémom, prevažne tenkým črevom, pečeňou a pankreasom a to absorpciou exogénneho zinku a gastrointestinálnou sekréciou a exkréciou endogenného zinku. Zinok je absorbovaný v distálnej časti duodéna a v proximálnom jejune paracelulárne (jednoduchou difúziou) alebo transcelulárne cez bunkové membrány enterocytov pomocou divalentného kationového transportéra DCT-1 (divalent cation transporter). V enterocytoch môže slúžiť ako lokálny nutričný faktor alebo je ďalším membránovým proteínovým prenášačom (označovaným ako ZnT-1, zinc transporter), transportovaný do pečene a ostatných tkanív. Môže sa tu krátkodobo kumulovať alebo sa priamo zapojí do regulácie niektorých bunkových procesov. Zinok, ktorý už splnil v organizme svoju úlohu, je transportovaný späť do tráviaceho alebo urogenitálneho systému a odtiaľ sa dostáva von z tela stolicou (70-80%) alebo močom. Konečné rozhodnutie o tom, či sa zinok bude zabudovávať do špecifických komplexov, či voľne asociovať, podlieha zrejme interným regulačným mechanizmom a do dnešného dňa nie je o týchto mechanizmoch nič bližšie známe.

Výskyt Zn v potravinárskych komoditách: mäso, vnútornosti, hydina, ryby, strukoviny, syr, karfiol, celozrnné výrobky, kvasnice, kakao a iné.

Príznaky nedostatku:

- porucha adaptácie na šero
- narušené hojenie kožných defektov
- strata vlasov
- depresia
- hyperaktivita
- zvýšený výskyt degeneratívnych ochorení
- chronická únava
- znížená reprodukčná schopnosť
- strata chuti do jedla
- poruchy rastu a vývoja

Predávkovanie:

- hypokuprémia
- mikrocytóza
- neutropénia
- rôzne poruchy imunitnej odpovede
- pokles lipoproteínov vysokej denzity

Rizikové skupiny:

- zvýšená potreba (tehotenstvo, dojčenie)
- pooperačné obdobie
- vyšší vek (popri nedostatku vitamínu skupiny B najčastejšie)
- stres
- veľké športové výkony
- nízka úroveň pri veľkom množstve vápnika a fosfátu vo výžive

- lieky (napr. antacidá, antikoncepcia, glukokortikoidy, diuretiká)
- poruchy vstrebávania
- diabetes mellitus, ochorenia obličiek a pečene
- nedostatočné zásoby u detí a dospievajúcich

Výsledky našej štúdie poukázali na zníženú saturáciu organizmu zinkom u rómskych detí v dôsledku nedostatočného exogénneho príjmu Zn alebo ako sekundárny následok infekcie dýchacieho systému. Najvyššiu priemernú koncentráciu zinku $17,48 \pm 3,19 \mu\text{mol/L}$ mali deti mladšie s priemerným vekom 1,15 roka (od 0,3 mesiaca do 2,8 roka), pričom u týchto detí bola koncentrácia $\alpha_2\text{M}$ $4,05 \pm 1,47 \text{ g/L}$ (od 2,0 do 5,0). Zinok významne koreloval s $\alpha_2\text{M}$ len pri fyziologických hodnotách.

Literatúra je u autorky

MYKOTOXÍNY – ROZDELENIE, VÝSKYT, LEGISLATÍVA A DIAGNOSTIKA

MYCOTOXINS – CLASSIFICATION, OCCURENCE, LEGISLATION, AND METHODS OF DETECTION

Hreško, M.

Štátny veterinárny a potravinový ústav Dolný Kubín

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites of microscopic fungi. They are not necessary/essential for development of hyphoid micromycetes in comparism to aminoacids, fatty acids, nucleic acids and proteins. They belong to the most serious natural contaminants. They are highly dangerous chemical substances known for their toxic effects. Distribution of mycotoxins in sample is heterogenous so sampling is the most essential point in process of examination. Correct sampling as well as Maximal Residual Limits are defined in European legislation. Analysis of samples are done using of methods – ELISA and HPLC.

Kľúčové slová: mycotoxíny, legislatíva, ELISA, HPLC

Úvod

Mykotoxíny sú sekundárne metabolity vláknitých mikromycét, ktoré nemajú žiadnu úlohu týkajúcu sa normálneho metabolizmu rastúcej huby (Scudamore, 1994; Pitt,2000). Vzhľadom k tomu, že mykotoxíny patria k naturálnym toxínom, môže sa ich výskyt v potravinových surovinách meniť z roka na rok. Je známych viac ako 150 druhov plesní, ktoré môžu produkovať mykotoxíny. Spôsobujú intoxikáciu prostredníctvom potravín a krmív. Tvorba mykotoxínov je podmienená biologickými, fyzikálnymi a chemickými faktormi.

Tabuľka 1 Najznámejšie toxíny, ich producenti a ich výskyt (Malíř, Ostrý, 2003):

toxín	producent	výskyt
aflatoxín B, G	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	oriešky, arašidy, sušené ovocie, obilie, výrobky z obilia, koreniny
ochratoxín A	<i>Aspergillus ochraceu</i> rod <i>Penicillium</i>	obilie, výrobky z obilia, ryža, sušené ovocie, káva, víno, pivo, koreniny
fumonizíny	rod <i>Fusarium</i>	kukurica, krmivá a potraviny na báze kukurice
zearalenon	rod <i>Fusarium</i>	kukurica, obilie a výrobky z obilia, cereálie
T2 toxín, HT-2 toxín	rod <i>Fusarium</i>	obilie a výrobky z obilia
deoxynivalenol nivalenol	rod <i>Fusarium</i>	obilniny, kukurica, ryža
patulín	rod <i>Penicillium</i> rod <i>Aspergillus</i>	jablčné šťavy

FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE PRODUKCIU MYKOTOXÍNOV V POTRAVINÁCH

Pri pestovaní kultúrnych plodín vzniká rad zložitých vzťahov a interakcií medzi rastlinou, mikroskopickými hubami, hmyzom a spôsobom ošetrovania rastlín (ekologické poľnohospodárstvo, konvenčné poľnohospodárstvo- aplikácia pesticídov). Tieto interakcie potom ovplyvňujú produkciu a obsah mykotoxínov v potravinových surovinách (Malíř, Ostrý, 2003).

Faktory, ktoré ovplyvňujú rast toxinogénnych mikromycét a produkciu mykotoxínov na rastlinných substrátoch behom rastu (tzn. na poli), pred zberom, počas zberu, počas prepravy a pri uskladnení za priaznivých teplotných a vlhkosťných podmienok, už sú podrobne zmapované. K rastu toxinogénnych mikromycét môže dochádzať – na poli, i pri uskladnení.

Produkciu mykotoxínov možno zhrnúť do týchto pravidiel:

- určitý mykotoxín môže byť produkovaný zástupcami niekoľkých rodov toxinogénnych vláknitých mikromycét
- dva a viac mykotoxínov môžu byť produkované určitým druhom toxinogénnych vláknitých mikromycét
- záchyt toxinogénnych vláknitých mikromycét v potravinách ešte neznamená prítomnosť mykotoxínov
- nie všetky kmene potencionálne toxinogénnych vláknitých mikromycét su toxinogénne (Malíř, Ostrý; 2003).

Tvorba mykotoxínov je podmienená biologickými, fyzikálnymi a chemickými faktormi. Obsah mykotoxínov potom závisí na nasledujúcich faktoroch: vlhkosti, teplote, dĺžke skladovania, poškodenia obalu zrna, prítomnosti kyslíku, oxidu uhličitého, zloženia substrátu, mykologickému profilu toxinogénnych vláknitých mikromycét, sporulácii, mikrobiálnych interakcií a prítomnosti hmyzu.

ODBER VZORIEK NA VYŠETRENIE MYKOTOXÍNOV

Pre správnu a presnú analýzu mykotoxínov je dôležitý správny odber vzoriek, pretože samotné mykotoxíny sú rozložené veľmi nerovnomerne. Len správne odobratá vzorka je reprezentatívna vzhľadom k celkovej vzorkovanej dávke. Správny odber vzorky pre analýzu mykotoxínov upravuje európska legislatíva nasledovnými predpismi:

- **ochratoxín A v obilí a vo výrobkoch z obilia** - Smernica Komisie 2002/26/EC
- **rod Fusarium (deoxynivalenol, zearalenon, fumonizíny, T2, HT-2) v obilí a vo výrobkoch z obilia** – Smernica Komisie 2005/38/EC

NAJVYŠŠIE PRÍPUSTNÉ MNOŽSTVÁ

Najvyššie prípustné množstvá mykotoxínov ustanovuje Nariadenie Komisie č.466/2001/ES v znení neskorších predpisov:

- **aflatoxíny B, G** – Nariadenie Komisie č. 2174/2003/ES
- **ochratoxín A** - Nariadenie Komisie č. 123/2005/ES
- **deoxynivalenol** - Nariadenie Komisie č. 856/2005 – uplatňuje sa od 1. júla 2006 a neuplatňuje sa pre výrobky, ktoré boli uvedené na trh do 1. júla 2006.
- **zearalenon** - Nariadenie Komisie č. 856/2005 – uplatňuje sa od 1. júla 2006 a neuplatňuje sa pre výrobky, ktoré boli uvedené na trh do 1. júla 2006.
- **fumonizíny** - Nariadenie Komisie č. 856/2005 – uplatňuje sa od 1. júla 2006 a neuplatňuje sa pre výrobky, ktoré boli uvedené na trh do 1. júla 2006.
- **t-2 a ht-2 toxín** - Nariadenie Komisie č. 856/2005 – uplatňuje sa od 1. júla 2006 a neuplatňuje sa pre výrobky, ktoré boli uvedené na trh do 1. júla 2006.

Materiál a metodika

Vzorky analyzované v ŠVPÚ Dolný Kubín sú odoberané odobrané z potravinovej siete inšpektormi regionálnych veterinárnych a potravinových správ, ale tiež z poľnohospodárskych družstiev, skladov. Z odobranej vzorky sa získava reprezentatívna vzorka, ktorá sa následne homogenizuje. Po homogenizácii sa vykoná analýza screeningovou ELISA metódou alebo konfirmačnou metódou kvapalinovej chromatografie, záleži od povahy a určenia vzorky.

ELISA - Pri ELISA metóde voľný mykotoxín vo vzorkách a štandardách súťaží s enzymaticky značeným mykotoxínom (konjugátom) o väzobné miesta na protilátke. Vzorky sú rozdrvené použitím mlyna, extrahované zmesou voda-metanol (aflatoxín, ochratoxín, fumonizín a T2 toxín), pri vyšetrení na prítomnosť DON-u sa vzorky extrahujú redestilovanou vodou. Pri zearalenone sa k zmesi voda – metanol pridáva NaCl. Výsledné hodnoty sa odčítavajú mikroplatničkovým readrom a na základe kalibračnej krivky sa s použitím softvéru vyhodnocujú koncentrácie daného mykotoxínu.

HPLC - Aflatoxín, Ochratoxín A, zearalenon - Vyextrahované vzorky zmesou acetonitril-voda sa prečisťujú pomocou imunoafinitnej kolónky a následne sa analyzujú na chromatografickej kolóne so zakotvenou reverznou fázou. Mykotoxíny sa detegujú sa kvapalinovým chromatografom s fluorescenčnou detekciou, pri aflatoxínoch s použitím postkolónovej derivatizácie.

Deoxynivalenol - Deoxynivalenol sa zo vzorky krmív extrahoval zmesou acetonitril – voda, zo vzorky potravín sa extrahoval redestilovanou vodou. Extrakt sa následne prečistil na imunoafinitnej chromatografickej kolónke a analyzoval na chromatografickej kolóne so zakotvenou reverznou fázou. Mykotoxíny sa detegovali kvapalinovým chromatografom s UV detekciou.

Výsledky a záver

V ŠVPÚ Dolný Kubín bolo v roku 2005 vyšetrených 269 vzoriek metódou ELISA a 474 vzoriek metódou HPLC (viď. tabuľky). Z prezentovaných výsledkov vyplýva opodstatnenosť vyšetovania a monitorovania surovín rastlinného pôvodu a z nich vyrábaných krmív a potravín na prítomnosť mykotoxínov, pretože mykotoxíny predstavujú nezanedbateľné zdravotné riziko rovnako pre hospodárske zvieratá ako aj pre obyvateľstvo. Kľúčovým faktorom, ktorý určuje mieru napadnutia poľných plodín plesňami a rozsah akumulácie mykotoxínov v krmivách, je množstvo vlhky v priebehu rastu a zberu porastov. Hlavne pri vegetačnom období s nadmernými zrážkami a relatívne chladnejšom počasí je predpoklad zvýšenej kontaminácie týmito látkami. K napadnutiu zrnín plesňami však môže dôjsť aj v stresovom vegetačnom období spôsobenom suchom a pri mechanickom poškodení obiliek.

Literatúra

1. MALÍŘ, F. – OSTRÝ, V. 2003. Vlákňité mikromycety (plísne), mykotoxíny a zdraví človeka, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Bme, Bmo, ISBN 80-7013-395-3.
2. PITT, J.I. 2000. Toxigenic fungi: which are important? Mycotoxins and toxigenic fungi. In: Medical Mycology, 38, Supplement I., 2000, pp. 17-22.
3. SCUDAMORE, K.A. 1994 *Aspergillus* toxins in food and animal feedingstuffs. In: Powell, K.A. – Renwick, A. – Peberdy, J.F.: The genus *Aspergillus* from taxonomy and genetics to industrial application. Plenum Press, New York, 1994, pp. 59-70.

Kontaktná adresa:

Ing. Marek Hreško, Štátny veterinárny a potravinový ústav Dolný Kubín, Jánoškova 1611/58, Dolný Kubín, email: hresko svpudk.sk

Tabuľka 1

Výsledky stanovenia mykotoxínov v jednotlivých komoditách za rok 2005 metódou ELISA

Komodita	vzoriek	m.n.	AFLA	m.n.	OTA	m.n.	DON	m.n.	FUM	m.n.	T2	m.n.	ZEA	m.n.
doplnkové KZ	6	0	3	0	3	0	3	0	3	0	0	0	3	0
jačmenný šrot	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
jačmeň krmny	18	0	2	0	2	0	16	0	4	0	1	0	9	0
ovos krmny	2	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
kukurica krmna	20	1	4	0	1	0	13	1	2	0	1	0	14	0
kukurica jedlá	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
kukuričná siláž	9	2	1	0	0	0	8	2	2	0	2	0	8	0
KZ	106	23	31	0	20	0	90	20	21	0	18	0	47	4
Obilie	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
pšenica krmna	26	0	3	0	4	0	24	0	4	0	3	0	16	0
pšenica potravinárska	26	2	0	0	0	0	24	2	19	0	19	0	23	0
pšeničné otruby	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
pšeničný šrot	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Raž	8	1	0	0	0	0	8	1	7	0	7	0	8	0
raž krmná	2	0	1	0	2	0	1	0	1	0	0	0	1	0
repkový šrot	3	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Senáž	7	1	1	1	1	0	6	0	0	0	1	0	6	0
Seno	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4	0
SEŠ	26	0	6	0	8	0	17	0	4	0	0	0	10	0
SPOLU	269	30	54	1	41	0	224	26	69	0	54	0	152	4

Tabuľka 2

Výsledky stanovenia mykotoxínov v jednotlivých komoditách za rok 2005 metódou HPLC

komodita	počet vzoriek	m.n.	AFLA B1	m.n.	AFLA B2	m.n.	AFLA G1	m.n.	AFLA G2	m.n.	AFLA suma	m.n.	OTA A	m.n.	DON	m.n.	ZEA	m.n.
celozrné chlebičky	11	0	9	0	0	0	0	0	0	0	9	0	2	0	0	0	0	0
cereálne výrobky	11	0	8	0	0	0	0	0	0	0	8	0	3	0	0	0	0	0
kakaový prášok	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
káva	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	5	0	0	0	0	0
koreniny	55	6	52	6	0	0	0	0	0	0	52	0	3	0	0	0	0	0
krmivá a krmné zmesi	30	0	25	0	2	0	2	0	2	0	4	0	9	0	1	0	1	0
krmné šrotý	7	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
krupica	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
kukurica a výrobky z kukurice	7	0	5	0	1	0	1	0	1	0	3	0	5	0	0	0	0	0
múka	77	4	23	0	6	0	6	0	6	0	19	0	64	4	0	0	0	0
ovsené vločky	7	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	0	0	0	0	0
pečivo	84	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	84	3	0	0	0	0
pivo	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
pohánka	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
pšenica	20	1	20	0	0	0	0	0	0	0	19	0	19	1	1	0	1	0
rasca	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
raž	16	2	11	0	0	0	0	0	0	0	11	0	14	2	0	0	0	0
ryža	34	0	23	0	6	0	6	0	6	0	17	0	24	0	0	0	0	0
struhanka	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0
sušené ovocie, orechy, pistácie, lieskovec, arašidy	77	6	71	3	0	0	0	0	0	0	71	3	8	0	0	0	0	0
SPOLU	474	22	263	9	15	0	15	0	15	0	222	3	273	10	2	0	2	0

AFLA - aflatoxín
 OTA A - ochratoxín
 DON - deoxynivalenol
 ZEA - zearalenon
 m.n. - mimo normu

PRODUKCIA EKOLOGICKY ČISTEJ POTRAVINY Z BRAVČOVÉHO MÄSA PRI POUŽITÍ HOMEOPATÍK

ECOLOGICAL NUTRITION PRODUCTION FROM PORC MEAT APPLICATION OF HOMEOPATICS

Húska, M., Dudríková, E., Buleca, J., Reichel, P.

II. interná klinika, UVL v Košiciach

Abstract

Homeopathies is an art of medicine based on similarity. It was established by German doctor and chemist Samuel Hahnemann. He applied the similarity rule, which is based on knowledge that each substance present in measurable concentration which can cause disease in healthy organism, is able to repress the same disease when present in infinite small concentration.

The benefit of homeopatics is that no residues persist in organism in comparison to classic therapeutics. This fact is positively acts at health creation not only in animals but also in humans. We applied homeopatics in post weaning piglets as prevention to diarrheic syndrome occurrence. Preparation PVB Diarrhéas is veterinary homeopathic specialty from Boiron company that is used for diarrhea treatment and prevents complications like weight losing, chronic enterocolitis and hepatitis. Experiment was realized in ŠPP in Zem. Teplica on 28 piglets. Each swine was applied 2 ml of solution per orally in period since 3 days before weaning to 70 days after weaning.

The goal of the project was monitoring od hematological, macro and micro mineral , energetic, enzyme profile, weight gains and influence to piglets health state after per oral application of homeopatics. Conclusion of experiment was verification of theory of biochemical – homeopathic regulation of metabolism. Result of project is summary of analysis of substances metabolism and homeostasis in post weaning piglets. We found that homeopatics did not influence the hematological profile. Increased level of Lc in all samples and groups show the increased immune system activity. Micro and macro mineral profile was not influenced. Significant hypozincemia persisted in all samples and groups. Energetic profile, glucose and TCH concentration was not influenced. Enzyme and hepatic profile was much stable in groups A1 and B1, that influenced positively the health state. Nitrogen and protein profiles were not influenced in A1 and B1 groups, where no death were reported and diarrheic syndrome did not occur. Weight gains were influenced positively in groups A1 and B1. Obtained results show positive influence of homeopathic preparation to health state of post weaning piglets and we recommend their practical application in farming conditions as alternative replacement of medicamented fodder supplementation.

Úvod

Zavedením HACCP programu je zaručenie vyššej bezpečnosti potravín. Z dôvodu zabráneniu kontaminácie reziduami sa v súčasnosti využívajú pri výrobe potravín živočíšneho pôvodu aj homeopatiká. Homeopatia je umenie medicíny založené na základe podobnosti. Jej zakladateľom bol nemecký lekár a chemik Samuel Hahnemann. Výhodou homeopatie je, že na rozdiel od klasických terapeutík homeopatiká nezanechávajú v organizme reziduá, čo sa pozitívne odráža na tvorbe zdravia nielen zvierat , ale aj ľudí (Lockie, 2002, Bálent a kol.2005).

Materiál a metodika

Pokus bol realizovaný na ŠPP v Zemplínskej Teplici. Do pokusu bolo náhodným výberom vybratých 28 prasiat krížencov plemena Slovenská biela ušľachtilá 75% a Landras 25%,

približne rovnakej hmotnosti a rovnakého veku. Každé zviera bolo opatrené identifikačným číslom, a boli rozdelené do skupín A1, A2, B1, a B2.

Experiment spočíval v dennom podávaní homeopatických roztokov ošípaným 3 dni pred odstavom až 70 dní po odstave. Skupine A1 bol podaný prípravok *Boiron 69 110 šarža SL 133 58*, B1 - prípravok *Boiron 69110 šarža SL 133 58*, 2 ml na kus jeden krát denne, prvé 3 dni individuálne pomocou dávkovacej pumpy, potom potencovaný v 100 ml vody, aplikovaný v potrave. Kontrolným skupinám A2, B2 bolo podávané placebo v množstve 2 ml, prvé tri dni individuálne pomocou dávkovacej pumpy, potom aplikovaný v potrave.

Váženie odstavčiat sa vykonávalo 3 krát, vo veku 5, 7 a 9 týždňov.

Krv sa odoberala v deň odstavu, 14 a 28 dní po odstave, zo sinus ophtalmicus. Táto bola následne spracovaná v laboratóriu II. Internej kliniky UVL v Košiciach.

Koncentrácia hemoglobínu (Hb), počet erytrocytov (Ec) a leukocytov (Lc), hodnota hematokritu (Hk), priemerný objem erytrocytov (MCV) boli stanovené automatickým analyzátorom krviniek SERONO 150+.

Koncentrácia minerálnych látok vápnika (Ca), horčíka (Mg), fosforu (P), sodíka (Na), draslíka (K) v sére bola stanovená metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie prístrojom PERKIN ELNER a plameňovou atómovou absorpčnou spektrofotometriou prístrojom ANALYST 100. Zinok (Zn) bol stanovený bezplameňovou analýzou v internej atmosfére argónu prístrojom PELKIN ELMER 4100 ZL. Glukóza (Gluk), cholesterol(TCH), celkové bielkoviny (CB), Urea (U), kreatinín (Kreat), albumín (Alb), asparát aminotransferáza (AST), alanínaminotransferáza (ALT), gammaglutamyltransferáza (GGT), alkalická fosfatáza (ALP), laktátdehydrogenáza (LDH) boli stanovené na automatickom biochemickom analyzátore ALLIZE firmy LISABIO, pomocou diagnostických testov firmy MÉRIEUX a RANDOX. Celkové imunoglobulíny (CIg) boli vykonané turbidimetrickou metódou a stanovené fotometricky prístrojom SPEKOL 110. Bilirubín (Bi) bol stanovený klasickou metódou na spektrofotometri SPECOL 211 firmy Carl Zeiss Jena.

Štatistické spracovanie a vyhodnotenie výsledkov experimentu sa realizoval v programe Microsoft Excel, Studentovým T testom.

Výsledky a diskusia

Analýzou nami získaných výsledkov hematologického profilu sme zistili, že homeopatické prípravky BOIRON 69110 Sainte-Foy-Lés-Lyon šarža SL 133 58 a 133 59 vôbec neovplyvnili hodnoty zložiek hematologického profilu. Počet erytrocytov, hodnoty Hb,Hk,MCV sa pohyboval vo fyziologickom optime. Leukocyty (Lc) tvoria bielu krvnú zložku hematologického profilu, sú základným komponentom lymfoidného a imunologického systému (Vrzgula a kol., 1990). Vo všetkých odberoch boli namerané hodnoty nad referenčnou hodnotou.

Homeopatické prípravky vôbec neovplyvnili hodnoty samotného makro a mikrominerálneho profilu. Hladiny Ca, Mg, Na, K sa pohybovali vo fyziologických hodnotách, P- boli mierne zvýšené vo všetkých skupinách pri prvom a treťom odbere. Železo (Fe) ako prvok, ktorého hladina je ovplyvnená aj zdravotným stavom tráviacej sústavy, sa pohybovala v referenčných hodnotách. Metabolizmus zinku (Zn) súvisí s metabolizmom vitamínov A, D, B₁ a B₆ (STRAW a kol. 2003). Počas trvania celého experimentu bola hypozinkémia vo všetkých skupinách.

Poruchy energetického metabolizmu patria medzi najzávažnejšie produkčné choroby. Príčiny týchto porúch sú v úzkom vzťahu s kŕmnym režimom a inými etiopatogenetickými faktormi, ako sú choroby gastrointestinálneho traktu, parazity, poruchy funkčnej činnosti pečene, obličiek a centrálnej nervovej sústavy (Ammerman C. B. a kol., 1998). Analýza energetického profilu ukázala, že homeopatické prípravky neovplyvnili hladinu glukózy (Gluk) v krvnom sére odstavčiat, ktorá sa vo všetkých skupinách a vo všetkých odberoch pohybovala vo

fyziologickom rozpätí 3,7 – 6,4 mmol/l. Koncentrácia celkového cholesterolu (TCH) v sére odstavčiat sa vo všetkých skupinách a pri všetkých odberoch pohybovala v oblasti horných referenčných hodnôt (RH) a často tieto hodnoty prekračovala.

Analýzou výsledkov enzymatického a hepatálneho profilu v sére odstavčiat sme zistili, že aktivita AST mala vo väčšine prípadov klesajúcu tendenciu. AST sa nachádza predovšetkým v bunkách pečene, srdcového svalu a je lokalizovaný tak v cytoplazme, ako aj v mitochondriách. ALT je cytoplazmatický enzým, lokalizovaný najmä v hepatocytoch. Aktivita tohto enzýmu v sére odstavčiat mala v skupinách, kde boli podávané homeopatické prípravky, teda v skupinách A1 a B1, klesajúcu, respektíve ustálenú hladinu. Namerané hodnoty však boli v hornej hranici RH, alebo ju mierne prekračovali. Hodnoty GGT, enzýmu viazaného na bunkové membrány, sa zvyšujú pri enteritídach. Aktivita GGT v sére odstavčiat bola veľmi nestála, najvyššie hodnoty boli namerané v prvom a treťom odbere vo všetkých skupinách, kde hodnoty prekračovali hornú hranicu RH. ALP sa vyskytuje takmer vo všetkých orgánoch a tkanivách, i v erytrocytoch a leukocytoch. Hladiny ALP sa počas celého experimentu pohybovala vo fyziologickom rozpätí, výnimku tvorí skupina A1 v druhom odbere, kde nameraná hodnota bola nižšia ako je udávaná RH 1,9 μ kat/l. Hladina ALP sa zvyšuje pri zápalových črevných ochoreniach a malabsorpčnom syndróme (Fehse a kol., 2000). LDH sa nachádza hlavne v svalovine, pečňových bunkách a obličkách. Vo všetkých odberoch a všetkých skupinách aktivita tohto enzýmu výrazne prekračovala hornú hranicu RH, čo poukázalo na zvýšenú stresovú záťaž u odstavčiat. Celkový bilirubín (Bi) vo väčšine odberov prekračovala hornú hranicu 5,13 μ mol/l.

Analýza výsledkov dusíkatého a bielkovinového profilu v sére odstavčiat ukázala, že koncentrácia CB nedosahovala referenčné hodnoty 70 – 90 g/l. Počas celého experimentu pretrvávala mierna hypoproteinémia. Nedostatok bielkovín v kŕmnej dávke, resp. pri ich syntéze má za následok zníženie úžitkovosti, zhoršenie obranných reakcií organizmu, poruchy v procese trávenia, endokrinného a nervového systému, stresu. Ich deficit je spôsobený nedostatočným prísunom stráviteľných dusíkatých látok, celkového množstva a kvality v kŕmnej dávke (Close W. H., 1999). Hladina CIg mala vo všetkých skupinách stúpajúcu tendenciu a pohybovala sa v spodnej časti referenčného rozpätia. Alb v prvom odbere bol vo fyziologickom rozpätí, v ďalších odberoch mal klesajúcu tendenciu a nedosahoval spodnú hranicu RH. Creat vo všetkých skupinách a odberoch bol hlboko pod RH. Hladina močoviny bola vyrovnaná počas celého experimentu a pohybovala sa vo fyziologickom rozpätí.

Záver

Záverom experimentu bolo overenie teórie biochemicko – homeopatickej regulácie metabolizmu, ktorého výsledkom je súhrn analýz látkového metabolizmu a homeostázy u odstavčiat po perorálnej aplikácii homeopatických prípravkov BOIRON 69110 Sainte-Foy-Lés-Lyon šarža SL 133 58 a 133 59 a porovnanie so skupinami kontrolných odstavčiat.

Zistili sme že prípravky:

- neovplyvnili hematologický profil, zvýšené hladiny Lc vo všetkých odberoch a skupinách poukazujú na zvýšenú aktivitu imunitného systému
- neovplyvnili mikro a makromineralný profil, počas celého experimentu pretrvávala výrazná hypozinkémia vo všetkých skupinách a odberoch, čo bolo zapríčinené deficitom prísunu zinku v kŕmnej dávke
- neovplyvnili energetický profil, koncentráciu glukózy a TCH
- enzymatický a hepatálny profil bol v skupinách A1 a B1 vyrovnanejší a ustálenejší, čo pozitívne ovplyvnilo celkový zdravotný stav
- neovplyvnili dusíkatý a bielkovinový profil

- priaznivo ovplyvnili zdravotný stav v skupinách A1 a B1, kde nedošlo k úhynom a zabránili výskytu diarrhoického syndrómu; v skupinách A2 a B2 došlo k výskytu hnačiek a úhynu v skupine B2
- priaznivo ovplyvnili hmotnostné prírastky v skupinách A1 a B1

Homeopatický liek je nositeľom informácie, ktorej prenesenie do organizmu navodí stimuláciu vlastných obranných mechanizmov (Busserová a kol., 2006). Dosiahnuté výsledky poukazujú na priaznivý vplyv podávania testovaných homeopatických prípravkov na zdravotný stav odstavčiat a odporúčame ich pre praktické využitie vo farmových chovoch ako alternatívnu náhradu suplementácie medikovaných kŕmnych zmesí antibiotikami, chemoterapeutikami a sulfonamidmi. Je potrebné ďalšie štúdium vo veterinárnej medicíne, aby bol využitý homeopatický potenciál pri riešení problematiky diarrhoického syndrómu.

Literatúra

1. AMMERMAN, C. B., HENRY, P. R., LEWIS, A. J.: Supplemental organically – bound mineral compounds in livestock nutrition. In: Recent Advances in Animal Nutrition, 1998, 67 – 91
2. BÁLENT, P., VALENČÁKOVÁ, A., ČISLÁKOVÁ, L., HALÁNOVÁ, M.: Mikrosporídie v potravinovom reťazci ako možný zdroj nákazy ľudí. Zborník prednášok z medzinárodnej vedeckej konferencie HYGIENA ALIMENTORUM XXVI: „Bezpečnosť a kvalita mäsa a mäsových výrobkov v legislatívnych podmienkach spoločného trhu Európskej únie,“ Štrbské Pleso- Vysoké Tatry, 2005, 137-140.
3. BUSSEROVÁ, M., CHEFDEVILLE, F., COUSIN, J.M., DESOBEAU, P., LAMBERT, J., MARCKEL, J., MOUGUEZOVÁ.: Homeopatické memento- Od symptómu k Materii medike, CEDH INTERNATONAL, ISBN 80-969483-9-3, 2006, 220-230. Pig Science, Edited By T. P. Lyons and D. J. A. Cole. Nottingham University Press, Nottingham, 1999, 131 – 142
4. FEHSE, R., CLOSE, W. H.: The effect of the addition of organic trace elements on the performance of a hyper-prolific sow herd. In: Biotechnology in the Feed Industry. Edited by T. P. Lyons and K. A. Jaques. Nottingham University Press, Nottingham, 2000, 309 – 325
5. LOCKIE, A.: Encyklopédia homeopatie, Perfekt, 2002, 45 - 66
6. STRAW, B.E., DALLAIRE, S., MENGELING, W.L., TAYLOR, D.J.: Choroby ošípaných – nemoci prasat, Hajko & Hajková, TYPOSET, Bratislava 2003, ISBN 80 – 88700 – 58 - 2
7. VRZGULA, L., a kol.: Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierat a ich prevencia, 1990, 169 – 198

Experiment bol realizovaný za pomoci grantových agentúr: VEGA pod číslom 1/3487/06 a APVV 20-063205.

DYNAMIKA V KUMULÁCIÍ POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLOV V RYBÁCH V ZEMPLÍNSKEJ ŠÍRAVE A VO VYBRANÝCH RIEKACH VÝCHODOSLOVENSKEHO REGIÓNU.

THE DYNAMICS IN THE CASE OF CUMULATION IN THE FISHES IN THE ZEMPLÍNSKA ŠÍRAVA AND CHOSEN RIVER IN THE EAST PART OF THE SLOVAK REPUBLIC.

Ihnátová, M., Bíreš, J., Rajzák, P.*

Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky, *Krajská veterinárna a potravinová správa Prešov

Abstract: This paper deals with the dynamic of occurrence of polychlorinated biphenyls in the fishes from the Zemplínska Šírava and from the chosen rivers of the East part of the Slovakia. The results, which are reported in this paper are from the Monitoring game and fishes. The results are aimed on the dynamic of occurrence of PCB 153 in the carnivorous fishes and other fishes accounted in the area with the environmental endurance. The veterinary measures were taken by the respective Veterinary and Food Administration in order to prevent of penetrating of polychlorinated biphenyls through contaminated fishes in the food chain. These veterinary measures are presented in the report.

Kľúčové slová: polychlórované bifenyly, ryby, kontaminanty, ekologická záťaž, maximálny reziduálny limit.

Úvod:

Ryby a poľovná zver sa monitorujú v Slovenskej republike od roku 1995 v rámci Čiastkového monitorovacieho systému „Cudzorodé látky v potravinách a krmivách“. Cieľom ČMS je získať reálne údaje o kontaminácii surovín, potravín a krmív vo vzájomnej príčinnej súvislosti s kontamináciou životného prostredia Slovenskej republiky na jednej strane a expozíciou obyvateľstva na strane druhej. ČMS „Cudzorodé látky v potravinách a krmivách“ pozostáva z troch na seba nadväzujúcich subsystémov Koordinovaný cielený monitoring, Monitoring spotrebného koša a Monitoring poľovnej a voľne žijúcej zveri a rýb. V rámci Monitoringu poľovnej a voľne žijúcej zveri a rýb prebieha prostredníctvom veterinárnych inšpektorov monitoring dynamiky kumulácie polychlórovaných bifenylov v rybách z oblastí s ekologickou záťažou. V oblasti východoslovenského regiónu vznikla environmentálna záťaž z podniku Chemko Strážske. PCB vyrábané v Chemku Strážske boli významným artiklom pre export do celého východného bloku. V rokoch 1959 – 1984 sa oficiálne vyrobilo 21 482 ton výrobkov na báze PCB, pričom vzniklo viac než 1 000 ton odpadu. Odhaduje sa, že už počas výroby uniklo niekoľko desiatok ton do odpadového kanála podniku a kontaminovalo Laborec a Zemplínsku Šíravu.

Metodika:

Sledovanie kumulácie a dynamiky polychlórovaných bifenylov v rybách ulovených z oblastí s ekologickým zaťažením prebieha v súlade s Metodickým pokynom Štátnej veterinárnej a potravinovej správy pre daný rok. Každoročne je tento metodický pokyn pripravovaný v spolupráci so skupinou expertov a je rozdelený na dve základné časti a to na monitoring poľovnej a voľne žijúcej zveri a na monitoring rýb. Pôvodná koncepcia Monitoringu poľovnej a voľne žijúcej zveri a rýb vychádzala zo širšie vybraných skupín zveri a rýb. Nakoľko široký rozsah pozorovaní dovoľoval len nižší počet sledovaných jedincov, od roku 2001 sa prijala koncepcia zameraná na modelovú zver – srnca lesného prípadne jeleňa a monitorovanie kontaminantov v rybách Zemplínskej Šíravy a vybraných riekach východoslovenského regiónu. Základným cieľom monitoringu poľovnej zveri a rýb v roku 2005 bolo získať podklady o hladinách kontaminantov konkrétne rizikových prvkov a PCB a o výskyte gastrointestinálnych a pľúcnych parazitov u srncov prípadne jeleňov odstrelených v monitorovaných

revíroch, ďalej získať podklady o rádiometrických meraniach v lišajníkoch, ktoré sú považované za ekologické indikátory prostredia. V neposlednej miere a z väčšej časti bol monitoring zameraný na získanie podkladov o stave kontaminácie rýb v riekach východoslovenského regiónu zameraného na oblasť v pôsobnosti Regionálnej veterinárnej a potravinovej správy Michalovce a Trebišov za účelom porovnania výsledkov výskytu kontaminantov s predchádzajúcimi rokmi, keďže ide o ekologickú záťaž. V roku 2005 bola do metodického pokynu zaradená aj kontrola dioxínov a perzistentných organických polutantov vo

vzorkách rýb odobratých z oblasti východoslovenského regiónu. V príslušnom Metodickom pokyne Štátnej veterinárnej a potravinovej správy Slovenskej republiky sú uvedené typy vzoriek, termíny odberov, množstvá vzoriek, spôsob balenia, uskladnenia, transportu, analýzy a laboratóriá, v ktorých budú dané vzorky analyzované a vyhodnocované. Veterinárni inšpektori regionálnych veterinárnych a potravinových správ postupujú pri plnení monitoringu v súlade s týmto metodickým usmernením.

Výsledky:

V rámci monitoringu boli v rybách a v zveri monitorované viaceré kontaminanty ako ťažké kovy, polychlórované bifenyly, medzi ktoré v posledných dvoch rokoch pribudli aj perzistentné organické polutanty a dioxíny. Polychlórované bifenyly boli a naďalej aj sú monitorované ako u poľovnej zveri, tak aj u rýb. Ide o látky, ktoré sa vyznačujú chemickou a fyzikálnou stabilitou a silným lipofilným účinkom, ktorý následne vedie k významnej biokumulácii. PCB sa kumulujú v tukovom tkanive, kde pretrvávajú a sú inertné voči metabolickým premenám, pričom iba niektoré kongenéry podliehajú mikrobiálnemu rozkladu. PCB sú zdraviu škodlivé, vyvolávajú napríklad poškodenie pečene, štítnej žľazy, imunitného systému a majú aj karcinogénny účinok. PCB sa nachádzajú vo všetkých abiotických a biotických zložkách životného prostredia. Do životného prostredia sa dostávajú napríklad zo závodov, pri nesprávnej manipulácii a nakladaní s PCB pri ich transporte, prípadne neúmyselnom úniku počas horenia látok s obsahom PCB alebo pri spaľovaní nebezpečného odpadu. PCB sa zo životného prostredia veľmi ťažko odbúravajú. Vo vode sa PCB vyskytujú len v malých koncentráciách v rozpustnej forme, neskôr sa usádzajú v organických častiach a na dne sedimentov. PCB sa kumulujú v telách vodných organizmoch. Jednou z ciest expozície ľudí je konzumácia kontaminovanej potravy najmä rýb, mäsa a mliečnych výrobkov, inhalácia kontaminovaného vzduchu a pod. Výskyt a dynamika kumulácie PCB sa v rybách sleduje od roku 1995. Namerané hodnoty sú vyhodnocované diagnostickými pracoviskami v súlade s platnou legislatívou Slovenskej republiky a európskej únie. PCB sú vyhodnocované na národnú legislatívu v súlade s Výnosom 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. Pre dioxínom príbuzné PCB sa uplatňujú limity v súlade s Nariadením Komisie č. 466/2001 (ES) z 8. marca 2001, ktorým sa stanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých cudzorodých látok v potravinách v znení neskorších predpisov, pričom od 4.11.2006 sa v Slovenskej republike začnú uplatňovať harmonizované limity európskej únie pre dioxínom podobné PCB.

Za obdobie desiatich rokov, od roku 1995 do roku 2005 vrátane, bolo v rámci monitoringu poľovnej zveri a rýb odobratých a následne analyzovaných 2 975 vzoriek, v ktorých bolo vykonaných 27 036 analýz a celkovo bolo za desaťročné obdobie zistených 1 749 nadlimitných nálezov.

V rámci vykonaného monitoringu poľovnej zveri a rýb bolo v roku 2005 odobratých a na analýzy doručených celkom 178 vzoriek, v ktorých bolo vykonaných 1 535 analýz a v rámci týchto vyšetrení bolo 179 nadlimitných nálezov. Presný rozpis počtu vzoriek, počtu vykonaných analýz a počtu nadlimitných nálezov podľa jednotlivých diagnostických pracovísk od roku 1995, medzi ktoré sú zaradené Štátny veterinárny a potravinový ústav Bratislava, Dolný Kubín, Košice a Nitra, uvádza tabuľka č. 1.

Diagnostické pracovisko:	Údaje	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Spolu:
ŠVPÚ Bratislava	Počet vzoriek	96	105	100	88	87	70	76	70	38	36	32	798
	Počet analýz	940	1178	1089	981	985	784	718	472	255	242	215	7859
	Počet nadlimitov	13	27	14	13	17	4	25	14	0	1	0	128
ŠVPÚ Dolný Kubín	Počet vzoriek	90	111	109	113	106	27	58	22	16	18	14	684
	Počet analýz	840	1131	1092	1137	1062	288	364	98	106	126	99	6343
	Počet nadlimitov	34	30	17	38	22	4	7	1	3	0	1	157
ŠVPÚ Košice	Počet vzoriek	196	96	146	138	136	87	72	154	102	148	122	1397
	Počet analýz	1950	942	1310	1255	1355	897	509	926	758	1444	1191	12537
	Počet nadlimitov	127	86	79	45	70	72	23	215	243	326	178	1464
ŠVPÚ Nitra	Počet vzoriek							38	14	13	21	10	96
	Počet analýz							114	42	39	72	30	297
	Počet nadlimitov							0	0	0	0	0	0
Celkovo počet vzoriek		382	312	355	339	329	184	244	260	169	223	178	2975
Celkovo počet analýz		3730	3251	3491	3373	3402	1969	1705	1538	1158	1884	1535	27036
Celkovo počet nadlimitov		174	143	110	96	109	80	55	230	246	327	179	1749

Prehľad počtu odobratých vzoriek, vykonaných analýz a nadlimitov podľa jednotlivých kategórií v rámci monitoringu poľovnej zveri a rýb za obdobie rokov 1995 až 2005 je uvedený v tabuľke č. 2. Tabuľka č. 2

Kategória	Údaje	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Spolu:
Huby	Počet vzoriek							36	21	15	23		95
	Počet analýz							143	92	81	129		445
	Počet nadlimitov							8	9	1	1		19
Lišajníky	Počet vzoriek							36	21	15	21	24	117
	Počet analýz							148	92	77	104	128	549
	Počet nadlimitov							0	0	0	0	0	0
Malá zver pernatá	Počet vzoriek	63	51	51	50	57		1			1		274
	Počet analýz	611	497	430	428	528		4			6		2504
	Počet nadlimitov	39	38	39	26	19		0			0		161
Malá zver srstnatá	Počet vzoriek	67	27	36	26	19	38			4			217
	Počet analýz	605	258	334	236	178	364			28			2003
	Počet nadlimitov	11	5	9	12	2	2			0			41
Predátor	Počet vzoriek	110	52	69	72	53							356
	Počet analýz	1007	473	587	610	434							3111
	Počet nadlimitov	86	28	31	33	26							204
Raticová zver	Počet vzoriek	75	106	125	115	113	92	124	133	76	68	83	1110
	Počet analýz	702	1085	1257	1169	1148	932	1022	803	522	479	579	9698
	Počet nadlimitov	21	46	21	15	8	12	24	4	6	0	4	161
Ryby dravé	Počet vzoriek	38	38	42	40	45	41	8	15	17	18	18	320
	Počet analýz	456	479	503	488	578	508	84	105	114	217	188	3720
	Počet nadlimitov	14	13	4	6	15	36	0	84	75	72	66	385
Ryby nedravé	Počet vzoriek	29	38	32	36	42	13	14	24	31	80	39	378
	Počet analýz	349	459	380	442	536	165	155	147	259	820	492	4204
	Počet nadlimitov	3	13	6	4	39	30	3	124	164	254	105	745
Sedimenty	Počet vzoriek								11				11
	Počet analýz								69				69
	Počet nadlimitov								0				0
Voda	Počet vzoriek							25	35	11	12	14	97
	Počet analýz							149	230	77	129	148	733
	Počet nadlimitov							20	9	0	0	4	33
Celkovo počet vzoriek		382	312	355	339	329	184	244	260	169	223	178	2975
Celkovo počet analýz		3730	3251	3491	3373	3402	1969	1705	1538	1158	1884	1535	27036
Celkovo počet nadlimitov		174	143	110	96	109	80	55	230	246	327	179	1749

Z dravých rýb bolo v roku 2005 odobratých 18 vzoriek, v ktorých bolo vykonaných 188 analýz a bolo 66 zistených nadlimitov. Z rýb nedravých, bolo odobratých 39 vzoriek, v ktorých bolo vykonaných 492 analýz a zistených bolo 105 nadlimitov. U dravých rýb aj nedravých rýb boli zistené

nadlimitné hodnoty kongenéro PCB 101, 138, 153, 180, 28, a 52. U nedravných rýb boli v jednej vzorke namerané nevyhovujúce hodnoty dioxínov.

V roku 2005 boli ulovené a analyzované nasledovné druhy nedravných rýb: červenica, kapor obyčajný, karas obyčajný, mrena obyčajná, pleskáč vysoký a tolstolobik. Nadlimitné hodnoty kongenéro PCB boli zistené nedravných rýb ulovených z oblastí: Nápuštný kanál Zemplínska Šírava, Laborec pod Vojanami, Vinné jazero, Rybníky Iňačovce, Zemplínska Šírava - Jovsa, Zemplínska Šírava – Prímestská oblasť, výpustný kanál Chemko Strážske, Kanál Strážske – Ondava, výpustný kanál Zemplínska Šírava – Laborec, Laborec- Krivošťaňany, Zemplínska Šírava, Latorica, Ladmovce, Ondava - Hrušov, Poša sedimentačná nádrž.

Pre porovnanie množstva PCB v roku 2005 bola zvolená hodnota PCB 153, ktorý je považovaný za potencionálny karcinogén. V nápuštnom kanále Zemplínskej Šíravy mala ulovená červenica namerané hodnoty PCB 153 v množstve 9,537 mg/kg. Z Vinného jazera boli ulovené rôzne druhy rýb. U kapra obyčajného boli namerané hodnoty PCB 153 v množstve 0,446 mg/kg a u tolstolobika PCB 153 v množstve 0,368 mg/kg. U dvoch vzoriek rýb pleskáča vysokého, ulovených z Laborca pod Vojanami, boli namerané maximálne hodnoty PCB 153 v množstve 9,162 mg/kg. Zo Zemplínskej Šíravy – Jovsa, boli u pleskáča vysokého namerané hodnoty PCB 153 v množstve 17,89 mg/kg, pričom u kapra obyčajného, uloveného zo Zemplínskej Šíravy – prímestská oblasť boli tieto namerané hodnoty nižšie PCB 153 v množstve 5,426 mg/kg. Prekvapujúco nízke hodnoty už spomínaného kongenéro PCB 153 boli zistené u rýb ulovených vo výpustnom kanále Chemko Strážske a to u karasa obyčajného to boli PCB 153 v množstve 5,612 mg/kg a u pleskáča vysokého PCB 153 v množstve 1,898 mg/kg. Karas obyčajný, ulovený z kanála – Strážske – Ondava, vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 29,07 mg/kg. Kapor obyčajný z výpustného kanála Zemplínska Šírava – Laborec vykazoval PCB 153 v množstve 6,964 mg/kg. Z Laborca v oblasti Krivošťaňany bol nález kongenéro PCB u kapra obyčajného v nízkych, ale nadlimitných hodnotách a to PCB 153 v množstve 0,524. Mrena obyčajná ulovená z Latorice – Brehov vykazovala nadlimitné hodnoty PCB 153 v množstve 7,761 mg/kg, pričom pleskáč vysoký ulovený z tej istej oblasti vykazoval najvyššie hodnotu v rámci nedravných rýb v roku 2005 a to PCB 153 v množstve 106,6 mg/kg. Karas obyčajný z Bodrogu KÚ Ladmovce vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 12,91 mg/kg. Pleskáč vysoký ulovený z Ondavy – Hrušov vykázal hodnoty PCB 153 v množstve 1,303 mg/kg. Červenica ulovená zo sedimentačnej nádrže – Poša vykazovala nadlimitné hodnoty PCB 153 v množstve 5,112 mg/kg, pričom pleskáč vysoký ulovený z tej istej oblasti vykazoval hodnotu PCB 153 v množstve 18,42 mg/kg. Z nameraných a zistených údajov o množstve PCB 153 v nedravných rybách ulovených v roku 2005 v rámci monitoringu poľovnej zveri a rýb môžeme konštatovať, že priemerná hodnota tohto spomínaného kongenéro PCB 153 bola nameraná v hodnote 8,121 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 106,6 mg/kg.

V roku 2005 boli ulovené a analyzované nasledovné druhy dravných rýb: boleň dravý, jalec tmavý, ostriež obyčajný, sumec obyčajný, štika obyčajná a zubáč obyčajný. Pri monitoringu dravných rýb boli zistené nadlimitné hodnoty kongenéro PCB 101, 138, 153, 180, 28 a 52. Nadlimitné hodnoty kongenéro PCB boli zistené u dravných rýb ulovených z oblastí: nápuštný kanál Zemplínska Šírava, Laborec pod Vojanami, Zemplínska Šírava – Hnojné, Zemplínska Šírava – Kusín, Zemplínska Šírava – Lúčky, Zemplínska Šírava – prímestská oblasť, Zemplínska Šírava – výpustný kanál - Laborec. Boleň dravý ulovený z nápuštného kanála Zemplínskej Šíravy vykazoval hodnoty a PCB 153 v množstve 10,694 mg/kg. Vo svaloch šťuky obyčajnej boli v dvoch prípadoch namerané nadlimitné hodnoty s maximálnymi meraniami PCB 153 v množstve 11,34 mg/kg, pričom boli ulovené z Laborca pod Vojanami. Sumec obyčajný vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 18,965 mg/kg a bol ulovený v Zemplínskej Šírave – Hnojné. Vo svaloch zubáča obyčajného boli v dvoch prípadoch namerané nadlimitné hodnoty PCB s maximálnymi meraniami PCB 153 v množstve 21,781 mg/kg, pričom boli ulovené zo Zemplínskej Šíravy – Kusín. Ostriež obyčajný vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 27,046 mg/kg a bol ulovený zo Zemplínskej Šíravy – Lúčky. Zo Zemplínskej Šíravy – prímestskej oblasti bol ulovený zubáč obyčajný, ktorého PCB nálezy hodnoty vykazovali PCB 153 v množstve 34,605 mg/kg. Sumec obyčajný ulovený z výpustného kanála Zemplínskej Šíravy – Laborec vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 20,32 mg/kg a ulovený z Bodrogu – Ladmovce len hodnoty PCB 153 v množstve 7,224 mg/kg, pričom jalec tmavý, ulovený z Ondavy – Hrušov vykazoval hodnoty PCB 153 v množstve 0,556 mg/kg. Najvyššie namerané hodnoty kongenéro PCB 153 v rámci dravných rýb vykazoval zubáč obyčajný ulovený zo Zemplínskej Šíravy – prímestskej oblasti v množstve 34,605 mg/kg.

Z nameraných a zistených údajov o množstve PCB 153 u dravých rýb ulovených v rôznych riekach v oblasti východoslovenského regiónu v roku 2005 v rámci monitoringu poľovnej zveri a rýb vyplýva, že priemerná hodnota tohto spomínaného kongeneru PCB 153 bola v nameraná hodnote 13,089 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 34,605 mg/kg. V porovnaní s maximálnou hodnotou PCB 153 nameranej u nedravých rýb je nameraná maximálna hodnota kongeneru PCB 153 u dravých rýb porovnateľne nižšia. Aj napriek tomu, sú tieto hodnoty mnohonásobne vyššie ako je stanovený maximálny reziduálny limit národnou legislatívou.

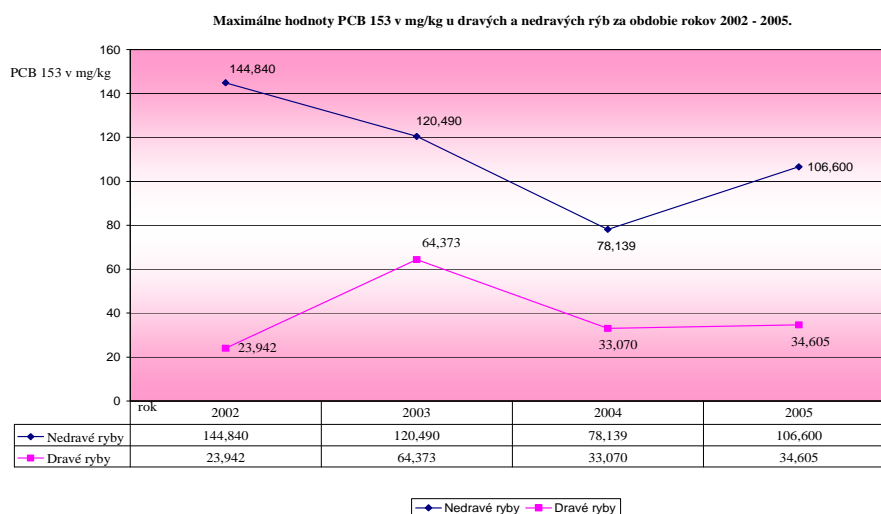
Pričom v roku 2002 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v nedravých rybách 22,713 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 144,84 mg/kg, v roku 2003 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v nedravých rybách 26,807 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 120,49 mg/kg, v roku 2004 bola priemerná hodnota PCB 153 v nedravých rybách 7,458 mg/kg a maximálna hodnota bola 78,139 mg/kg a v roku 2005 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v nedravých rybách 8,121 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 106,6 mg/kg. U dravých rýb sa tieto priemerné a maximálne hodnoty vyskytovali v týchto hodnotách: v roku 2002 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v dravých rybách 9,44 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 23,942 mg/kg, v roku 2003 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v dravých rybách 18,813 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 64,373 mg/kg, v roku 2004 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v dravých rybách 10,31 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 33,07 mg/kg a v roku 2005 bola nameraná priemerná hodnota PCB 153 v dravých rybách 13,089 mg/kg a maximálna nameraná hodnota bola 34,605 mg/kg. Výsledky sú uvedené v tabuľke č. 3.

Tabuľka č. 3

Druh	Analyt	hodnoty	2002	2003	2004	2005
Nedravé ryby	PCB 153	Priemerná hodnota (v mg/kg)	22,713	26,807	7,458	8,121
	PCB 153	Maximálna hodnota (v mg/kg)	144,84	120,49	78,139	106,60
Dravé ryby	PCB 153	Priemerná hodnota (v mg/kg)	9,44	18,813	10,31	13,089
	PCB 153	Maximálna hodnota (v mg/kg)	23,942	64,373	33,07	34,605

Na základe dosiahnutých výsledkov je možné skonštatovať, že namerané hodnoty PCB 153 v rybách ulovených zo Zemplínskej Šíravy a z vybraných riek východoslovenského regiónu stále mnohonásobne prekračujú maximálny reziduálny limit určený národnou legislatívou, pričom priemerné a maximálne namerané hodnoty rokmi mierne klesajú. Klesanie hodnôt nie je úmerné, vzhľadom k tomu, že každoročne sa nepodarí uloviť ryby približne rovnakého veku. Keďže PCB majú kumulatívny účinok, je zrejme, že najvyššie hodnoty sú zisťované u starších rýb. Taktiež na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že u nedravých rýb boli namerané za obdobie rokov 2002 až 2005 vyššie priemerné a maximálne hodnoty ako u rýb dravých. Grafické znázornenie maximálnych nameraných hodnôt PCB 153 v mg/kg u dravých a nedravých rýb za obdobie rokov 2002 – 2005 zobrazuje graf č. 1.

Graf č. 1.



Záver

Kumulatívny účinok PCB dokazuje ich neustála perzistencia v rybách ulovených z oblasti s ekologickou záťažou. Množstvo nameraných hodnôt kongenéro PCB v rybách za posledné roky prebiehajúceho monitoringu mierne klesá, ale hodnoty sa pohybujú neustále vysoko nad povolený maximálny reziduálny limit. Kolísanie hodnôt PCB v rybách je spôsobené tým, že ulovené a analyzované ryby sú rôzneho veku, pretože nie je možné uloviť každoročne ryby rovnakého veku. Vykonaný monitoring rýb poukázal na značný rozsah kontaminovaných rýb nie len v Zemplínskej Šírave, ale aj v iných riekach východoslovenského regiónu, čo aktivuje ďalšie úsilie o monitoring a získanie ďalších reálnych údajov o týchto starých environmentálnych záťažach. Je nevyhnutné z dôvodu ochrany zdravia ľudí rešpektovať nariadené opatrenia v danej lokalite. Už v roku 2002 boli vydané Mimoriadne veterinárne opatrenia 2002/00236 Regionálnou veterinárnou a potravinovou správou Michalovce, v ktorých bol zakázaný lov a konzumácia rýb, vrátane športového rybolovu (chyt' a pust') z lokality Zemplínskej Šíravy a bolo nariadené umiestnenie výstražných tabúľ na vstupoch do jednotlivých rekreačných stredísk. V prípade masívneho úhynu rýb spôsobeného haváriou alebo počasím, bolo nariadené uhynuté ryby označiť ako nebezpečný odpad a správcovia rekreačných centier sú povinní tento nebezpečný odpad likvidovať len v kafilerickom zariadení, ktoré je na to určené. O danej situácii boli občania informovaní miestnymi masmediálnymi prostriedkami. Následne boli v roku 2005 vydané Rozhodnutia Regionálnej veterinárnej a potravinovej správy Michalovce č. j. 2005/00073-2 a č. j. 2005/00073-3 zo dňa 09.03.2005, ktorými bol povolený športový rybolov „chyt' a pust'“, pričom bolo nariadené označenie rybárskeho revíru tabuľami s nápisom „Lovenie rýb a ich púšťanie“. V prípade masívneho úhynu rýb spôsobeného haváriou alebo počasím, bolo nariadené uhynuté ryby posúdiť ako nebezpečný odpad kategórie I. a tento likvidovať v zmysle nariadenia Európskeho parlamentu a Rady ES 1774/2002, ktorým sa ustanovujú zdravotné predpisy týkajúce sa živočíšnych vedľajších produktov neurčených pre ľudskú spotrebu v znení neskorších predpisov.

Rovnako je potrebné pokračovať cestou rybárskych zväzov v šírení osvetu a zlepšovať informovanosť verejnosti a rybárov o možných nebezpečenstvách pri konzumácii rýb obsahujúcich tieto kontaminanty.

Podakovanie patrí Štátnemu veterinárnemu a potravinovému ústavu Košice a Regionálnej veterinárnej a potravinovej správe Michalovce za odbornú spoluprácu pri realizácii Monitoringu poľovnej a voľne žijúcej zveri.

KONCENTRÁCIA VÁPNIKA, MEDI, HORČÍKA A ZINKU V OBLIČKÁCH A PEČENI SOREX ARANEUS

Jančová, A.*, Stawarz, R.***, Formicki, G.***, Baláž, I.*, Martiniaková, M.*, Drábeková, J.***

*Constantine the Philosopher University, Slovak Republic, **Pedagogical University, Krakow, Poland, ***Slovak Agricultural University, Nitra, Slovak Republic

Abstract

The accumulation of calcium, copper, magnesium and zinc in the kidneys and liver of common shrew (*Sorex araneus*) were analysed. Studied animals were adult and in good health condition. Samples were analysed by the atomic absorption spectrophotometry. The highest concentration of calcium was detected in liver of females ($496,008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and the lowest in kidneys of males ($164,257 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). There were low levels of copper discovered there. Significantly ($p < 0.01$) higher level of Cu we recorded in liver of females ($15,174 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) in comparison with kidneys of females ($3,839 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Magnesium significantly ($p < 0.01$) cumulated in kidneys of males. The high concentration of zinc was discovered in kidney (males: $131,643 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; females: $118,621 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Key words: calcium, copper, magnesium, zinc, kidney, liver, *Sorex araneus*

Úvod

Súčasný areál rozšírenia piskora lesného (*Sorex araneus* Linnaeus, 1758) zaberá takmer celé územie Slovenska, od nížin až po alpínske pásmo do výšky 2200 m (SLÁDEK & MOŠANSKÝ, 1985). Je to druh národného významu a patrí medzi naše najfrekventovanejšie hmyzožravce. Viacerí autori udávajú jeho najpravideľnejší výskyt vo vlhkejšom lesnom prostredí, najmä dubovo-hrabovom, vo vlhkých remízkach a v podmáčanom prostredí s bohatou vegetáciou. V spoločenstve drobných cicavcov Prírodnej rezervácie Žitavský luh patrí piskor lesný k dominantným druhom (NOGA et al., 2004).

Drobné cicavce zohrávajú významnú úlohu v mnohých potravinových reťazcoch. Väčšina z nich je na rovine herbivórnych konzumentov, druhy z radu Insectivora sú predátormi. S ich postavením na vyššej trofickej rovine a intenzívnym metabolizmom súvisí schopnosť akumulácie väčších množstiev ťažkých kovov v závislosti od environmentálnych podmienok (COOKE et al., 1990; MA et al., 1991; PANKAKOSKI et al., 1992, 1994; KOMARNICKI, 2000).

Pre lepšie poznanie a pochopenie vplyvu ťažkých kovov na biologické systémy je potrebné získať čo najviac informácií o ich pohyblivosti a akumulácii v konkrétnych ekosystémoch.

Cieľom práce bolo zistiť koncentrácie kovov v orgánoch *Sorex araneus* a porovnať rozdiely v závislosti od pohlavia.

Materiál a metodika

Jedince *Sorex araneus* boli získané pomocou štandardných teriologických metód (PELIKÁN et al., 1977; PUCEK & OLSZEWSKI, 1971) z prostredia Prírodnej rezervácie Žitavský luh. Prírodná rezervácia Žitavský luh o rozlohe 74,6884 ha (trvalé trávne porasty, vodná plocha, orná pôda) sa nachádza v katastroch obcí Michal nad Žitavou, Kmeťovo a Maňa v okrese Nové Zámky. Územie sa nachádza na Podunajskej pahorkatine s priemernou nadmorskou výškou 133 m n. m. a spadá do kvadrátu 7875B Databanky fauny Slovenska (DFS). Od okolitých plôch súvislej poľnohospodárskej ornej pôdy rezerváciu oddeľujú pravidelne kosené lúčne spoločenstvá.

Všetky exempláre využité v experimente boli adultné, v dobrej telesnej kondícii a neboli pozorované žiadne chorobné procesy ani patologicko-anatomické zmeny.

Koncentrácie vápnika (Ca), medi (Cu), horčíka (Mg) a zinku (Zn) v pečeni a obličkách boli stanovené pomocou metódy atómovej absorpčnej spektrofotometrie.

Koncentrácie jednotlivých prvkov boli prepočítané a vyjadrené v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvej hmoty.

Zo získaných kvantitatívnych hodnôt sme vypočítali základné variačno-štatistické ukazovatele: priemer (\bar{x}), smerodajnú odchýlku (sd), medián, minimálnu a maximálnu hodnotu. Rozdiely sme testovali Studentovým t – testom. Pri výpočtoch štatistických charakteristík bol použitý program Statgraphics

Výsledky a diskusia

Jedince *Sorex araneus* sa vyznačovali vyššou koncentráciou Ca v pečeni ako v obličkách (tab. 1). Pomer pečeň : obličky bol pri samcoch 2,49 : 1 a pri samiciach 1,45 : 1. Pri oboch orgánoch bola vyššia hladina prvku v prípade samíc. Zistené rozdiely neboli štatisticky významné.

V organizme živočíchov sa meď nachádza predovšetkým v pečeni a v obličkách (TALMAGE & WALTON, 1991). V analyzovaných orgánoch sme zistili len nízke hladiny medi. Samice *Sorex araneus* mali signifikantne ($p < 0.01$) vyššiu koncentráciu medi v pečeni (pomer pečeň : obličky 3,95 : 1). READ & MARTIN (1993) uvádzajú vyšší obsah medi v pečeni v porovnaní s obličkami pri oboch analyzovaných druhoch rodu *Sorex*. Zistené hodnoty Cu sú porovnateľné s našimi výsledkami, analogické konštatovanie platí i v prípade zinku.

Tab. 1 Obsah prvkov v orgánoch *Sorex araneus*

Orgán		Prvok							
		Ca [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		Cu [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		Mg [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		Zn [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Obličky	x	164,257	342,333	-	3,839	731,618	740,945	131,643	118,621
	sd	61,032	680,543	-	4,504	34,671	305,653	43,740	158,362
	min	73,976	0	-	0	676,174	0	66,097	0
	max	229,350	1997,860	-	10,471	769,871	923,589	186,198	484,019
	med	176,851	23,496	-	0	740,214	837,401	137,139	484,019
Pečeň	x	408,825	496,008	17,185	15,174	469,441	487,262	70,678	77,961
	sd	491,182	881,61	0,496	5,978	87,199	113,476	13,576	12,527
	min	40,373	30,594	16,445	2,265	381,393	364,570	51,305	63,825
	max	1244,241	2630,673	17,820	22,320	614,350	725,986	89,689	101,534
	med	175,343	121,648	17,237	15,315	449,011	475,555	70,858	79,074

x – priemerná hodnota; sd – smerodajná odchýlka; min – minimum; max – maximum; med – median

Cu: $p < 0.01$ pečeň samíc *S. araneus* vs obličky samíc *S. araneus*

Mg: $p < 0.01$ obličky samcov *S. araneus* vs pečeň samcov *S. araneus*

Horčík dosahoval pomerne vysoké koncentrácie vo všetkých analyzovaných orgánoch. V obličkách ($740,945 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a pečeni ($487,262 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) samíc sa akumulovalo väčšie množstvo Mg ako u samcov ($731,618 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; $469,441 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Pri samcoch i samiciach boli výrazne vyššie hladiny horčíka v obličkách ako v pečeni, pomer 1,56 : 1, resp. 1,52 : 1. Tento rozdiel bol pri samcoch štatisticky vysoko významný ($p < 0.01$). GAŠPARÍK et al. (2004) detekovali najvyššiu koncentráciu Mg v pečeni v porovnaní s obličkami a svalmi.

Zinok je esenciálny stopový prvok, nevyhnutný pre všetky druhy živých organizmov. Je súčasťou viac ako 200 metaloenzýmov, čím zasahuje do životne dôležitých funkcií. Jeho

toxicita je nízka a pre jednotlivé druhy zvierat nie je presne stanovená. Všeobecne platí, že na zvýšené množstvá zinku citlivejšie reagujú mladšie jedince. V tele stavovcov sa hromadí nielen v mäkkých tkanivách, ale i v kostiach (JOHNSON et al., 1978; SMITH & RONGSTAD, 1982). GAŠPARÍK et al. (2004) uvádzajú najvyššiu hladinu zinku vo svaloch, nasledujú obličky a pečeň. *Sorex araneus* mal vyššie koncentrácie zinku v obličkách v porovnaní s pečeňou. Vzájomný pomer bol pri samcoch 1,86 : 1 a pri samicach 1,52 : 1. Zistené rozdiely neboli signifikantné. READ & MARTIN (1993) hodnotili obsah Zn v pečeni a obličkách *Sorex araneus* a *Sorex minutus*. Pri imatúrnych jedincoch oboch druhov akumulovala pečeň väčšie množstvo zinku ako obličky. Pri adultoch boli zistené vyššie hladiny Zn v obličkách ako v pečeni. Predominanciu Zn v pečeni uvádzajú IKEMOTO et al. (2004).

Vo viacerých prípadoch boli zistené veľké rozdiely medzi minimálnym a maximálnym obsahom daného prvku v orgáne a následne i vysoké smerodajné odchýlky. Zaznamenané rozdiely pravdepodobne súvisia s vekom analyzovaných jedincov. Pri všetkých divo žijúcich druhoch čeľade *Soricidae* je presné určenie veku obtiažne. Pri ekologických štúdiách rozlišujeme len juvenilné a adultné jedince. Maximálna dĺžka života *Sorex araneus* je 16 mesiacov (SHILLITO, 1963). Tento druh má typický ročný životný cyklus a celá populácia sa pravidelne každoročne obnovuje (CROWCROFT, 1956).

Výsledky práce poukazujú na možnosti využitia drobných zemných cicavcov z radu Insectivora na bioindikáciu environmentálneho znečistenia konkrétnych ekosystémov. Hladiny Zn a Cu v analyzovaných orgánoch svedčia o stredne silnom znečistení prostredia týmito prvkami. Predpokladáme, že ich zvýšený výskyt súvisí s intenzívnou poľnohospodárskou výrobou a jej chemizáciou, ktorá je charakteristická pre celý región.

Práca je pilotnou štúdiou daného charakteru z prostredia Žitavského luhu. K vysloveniu relevantnejších záverov je potrebné monitoring rozšíriť o ďalšie rizikové prvky, analyzované orgány a druhy drobných cicavcov.

Pod'akovanie

Práca bola finančne podporená grantovým projektom VEGA 1/2364/05 a CGA VI/2/2006.

Literatúra

1. COOKE, J.A., ANDREWS, S.M., JOHNSON, M.S., 1990: Lead, zinc, cadmium and fluoride in small mammals from contaminated grassland established on fluorspar tailings. *Water, Air, and Soil Pollut.*, 51, 43 – 54.
2. CROWCROFT, P., 1956: On the life of the common shrew (*Sorex araneus* L.). *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 127, 285 – 292.
3. GAŠPARÍK, J., MASSÁNYI, P., SLAMEČKA, J., FABIŠ, M., JURČÍK, R., 2004: Concentration of selected metals in liver, kidney and muscle of the red deer (*Cervus elaphus*). *J. of Env. Sci. and Health. Part – A. Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*. Vol. A.39, 8, 2105 – 2111.
4. IKEMOTO, T., KUNITO, T., WATANABE, I., YASUNAGA, G., BABA, N., MIYAZAKI, N., PETROV, E.A., ANABE, S., 2004: Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Environmental Pollution* 127, 83 – 97.
5. JOHNSON, M.S., ROBERTS, R.D., HUTTON, M., INSKIP, M.J., 1978: Distribution of lead, zinc and cadmium in small mammals from polluted environments. *Oikos* 30, 153 – 159.
6. KOMARNICKI, G.J.K., 2000: Tissue, sex and age specific accululation of heavy metals (Zn, Cu, Pb, Cd) by populations of the mole (*Talpa europaea* L.) in a central urban area. *Chemosphere* 41, 1593 – 1602.

7. MA, W.C., DENNEMAN, W., FABER, J., 1991: Hazardous exposure of ground-living small mammals to cadmium and lead in contaminated terrestrial ecosystems. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 20: 266 – 270.
8. NOGA, M., AMBROS, M., BALÁŽ, I., JANČOVÁ, A., 2004: Poznámky k faune cicavcov (Insectivora, Chiroptera, lagomorpha, Rodentia, Carnivora, Artiodactyla) Prírodnej rezervácie Žitavský luh a blízkeho okolia. Rosalia (Nitra), 17, p. 153 – 164.
9. PANKAKOSKI, E., KOIVISTO, I., HYVÄRINEN, H., 1992: Reduced developmental stability as an indicator of heavy metal pollution in the common shrew *Sorex araneus*. Acta Zool. Fennica, 191, 135 – 142.
10. PANKAKOSKI, E., KOIVISTO, I., HYVARINEN, H., TERHIVUO, J., 1994: Shrews as indicators of heavy metal pollution. Carnegie Museum of Natural History Special Publication 18, 137 – 149.
11. PELIKÁN, J., ZEJDA, J., HOLIŠOVÁ, V., 1977: Efficiency of different traps in catching small mammals. Folia zool., 26, 1, p. 1 - 13.
12. PUCEK, Z., OLSZEWSKI, J., 1971: Results of extended removal catches of rodents. Ann. Zool. Fennici, 8: 37 - 44.
13. READ, H.J., MARTIN, M.H., 1993: The effect of heavy metals on populations of small mammals from woodlands in Avon (England): with particular emphasis on metal concentrations in *Sorex araneus* L. and *Sorex minutus* L.. Chemosphere 27, 1, 2197 – 2211.
14. SHILLITO, J. F., 1963: Field observations on the growth, reproduction and activity of a woodland population of the common shrew *Sorex araneus* L. Proc. Zool. Soc. Lond., 140, 99 – 114.
15. SLÁDEK, J., MOŠANSKÝ, A., 1985: Cicavce okolo nás. Osveta, Martin, 246 s.
16. SMITH, G.J., RONGSTAD, O.J., 1982: Small mammals heavy metal concentrations from mine and control sites. Environ. Pollut. 28, 121 – 134.
17. TALMAGE, S., WALTON, B. T., 1991: Small mammals as monitors of environmental contaminants. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 119, 47 – 145.

ÚČINOK SELÉNU NA SYNTÉZU BIELKOVÍN V KOREŇOVÝCH VRCHOLOCH HRACHU SIATEHO

EFFECT OF SELENIUM ON THE PROTEIN SYNTHESIS IN THE PEA ROOT TIPS

Jomová, K.¹, Morovič, M.², Hegedúsová, A.¹, Hegedús, O.³, Tóth, T.⁴

¹Katedra chémie FPV UKF v Nitre, ²Katedra botaniky a genetiky FPV UKF v Nitre, ³Regionálny úrad verejného zdravotníctva, Nitra, ⁴Katedra chémie FBP SPU v Nitre

Abstract

In our work we analyzed the effect of different concentrations of selenium on the germination of *Pisum sativum* L. and on the changes in the protein fraction extracted from root tips. The seeds were germinated in the inert substrate in the Petri dishes with the selenium concentration 1, 2, 4 and 6 mg.kg⁻¹ added as a sodium selenate solution. The effect on the germination has been observed gradually with the increasing selenium concentration, the most evidently at higher selenium amount. Root tips were homogenized in Tris-HCl pH 7,5 and protein concentrations was estimated in the clear supernatant obtained after centrifugation at 15 000 rpm. Supernatant samples were mixed with equal volumes of solubilization buffer Tris-HCl pH 6,8 in presence of glycerol, 2-mercaptoethanol and bromphenol blue. After heating at 100 °C samples were loaded into discontinuous sodium dodecyl sulphate PAGE system using 4% acrylamide stacking gel and 16 % acrylamide separating gel. Electrophoresis was accomplished at 30 mA and proteins were stained by Coomassie Brilliant Blue R-250. In the electrophoretic profiles there have not been observed the qualitative protein changes in comparison with non-treated control variant, but only quantitative changes detected in the gel as a more intensive bands. These changes have been observed at the higher selenium concentrations – 4 and 6 mg.kg⁻¹. Our results showed that the higher selenium concentration does not block the protein production, but it increases the synthesis of constitutive proteins, that are also synthesized in the absence of stress conditions. Both the germination decreasing and increased protein synthesis in the two last variants indicate the potential phytotoxic effect of higher selenium concentration.

Úvod

Selén je stopový prvok dôležitý pre výživu človeka. Hoci bol v minulosti považovaný za toxický, výsledky súčasného výskumu naznačujú jeho pozitívny účinok v prevencii srdcovo-cievnych a nádorových ochorení (Combs, 1997). Z toho dôvodu by mal byť zastúpený v ľudskej potrave ako zložka normálneho nutričného príjmu. Obsah selénu v potravinových produktoch závisí od jeho obsahu v pôde, na ktorej sú poľnohospodárske plodiny pestované (Hu, 2002). Ľudia žijúci v oblastiach s nízkym obsahom selénu v pôdach majú aj nízky príjem selénu (Conor, 1998). Je preto potrebné nájsť spôsob, ako doplniť výživu o tento dôležitý stopový prvok. Riešenie problému prídávaním anorganických zlúčenín selénu (selénan sodný, seleničitan sodný) do živočíšnych krmovín je menej efektívne, nakoľko anorganická forma selénu nie je tak bioprístupná ako organická forma. V súčasnosti je výskum orientovaný skôr na rastliny. Selén sa môže dostať do rastlín buď z pôdy po predchádzajúcej fertilizácii pôdy anorganickými zlúčeninami selénu alebo organickým hnojivom obohateným o selén, prípadne priamou aplikáciou anorganických zlúčenín formou sprejovania listov (Hu et al., 2002). V rastlinných bunkách je anorganický selén metabolizovaný do organicky viazanej formy, ktorý je efektívnejší a bezpečnejší než výživový doplnok anorganického selénu.

Okrem sledovania obsahu selénu prijatého rastlinou pestovanou na pôdach obohatených selénom je dôležité aj sledovanie reakcie rastlín na bunkovej úrovni. Napriek tomu, že selén je súčasťou enzýmu glutationperoxidázy, ktorý sa podieľa na rozklade lipoperoxidov vzniknutých

ako dôsledok oxidačného stresu a pôsobí synergicky s vitamínom E (Miko, 1994), je opodstatnené predpokladať, že aj vysoké koncentrácie selénu, ktoré sú pre rastlinu neprirodzené, môžu pôsobiť ako stresový faktor a vyvolať u rastlín stres. Jednou z odpovedí rastlín na stres je aj zmenená syntéza bielkovín.

Cieľom našej práce bolo sledovať v laboratórnych podmienkach vplyv rôznych koncentrácií selénu na klíčenie semien hrachu záhradného (*Pisum sativum* L.) a prípadné kvalitatívne a kvantitatívne zmeny frakcie bielkovín izolovanej z koreňových vrcholov naklíčených semien.

Materiál a metodika

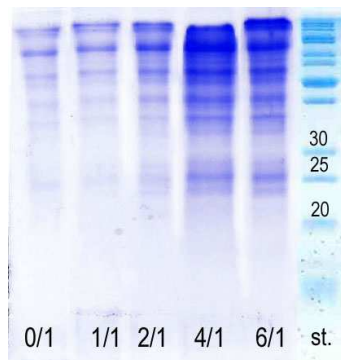
Semená hrachu záhradného (*Pisum sativum* L.) použité v pokusoch boli naklíčované v Petriho miskách v inertnom substráte (morskom piesku). V pestovateľskom substráte bolo realizovaných celkovo 5 variantov – s vodou (kontrola) a s roztokmi selénanu sodného s obsahom selénu 1, 2, 4 a 6 mg.kg⁻¹ substrátu. Po 48 hodinách klíčenia boli koreňové vrcholy zvážené a homogenizované v tekutom dusíku. Na extrakciu bielkovín bol použitý roztok 0,05 mol.dm⁻³ Tris-HCl pH 7,5. Po odstredení homogenátu pri 15 000 ot./min. bola v supernatante stanovená celková koncentrácia bielkovín (Bradford, 1976).

Na delenie bielkovín bola použitá vertikálna diskontinuálna SDS-PAGE podľa ISTA (Wrigley, 1992) s počiatočnou koncentráciou polyakrylamidu 4 % v štartovacom géli a 16 % v deliacom géli. Ku vzorke bol pred nanesením do gélu pridaný pracovný roztok (1 mol.dm⁻³ Tris-HCl pH 6,8, 2-merkaptóetanol, 10% SDS, 19% glycerol, pyronín G). Vzorka bola denaturovaná teplotou 95 °C po dobu 4 min.. Elektroforetické delenie prebiehalo na zariadení Mini Protean 3. Elektroforeogramy boli vyhodnotené denzitometricky pomocou programu Quantity One (Bio-Rad).

Výsledky

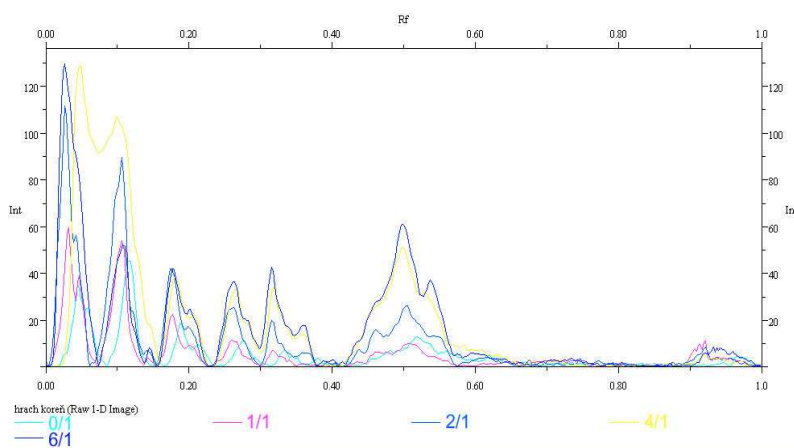
V experimentoch zameraných na sledovanie vplyvu vyšších koncentrácií selénu na klíčenie, prípadne na možné bielkovinové zmeny v koreňových vrchoch hrachu záhradného, bol použitý inertný substrát, ktorý neobsahoval žiadne zložky prijateľné rastlinami, s cieľom vylúčiť iný vplyv na vývoj rastlín. V porovnaní s kontrolným variantom, so zvyšujúcou sa koncentráciou obsahu selénu sa postupne klíčivosť znižovala, výraznejšie vo variantoch 4 a 5. V piatom variante so 6 mg selénu na kg substrátu bolo klíčenie najslabšie a rast výrazne oneskorený, čo naznačuje možný fyto toxický účinok vyšších koncentrácií selénu.

V elektroforetických profiloch neboli zistené kvalitatívne zmeny bielkovín v porovnaní s kontrolou, iba zmeny v intenzite bielkovinových pásov (Obr.1-2).



Obr. 1 Elektroforetický profil bielkovín z koreňov hrachu po aplikácii selénanu sodného (a/b: a = „0“ - kontrolný variant, 1,2,4,6 – koncentrácie selénanu sodného, b = označenie opakovania).

V spektre bielkovín sú pozorovateľné tieto zmeny od koncentrácie selénu 2 mg.kg^{-1} , hoci intenzívnejšie bielkovinové pásy boli detegované až pri koncentráciách selénu 4 a 6 mg.kg^{-1} . Zvýšená syntéza niektorých bielkovín je pravdepodobne spojená s obrannou reakciou rastliny voči stresu vyvolaného vysokými koncentraciami selénu. Výsledky pozorované v elektroforetických profiloch bielkovín sú v súlade s pozorovaniami z klíčenia. Pri najvyšších koncentráciách selénu (4 a 6 mg.kg^{-1}), kde bolo klíčenie najslabšie, boli aj najvyššie koncentrácie sledovanej frakcie bielkovín.



Obr.2 Denzitometrické vyhodnotenie elektroforeogramu.

Diskusia

V experimentoch sme potvrdili zmeny v klíčení semien hrachu záhradného a kvantitatívne bielkovinové zmeny v koreňových vrcholoch tejto plodiny vyvolané rôznymi koncentraciami selénu aplikovaného formou roztokov selénanu sodného. Vplyv vyšších koncentrácií selénu na klíčenie semien a zvýšenú syntézu bielkovín indikuje možný fytotoxický účinok aplikovaných dávok na rastlinu. Naše výsledky ďalej dokumentujú, že vplyvom zvýšených koncentrácií selénu nedochádza k zablokovaniu syntézy bielkovín, ale ku zvýšenej syntéze konštitutívnych bielkovín, ktoré sa v bunke syntetizujú aj za normálnych nestresových podmienok. Poznanie reakcie rastlín na bunkovej úrovni v prítomnosti vyšších koncentrácií selénu môže pomôcť pri optimalizovaní podmienok fertilizácie pôd a tiež výbere plodín vhodných na pestovanie na takto upravených pôdach.

Literatúra

1. BRADFORD, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. In: *Analyt. Biochem.* 72, 1976, p. 248-254
2. COMBS, J.G.F.: Selenium as a cancer-protective agent. *Bulletin of Selenium-Tellurium Development Association, Grimbergen, Belgium Feb., 1997, p.1-4*
3. CONOR, R.: Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci, Technol.*9, 1998, p. 114-118

4. HU, Q. – PAN, G. – ZHU, J.: Effect of fertilization on selenium content of tea and the nutritional function of Se-enriched tea in rats. In: *Plant and Soil* 238, 2002, p. 91-95
5. MIKO, M.: Mikromineralie vo výžive V. – Selén. In: *Výživa a zdravie*, roč. 39, č.4, 1994. s. 63-64

WRIGLER, C.W. : Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In : H.-F. Linskens, & J.F. Jackson, (eds), *Sedd Analysis*, 1992, p. 17-41, Springer Verlag, Berlin & Heidelberg, Germany

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA PLODOV NETRADIČNÝCH DRUHOV RASTLÍN

MICROBIOLOGICAL QUALITY FRUIT OF UNCONVENTIONAL PLANT VARIETY

Kačániová, M.¹, Sudzina, M.², Sudzinová, J.³, Petrová, J.¹, Tonková, M.¹

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, ²Agentúra Slovenskej akadémie pôdohospodárskych vied Nitra, ³Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Oddelenie výživy, Nitra

Abstract

In Slovak regions were studied plant-microbial interactive relations with respect to determine mycoflora of the *Castanea sativa* Mill. and *Sorbus domestica* L. fruits and their effect on the host organism. In the experiments were isolated on the *Castanea sativa* Mill. fruit 3 genera and 3 species of microscopic fungi. It was found, that isolates from the *Sorbus domestica* L. fruits were represented by 14 genera and 8 species of microscopic fungi. *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mycelia*, *Mucor* and *Trichoderma* appeared to be the most frequently occurring genera. On the base of further taxonomic determination from the genera *Aspergillus* were isolated and identified representatives of species *A. clavatus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*. It is necessary to point out that the isolated genera *Aspergillus* and *Penicillium* are considered as the most important producers of mycotoxins.

Keywords: *Castanea sativa* Mill., *Sorbus domestica* L., microscopic fungi, microbiological quality

Úvod

Gaštan jedlý (*Castanea sativa* Mill.) a jarabina oskorošová (*Sorbus domestica* L.) sa u nás pestujú veľmi dávno, avšak napriek tomu patria medzi menej známe dreviny – ovociny ? ešte som sa s takým pojmom nestretla, ktoré sa priemyselne využívajú len v obmedzenej miere. Zahraničná gastronómická a kulinárska kuchyňa veľmi vyhľadáva plody gaštana jedlého. Využíva ich na prípravu rôznych pokrmov, ako slaných tak i sladkých. Z nutričného pohľadu plody gaštana jedlého obsahujú veľmi široké spektrum vitamínov a minerálnych látok v pomerne dosť vysokom zastúpení. Nie nadarmo sa gaštanu hovorí aj chlebový strom. V období nedostatku obilnín gaštanová múčka nahradila múky jednotlivých obilnín. Gaštan jedlý má aj vysokú energetickú hodnotu, sedem až desaťkrát vyššiu ako varené zemiaky (Glása, 2004).

Na jarabinu oskorošovú - oskorošu (*Sorbus domestica* L.) zamerali prírodovedci pozornosť už v predchádzajúcich desaťročiach. Zaujala ich nielen ako postupne zriedkavejšie sa vyskytujúci druh dreviny, ale aj ako druh ovocného stromu, ktorého plody sa dajú využívať na prípravu viacerých potravinárskych produktov. Napríklad sirupov, štiav, marmelád, vín ale i destilátov vysokej kvality. Odborník z oblasti výživy zaujal plod oskoroše aj gaštana jedlého kvôli vysokému obsahu vitamínov a minerálnych látok (Pešek, 2001).

Dôležité a potrebné je minimalizovať straty od samotného pestovania cez zber až po spracovanie a skladovanie. Existujú činitele, ktoré sťažujú získavanie kvalitných plodov. K zvýšeniu kontaminácie plodín, resp. plodov dochádza vplyvom negatívneho dopadu nielen antropogénnej činnosti na stav životného prostredia. Kontamináciou rozumieme i prítomnosť mikroskopických húb, ktoré sú neoddeliteľnou súčasťou prírody, bez ohľadu na ľudskú činnosť.

Materiál a metódy

Na stanovenie počtu kolónií tvoriacich jednotky (KTJ) mikroskopických húb sme použili platňovú zried'ovaciu metódu. Homogenizovanú vzorku sme pridali do sterilnej vody obsahujúcej 0,02 % Tweenu 80. Na očkovanie Czapek-Doxovho agaru sme použili riedenia 10^{-0} až 10^{-2} v trojnásobnom opakovaní. Agarové platne sme inkubovali pri teplote 25 °C päť až sedem dní.

Kvalitatívne hodnotenie vzoriek plodov sme robili z nahromaďovacích kultúr získaných na Czapek-Doxovom agare a sladínovom agare, inkubovaných za rovnakých podmienok ako pri zisťovaní počtu KTJ. Identifikáciu rodov a druhov mikroskopických húb sme robili podľa kľúča Hooga et al. (2000).

Výsledky

Po dôkladnom zhomogenizovaní vzoriek plodov gaššana jedlého (*Castanea sativa* Mill.) sme ich rozmiešali vo fyziologickom roztoku a následne sme očkovali na Czapek – Doxov a sladínový agar. Zamerali sme sa na sledovanie troch najčastejšie vyskytujúcich sa rodov resp. druhov mikroskopických húb. A to *Mucor racemosus*, *Penicillium* sp. a *Rhizopus stolonifer*. Vzorky boli z troch oblastí : Krupiny, Radošinej a Príbeliec (tab.č1).

Vzorky č. 1, 2, 3, 10, 11 a 12 boli z oblasti Krupiny. Na týchto plodoch gaštanov sme zaznamenali nárast mycélia len niekoľkých druhov, ktoré sme označili *Penicillium* sp. *Mucor racemosus* a *Rhizopus stolonifer* sa vo vzorkách nenachádzali ani na Czapek – Doxovom a ani na sladínovom agare.

Vzorky č. 5, 6, 7, 8, 9 a 13 boli z oblasti Radošinej. U týchto vzoriek gaššana jedlého sme zaznamenali taktiež nárast *Penicillium* sp. ako na Czapek – Doxovom agare, tak i sladínovom agare u všetkých piatich vzorkách. Pri vzorke č. 8 sme zaznamenali na sladínovom agare nárast aj druhov *Mucor racemosus* a *Rhizopus stolonifer*.

Vzorka č. 4 bola z oblasti Príbeliec. U tejto vzorky nebol taktiež zaznamenaný nárast druhov *Penicillium* sp., *Mucor racemosus* a *Rhizopus stolonifer*.- zdá sa mi že toto sa nezhoduje s tabuľkou č.1

Tabuľka 1 Vyizolované mikroskopické huby vo vzorkách gaššana jedlého

Druh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Mucor racemosus</i> Fresen. 1850	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill. 1902	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Pri vyhodnotení výsledkov jarabiny oskorušovej sme použili 4 vzorky plodov pochádzajúcich z oblasti Nového mesta nad Váhom a 3 vzorky boli z Modry.

Celkovým zhodnotením výsledkov u vzoriek plodov jarabiny oskorušovej, sme zistili prítomnosť 14 rodov mikroskopických húb z toho bolo identifikovaných presne 8 zástupcov druhov mikroskopických húb. Najvyššiu frekvenciu výskytu sme zistili u zástupcov rodov *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mycelia*, *Mucor* a *Trichoderma*. Z rodu *Aspergillus* sme vyizolovali a identifikovali zástupcov druhov: *A. clavatus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus* (tab.č.2).

Diskusia

V súčasnosti sa mikroskopickým hubám venuje značná pozornosť, pretože sa zistilo, že niektoré z nich sú schopné produkovať toxické metabolity, tzv. mykotoxíny, ktoré ohrozujú zdravie konzumentov kontaminovaných potravín (Greenberger a Flais, 2001). Všetky vyšetrované vzorky Jarabiny oskorušovej a Gaštana jedlého obsahovali mikroskopické huby.

Z ekologického hľadiska treba uviesť, že mikroskopické huby rodov *Cladosporium* a *Alternaria*, ktoré sme z vyšetrovaných vzoriek izolovali najčastejšie, veľmi často saprofytujú na cukornatých produktoch. Ak majú tieto mikroskopické huby priaznivé podmienky, môžu sa na týchto substrátoch premnožiť natoľko, že tvoria na nich voľným okom viditeľné čierne sadzovité povlaky (Miller, 1992). U plodov Jarabiny oskorušovej najvyššie zastúpenie tvorilo *Cladosporium* (100 %), *Alternaria* (93 %), *Penicillium* (71 %) a *Trichoderma harzianum* (64 %).

Tabuľka 2 Vyizolované mikroskopické huby vo vzorkách jarabiny oskorušovej

Druh	1	2	3	4	5	6	7
<i>Acremonium sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm. 1834	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. 1863	-	-	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh. 1877	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh. 1867	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus terreus</i> Thom 1918	-	-	-	-	-	-	+
<i>Botrytis sp.</i>	-	-	+	+	-	-	-
<i>Cladosporium sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Fusarium sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chryzosporium sp.</i>	+	-	-	-	-	+	+
<i>Mucor sp.</i>	-	-	-	-	+	-	-
<i>Mycelia sterillia</i>	-	-	-	-	+	+	-
<i>Penicillium sp.</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Rhizopus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill. 1902	-	-	-	-	-	-	-
<i>Talaromyces sp.</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>Trichoderma sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969	-	-	+	-	+	+	-
<i>Ulocladium sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-

Ako ukázali naše výsledky, mikroskopické huby sú nezanedbateľnou prirodzenou súčasťou plodov ale aj kôry a listov. Laboratórne mykologické vyšetrenie môže prispieť k objasneniu cesty a príčiny kolonizácie plodov, kôry a listov zárodkami mikroskopických húb.

Väčšina húb žije saprofytycky na rôznych organických substrátoch, z ktorých prijímajú látky a energiu potrebnú na rast a rozmnožovanie. S výnimkou niektorých zástupcov sú prísne aeróbne, vyhovuje im široké rozpätie pH (optimálne 4,2 - 8,8), vedia sa rozmnožovať pri pomerne nízkej vodnej aktivite prostredia (Marendiak et al., 1987).

Kolonizácia rastlín mikroorganizmami začína už pri klíčení rastliny. Baktérie sú obyčajne prvými kolonizátormi, ale veľmi skoro ich nasledujú kvasinky, patogénne a saprofytické vláknité huby. Vlákňité mikroskopické huby pokračujú vo vývoji počas rastu rastliny, zvlášť pri dozrievaní semien. Žatva výrazne narúša ekosystém zrna. Zrno sa dostáva z extrémneho prostredia klasu do relatívne stáleho prostredia skladu. Tento proces sprevádza značná zmena mykoflóry (Lacey, 1989).

Najdôležitejšími faktormi, ktoré ovplyvňujú rozvoj mikroskopických húb počas dozrievania plodov sú teplota, relatívna vlhkosť prostredia, prítomnosť kyseliny a najmä vlhkosť substrátu. Treba dodať, že okrem nich pôsobia aj ďalšie faktory ako sú fyziologický stav plodov alebo vnímavosť určitých hybridov k rastu húb (Tichá, 1988; Diekman a Green, 1992 a ďalší).

Mikroskopické huby sa stávajú bioindikátormi hygienickej nezávadnosti potravín a zložiek životného prostredia. Nielen ich kvantitatívny výskyt, ale aj zastúpeniu jednotlivých druhov na plodoch drevín, kôre a listov je potrebné venovať zvýšenú pozornosť (Kačániová, 2003).

Pri hodnotení výskytu mikroskopických húb v jednotlivých substrátoch okrem ich početnosti je dôležitým ukazovateľom zdravotnej nezávadnosti aj výskyt určitých druhov.

Mikroskopické huby sú v prírode veľmi rozšírené a sú bežnými kontaminantami poľnohospodárskych produktov, potravín a krmív. Tieto produkty predstavujú vhodný substrát pre rast mikromycét, pretože sú pre ne bohatým zdrojom uhlíka a energie.

Dôležitým faktorom pri riešení problému hygienickej nezávadnosti potravín je aj otázka kontaminácie mikroskopickými hubami. Okrem priamych strát, ktoré sú zapríčinené samotným rastom mikroskopických húb (zaplesnivenie), tieto predstavujú riziko aj produkciou alergénov a produkciou toxínov, ktoré negatívne pôsobia na zdravie ľudí i zvierat.

Okrem možnej produkcie mykotoxínu sú zástupcovia rodov *Aspergillus* a *Penicillium* pôvodcami mykóz. Mykotoxíny sa pokladajú za dôležité látky znečisťujúce životné prostredie, ktoré vznikajú najmä na rôznych rastlinných materiáloch a predstavujú vážne zdravotné nebezpečenstvo.

Výskyt toxikogénnych húb v potravinových reťazcoch predstavuje potencionálne až aktuálne riziko pre zdravie ľudí, zvierat a niekedy aj rastlín. Toxikogénne huby a ich toxíny sú v prírode hodne rozšírené a dajú sa zistiť v mnohých poľnohospodárskych plodinách. Ovocné plody počas rastu, zberu a uskladňovania podliehajú rôznym fyzikálnym, chemickým a biochemickým zmenám. Najčastejšie a pokiaľ ide o následky najvýznamnejšie je biologické znehodnotenie, pričom biologickými faktormi sú najmä mikroskopické huby, baktérie a živočíšny škodcovia.

Vysoký výskyt mikroskopických húb v jednotlivých komponentoch sa môže negatívne prejaviť na hygienickej a výživnej hodnote.

Literatúra

1. DIEKMAN, M. A. – GREEN, M. L. 1992. Mykotoxins and reproduction in domestic livestock. *J. Anim., Sci.*, 1992. pp. 1615-1627.
2. GREENBERGER, P. A.- FLAIS, M.J. 2001. Bee pollen-induced anaphylactic reaction in an unknowingly sensitized subject. In: *Ann Allergy Asthma Immunol*, 86, , 2, s. 239-42.

3. GLASA, M. 2004. Gaštan jedlý významný ovocný druh. In: Záhradkár, 2004, č.3, s.13.
 4. HOOG, G.S.-GUARRO, J.-GENÉ, J. et al. 2000. Atlas of clinical fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 2000, 1126 s. ISBN 90-70351-43-9.
 5. KAČÁNIOVÁ, M. 2003. Feeding soybean colonization by microscopic fungi. In: Trakya Univ J Sci, roč. 4, 2003, č. 2, s. 165-168.
 6. LACEY, J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. In: J. of Applied Bacteriology Symposium Supplement, 1989, pp.11S-25S.
 7. MARENDIAK, D. – KOPČANOVÁ, Ľ. – LEITGEB, S. 1987. Poľnohospodárska mikrobiológia. Bratislava: Príroda, 1987. 444 s.
 8. MILLER, J. D.1992. Fungi as contaminants in indoor air.In: Atmosph. Environ., č.2, 1992, s.2163-2172.
 9. PEŠEK, R.2001. Jeřáb oskeruše-Oskeruše domácí. In: BIO-měsíčník pro trvale udržitelný život. 2001, č. 8, s.13-15.
- TICHÁ, J. 1988. Mikroorganizmy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim. Praha: STNL, 1988. 151 s.

MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETRENIE KRMNYCH ZMESÍ BROJLÉROVÝCH KURČIAT

MICROBIOLOGICAL SURVEY OF CHICKEN FEEDSTUFF

Kačániová, M., Angelovičová, M., Petrová, J., Tonková, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

The aim of this experiment were determinate the present mycoflora of poultry feeds samples. The total fungal counts of poultry feeds ranged from $3,6 \cdot 10^2$ to $9,2 \cdot 10^4$ CFU.g⁻¹. In total, 7763 isolates were found and set to eleven genera. The most dominant species belonged to the genera *Aspergillus* that was present in 81,3 % of the samples, *Penicillium* in 62,5 % of the samples, *Mucor* that was present in 56,3 % of the samples and *Rhizopus* that was present 50 % of the samples. *Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Mucor sp.* and *Mucor circineloides* were most frequently present in the samples, as well.

Keywords: chickens, microscopic fungi, genera, species, feeds

Úvod

Hydinové mäso svojou výživnou, nutričnou, biologickou hodnotou a vysokými dietetickými vlastnosťami má svoje vysoké zastúpenie na svetovom trhu a vo svete stúpa najmä požiadavka na produkciu bieleho mäsa (Haščík a Kyselica, 2003). Dokonalé rozvinutie úžitkových vlastností zvierat podmieňuje plnohodnotná výživa a správne kŕmenie hospodárskych zvierat (Haščík a Krivánek, 2002). Základnými krmivami, ktoré tvoria 70 až 80 % zloženia kompletných krmných zmesí pre hydinu, sú hlavne kukurica a pšenica (Haščík a Krivánek, 2001). Krmivá zvierat predstavujú produkty rastlinného pôvodu. Kolonizácia rastlín mikroorganizmami začína s vyklíčením rastliny. Baktérie sú zvyčajne prvými kolonizátormi, ale veľmi skoro ich nasledujú kvasinky, patogénne a saprofytické vláknité mikroskopické huby. Vlákňité mikroskopické huby pokračujú vo vývoji počas rastu rastliny, obzvlášť pri dozrievaní semien. Žatva veľmi narúša ekosystém, ovplyvňuje prechod z extrémnych podmienok do relatívne stabilných podmienok počas skladovania. Tento proces je sprevádzaný značnou zmenou v zložení mikroflóry (Lacey, 1989). Podstatnú a nezastupiteľnú zložku krmív zvierat predstavujú obilniny. Údaje o stratách obilnín počas skladovania sú veľmi rozdielne (pohybujú sa od 1 až do 50 %). Odhad približných celosvetových strát skladovaných obilnín sa pohybuje okolo 10 % (Lacey a Magan, 1991).

Materiál a metódy

V roku 2004 - 2006 sme sledovali množstvo a rodové resp. druhové zastúpenie mikroskopických húb v krmných zmesiach brojlerových kurčiat HYD 01, 02 a 03. Vzorky sme odobrali v siedmych odberoch. Cieľom pokusu bolo sledovať zmeny v mykoflóre krmných zmesí brojlerových kurčiat. Celkom bolo vyšetrených 50 vzoriek krmných zmesí pre brojlérové kurčatá.

Na stanovenie počtu kolónií tvoriacich jednotky (KTJ) v 1 grame substrátu sme použili platňovú zriedňovaciu metódu. Pri identifikácii sme sledovali nasledujúce znaky: kultivačné znaky: rýchlosť rastu kolónie, tvar kolónie, povrch kolónie, farba kolónie, tvorba a vylučovanie pigmentu do prostredia, tvorba exudátov na povrchu kolónie; morfológické znaky (pozorované v preparátoch s laktofenolom): prítomnosť nepohlavných spór, ich tvar, veľkosť, spôsob tvorenia a usporiadania, typ vegetatívnej fruktifikačnej štruktúry, jej tvar a usporiadanie,

prítomnosť osobitných útvarov (rizoidov, stolónov, chlamydospór, sklerócií a pod.), prítomnosť pohlavných fruktifikačných štruktúr a spór, ich tvar, veľkosť, usporiadanie.

Identifikáciu jednotlivých rodov, resp. druhov mikroskopických húb sme robili podľa kľúčov nasledovných autorov: Klich (2002), Samson et al. (2002), Hoog et al., (2000).

Výsledky

Celkový počet zárodkov mikroskopických húb sa pohybovalo v rozmedzí od $3,6 \cdot 10^2$ do $9,2 \cdot 10^4$ KTJ.g⁻¹ kŕmnej zmesi. K prekročeniu štátnej normy č.1497/1997-100, ktorá udáva najväčšie prípustné množstvo $30 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹ došlo pri 6 vzorkách (12 %). Spolu sme vyizolovali 7763 izolátov mikromycét patriacich do 11 rodov (obr. č.1).

Tabuľka 1 Mykotická kontaminácia kŕmnych zmesí brojlérových kurčiat

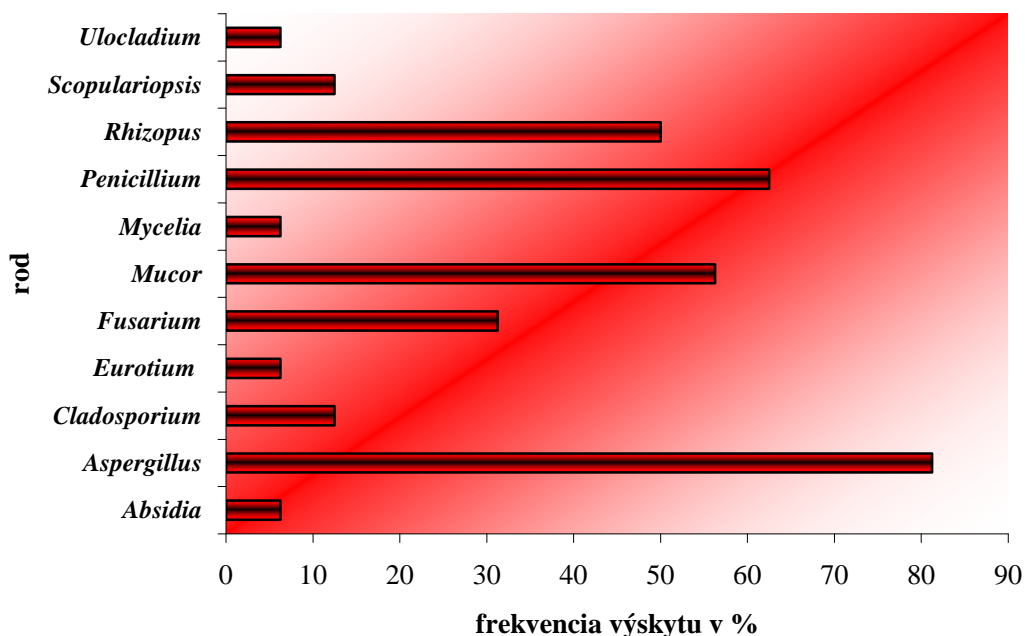
Odber	Kŕmna zmes	Vyizolované druhy mikroskopických húb
1	HYD-01	<i>Penicillium sp.</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
	HYD-02	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Mycelia sterilia</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
2	HYD-01	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i> ,
	HYD-02	<i>Absidia sp.</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
3	HYD-01	<i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>
	HYD-02	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Mucor circineloides</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Ulocladium sp.</i>
	HYD-03	<i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i>
4	HYD-01	<i>Penicillium sp.</i> , <i>Eurotium sp.</i>
	HYD-02	<i>Aspergillus candidum</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Mucor circineloides</i>
	HYD-03	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus sydowii</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
5	HYD-02	<i>Fusarium sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Mucor circineloides</i>
6	HYD-01	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Mucor circineloides</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
	HYD-02	<i>Absidia sp.</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium sp.</i>
	HYD-03	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>Eurotium sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>
7	HYD-01	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i> ,
	HYD-02	<i>Absidia sp.</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Rhizopus sp.</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Mucor circineloides</i> , <i>Mucor racemosus</i>

Zhodnotením rodového zastúpenia mikroskopických húb (obr. 1) v kŕmnych zmesiach výkrmových kurčiat sme zistili, že najfrekvencovanejšími rodmi boli rody *Aspergillus* (percento výskytu 81,3), *Penicillium* (percento výskytu 62,5), *Mucor* (percento výskytu 56,3) a rod *Rhizopus* (percento výskytu 50). Za týmyto zástupcami ďalej nasledovali rody: *Fusarium*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis*, *Absidia*, *Eurotium*, *Mycelia*, *Ulocladium*.

Druhovým zatriedením mikroskopických húb (tab. č1) vyskytujúcich sa v kŕmnych zmesiach výkrmových kurčiat sme zistili zástupcov 19 druhov. Najčastejšie sa vyskytujúcimi druhovými zástupcami vo vzorkách kŕmnych zmesí výkrmových kurčiat boli *Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus sp.*, *Mucor circineloides* a *Mucor racemosus*. Najviac zástupcov v kŕmnych

zmesiach výkrmových kurčiat bolo z rodu *Aspergillus*: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. clavatus*, *A. candidus* a *A. sp.*

Obrázok 1 Frekvencia výskytu rodov mikroskopických húb v % vo vzorkách kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat



Tabuľka 2 Frekvencia výskytu vyizolovaných druhov mikroskopických húb v kŕmnych zmesiach brojlerových kurčiat

Vyizolované mikroskopické huby	Kontaminované vzorky	
	Absolútny počet	Relatívny počet (%)
<i>Absidia sp.</i>	6	10,57
<i>Aspergillus candidus</i>	5	8,79
<i>Aspergillus clavatus.</i>	6	10,71
<i>Aspergillus flavus</i>	3	5,36
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8	14,29
<i>Aspergillus sp.</i>	29	51,79
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	3,57
<i>Cladosporium sp.</i>	6	10,71
<i>Eurotium sp.</i>	10	17,86
<i>Fusarium sp.</i>	2	3,57
<i>Mucor circineloides</i>	42	75,00
<i>Mucor racemosus</i>	41	74,14
<i>Mucor sp.</i>	35	62,50
<i>Mycelia sterilia</i>	9	16,07
<i>Penicillium sp.</i>	53	89,79
<i>Rhizopus stolonifer</i>	7	12,50
<i>Rhizopus sp.</i>	1	7,79
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	3	5,36
<i>Ulocladium sp.</i>	5	8,93

Diskusia

Všeobecne sa vie, že kompletne krmne zmesi sú prevažne zostavované podľa základných ekonomických pravidiel, tj. Mali by mať vysokú výživnú hodnotu z ľahko dostupných a lacných komponentov (Haščík, 2000). V krmných zmesiach pre hydinu v SR je neprípustný výskyt druhu *Aspergillus fumigatus*, tento druh sme vyizolovali z 8 vzoriek (t.j. 14,3 %) krmných zmesí. Magnoli et al. (1998) vyizolovali tento druh z 9,5 % analyzovaných vzoriek. Kačániová et al. (2005) uvádza v krmných zmesiach pre kurčatá 48 % frekvenciu výskytu tohto druhu a v zmesiach pre nosnice 32 % pozitívnych vzoriek. Infekcie spôsobené druhom *Aspergillus fumigatus* sú známe pri mnohých druhoch vtákov. *Aspergillus fumigatus* spôsobuje predovšetkým infekcie dýchacej sústavy vtákov (Kačániová a Bobček., 2002). Pri hydine môže taktiež vyvolávať dermatomykózy, encefalitídy a pri kurčatách bol popísaný vznik čiastočnej paralýzy Veen et al., 1999).

Veľké riziko rozmnožovania mikroskopických húb hrozí pri ich skladovaní v uzatvorených priestoroch (napr. v kovových zásobníkoch), kde dochádza k striedaniu teplôt, ku kondenzácii pár a tým aj k lokálnemu zvýšeniu vlhkosti. Tým sa vytvoria podmienky vhodné pre rozmnožovanie mikroskopických húb, ktoré sa ďalej šíria do ešte nekontaminovaných častí. Krmivá kontaminované mikroskopickými hubami nemusia byť viditeľne zmenené. Potraviny a krmivá sú zvyčajne kontaminované viacerými mykotoxínmi, pretože určitý kmeň mikroskopickej huby môže produkovať viac druhov. Rezíduá mykotoxínov sa môžu nachádzať aj v potravinách živočíšneho pôvodu (mäso, mlieko, vajcia a syry) ako dôsledok kontaminácie krmív.

Literatúra

1. HAŠČÍK, P. 2000. Porovnaní výživné hodnoty krmných smesí pro prasata v Čechách a na Slovensku. In: Farmář, roč. 6, 2000, č. 11, s. 77-78.
2. HAŠČÍK, P.-KRIVÁNEK, L. 2001. Škrob ako zdroj energie pre hydinu. In: Krmivářství, roč. V., 2001, č. 4, s. 39.
3. HAŠČÍK, P.-KRIVÁNEK, L. 2002. Trend amynokyselinového zloženia KKZ vo výžive výkrmových ošípaných. In: Náš chov, roč. LXII., 2002, č. 10, s. 47-50.
4. HAŠČÍK, P.-Kyselica, J. 2003. Vplyv probiotického preparátu na pH v prsnej svalovine kurčiat. In: Maso, roč. XIV, 2003, č. 4, s. 26-28.
5. HOOG, G.S. - GUARRO, J. - GENÉ, J. - FIGUERAS, M.J. 2000. Atlas of clinical fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. ISBN 90-70351-43-9, 2000, 1126p.
6. KAČÁNIOVÁ, M. – BOBČEK, R.2002. Mykologické vyšetrenie krmných zmesí pre hydinu. In:Chov hydiny a malých hospodárskych zvierat v 3. tisícročí, Nitra : SPU, 2002, s. 41-43. ISBN 80-8069-074-X
7. KAČÁNIOVÁ, M.-TONKOVÁ, M.-ANGELOVIČOVÁ, M.- ANGELOVIČ, M.2005. Výskyt mikroskopických húb v krmných zmesiach brojlérových kurčiat. In: 1. medzinárodné vedecké hydinárske dni (Zborník abstraktov), SPU : Nitra, 2005, s. 28, ISBN 80-8069-575-X
8. KLICH, M.A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Ponsen &Looijen, Wageningen. ISBN 90-70351-46-3, 2002, 116p.
9. LACEY, J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. In: J. of Applied Bacteriology Symposium Supplement, 1989, pp.11S-25S.
10. LACEY, J. 1991. Natural occurrence of mycotoxins in growing and conserved crops. In: Smith, J.E. – Henderson, R.S. (editors): Mycotoxins and animal foods. Boca Raton, CRC Press, 1991, pp. 363-390.

11. LACEY, J. - MAGAN, N. 1991. Grain fungi. In: Arora, D.K. – Mukerji, K.G. – Elmer, H.M.: Handbook of Applied Mycology Volume 3: Foods and Feeds. MARCEL DEKKER, INC, New York, Chapter 5, 1991, pp. 121-177.
 12. MAGNOLI, C. – DALCERO, A.M. – CHIACCHIERA, S.M. et al. 1998. Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. In: Mycopathologia, 142, 1998, pp. 27-32.
 13. SAMSON, R.A. - VAN REENEN-HOEKSTRA, E.S. - FRISVAD, J.C. - FILTENBORG, O. 2002. Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 2002, 389 p., ISBN 90-70351-42-0.
- VEEN, L. – DWARS, R.M. – FABRI, T.H.F. 1999. Mycotoxic spondylitis in broilers caused by *Aspergillus fumigatus* resulting in partial anterior and posterior paralysis. In: Avian Pathology, 28, 1999, pp. 487-490.

FYZIKÁLNO-CHEMICKÁ A MIKROBIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA MEDU

PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HONEY

Kačániová, M.¹, Sudzina, M.², Pavličová, S.³, Sudzinová, J.⁴, Kňazovická, V.¹, Nováková, I.¹, Haščík, P.⁵, Čuboň, J.⁵

¹Katedra mikrobiológie, FBP Nitra, ²Agentúra Slovenskej akadémie pôdohospodárskych vied, Nitra, ³ Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU Nitra, ⁴Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Nitra ⁵Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, FBP, SPU Nitra

Abstract

On physiochemicals and microbiological analyses of honey samples we used in the year 2006 20 samples. We determined of physical and chemical parameters such as content of water, activity, pH, content of reducing sugars. All the honey samples corresponded with requests to quantity of content of water activity, pH and reducing sugars. In honey of bees we detected coliforms bacteria, total count of bacteria and microscopic fungi. In honey we detected coliforms bacteria, total count of microorganisms and microscopic fungi with the most frequent species, which was *Penicillium sp.*

Keywords: honey, microorganisms, fructose, glucose, water activity, pH

Úvod

Med je definovaný podľa PK a Smernice Rady 2001/110/ES ako prírodná sladká látka produkovaná včelami (*Apis mellifera*) z nektáru rastlín, zo sekrétov živých častí rastlín, alebo z výlučkov hmyzu cicajúceho živé časti rastlín, ktorý včely zbierajú, pretvárajú a obohacujú vlastnými špecifickými látkami, ukladajú, zahusťujú, uskladňujú a ponechávajú v plástoch, aby dozrel a vyzrel.

Chemické zloženie medu závisí od rozličných faktorov a môže značne kolísať. Sušinu tvoria prevažne látky organického pôvodu rozpustené vo vode na pravé alebo nepravé koloidné roztoky. Sušinu tvoria tieto zložky: cukry–fruktóza, glukóza 65-75 %; voda-18-20 %, organické kyseliny-0,5 %, flavonoidové zlúčeniny- rutín, kverceín sa nachádzajú často len vo vytočených medoch, dextríny- ich obsah v medovicových medoch je 5-25 %, v nektárových medoch 1-10 %, minerálne látky- viac sa vyskytujú v medovicových medoch 0,1-0,2%. Veľmi nízky obsah minerálnych látok má agátový med., vitamíny- hlavne sa jedná o vitamín A, B₂, C, PP, amylolytické enzýmy, hydrolytické enzýmy- fosfatáza, invertáza, maltáza. Najdôležitejšie fyzikálne vlastnosti medu, ktoré sa stanovujú sú: obsah vody- podľa PK SR je max. množstvo vody v mede všeobecne 20 %, obsah hydroxymetylfurfuralu – podľa PK SR je jeho množstvo max. 40 mg/kg, elektrická vodivosť- závisí na obsahu minerálnych látok v mede (Chudý, et al., 2000). Podľa PK SR je el. vodivosť max. 0,8 mS/cm. V medovicovom mede to je min. 0,8mS/cm, obsah cukrov – fruktózy, glukózy a sacharózy, hustota- je úmerná obsahu vody v mede .Hustotu medu môžeme zistiť vážením známeho objemu medu. Index lomu- koeficient refrakcie závisí na obsahu vody v mede. Čím je obsah vody vyšší, hodnota indexu lomu je nižšia. Med je prostredím, kde je vysoká koncentrácia sacharidov (okolo 80 %) a nízke pH (priemerne 3,5-4,0), ďalej je hygroskopická látka a med obsahuje antimikrobiálne látky- inhibíny.

Vysoká koncentrácia cukrov, nízke pH a prítomnosť inhibínov bráni rastu mikroorganizmov, zatiaľ čo hygroskopická vlastnosť medu umožňuje prijímať vodu a tým vytvárať vhodné prostredie pre rast mikróbov. Med má výrazne vlastnosti, ktoré bránia alebo

zabývajú najviac mikroorganizmov. Preto mikroorganizmy, o ktoré sa zaujímame pri spracovaní, sú schopné odolať týmto vlastnostiam (Adams a Moss, 2000).

Materiál a metódy

Na fyzikálno-chemické a mikrobiologické analýzy vzoriek medov sme použili v roku 2006 20 vzoriek zmiešaných medov z krajiny pôvodu Slovensko.

Stanovenie pH: pH hodnota bola stanovená v roztoku obsahujúcom 10 g medu v 75 ml destilovanej vody bez CO₂. Všetky vzorky boli analyzované v troch paralelných opakovaníach pH metrom.

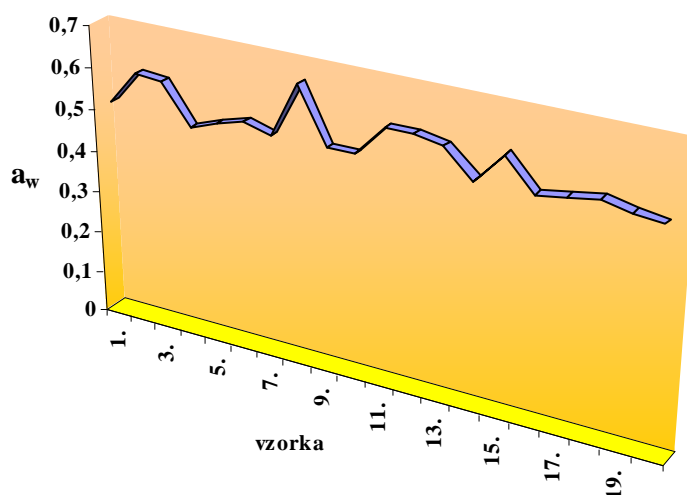
Vodná aktivita: Vodná aktivita bola stanovená prístrojom na vodnú aktivitu v troch paralelných opakovaníach.

Stanovenie obsahu glukózy a fruktózy: Všetky uvedené parametre sme stanovili podľa metodiky Európskej medovej komisie (Bogdanov et al., 1997)

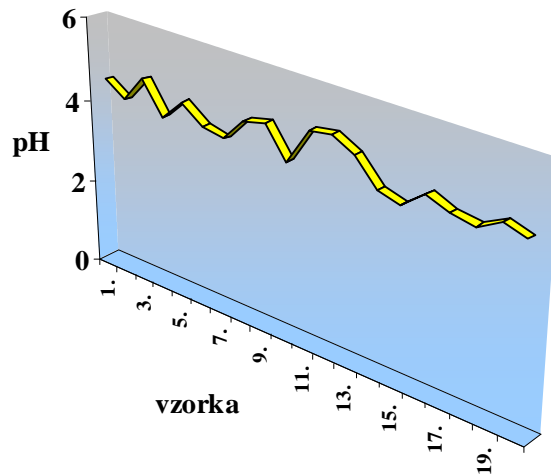
Použité metódy: Platňová zried'ovacia metóda - Zistenie počtu kolónií tvoriacich jednotky: Na kvantitatívne stanovenie počtu kolónií tvoriacich jednotky (KTJ) jednotlivých skupín mikroorganizmov v 1 alebo 0,1 g substrátu sme použili platňovú zried'ovaciu metódu. Kvalitatívne stanovenie mikromycét sa robilo z nahromaďovacích kultúr získaných na Czapek-Doxovom agare a Sladinovom agare. Po izolácii čistých kultúr sa mikromycéty identifikovali podľa: Samsona et al. (2002). **Použité živné pôdy** Zloženie živných pôd zodpovedá návodu výrobcu Biomark.

Výsledky

Obrázok 1 **Vodná aktivita vo vzorkách medu**



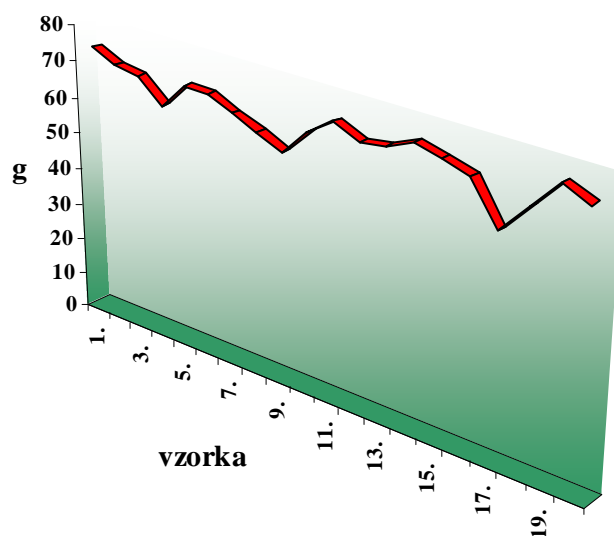
Obrázok 2 pH vo vzorkách medu



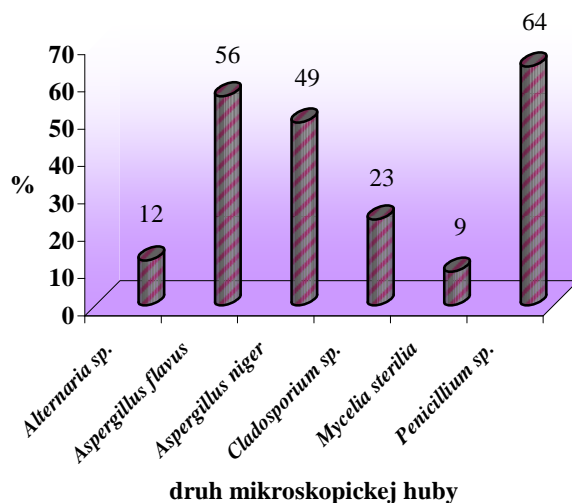
Fyzikálno-chemickým vyšetrením 20 vzoriek zmiešaného medu sme zistili, že hodnoty vodnej aktivity v mede sa pohybovali v rozmedzí od 0,5 do 0,659. Hodnoty pH vo vzorkách medu boli v rozmedzí od 4,15 do 5,12 a obsah redukujúcich sacharidov bol v rozmedzí od 60 do 76 g.100g⁻¹. Potravinový kódex Slovenskej republiky uvádza najmenej 60 g.100g⁻¹. Ostatné údaje ako je pH a vodná aktivita sa v kódexe neuvádzajú.

Z mikrobiologických ukazovateľov sme vo vzorkách medu sledovali celkový počet mikroorganizmov, počet koliformných mikroorganizmov (ako uvádza PK SR) a kvantitatívne a kvalitatívne zastúpenie mikroskopických húb a kvasiniek. Celkové počty mikroorganizmov vo vzorkách medu sa pohybovali v rozmedzí od 0,00 do 3,2 log KTJ.g⁻¹. Počty koliformných baktérií sa pohybovali v rozmedzí od 0,00 do 3,57. Celkovým zhodnotením výsledkov sme zistili, že dve vzorky nevyhovovali požiadavkám PK SR v počte koliformných baktérií.

Obrázok 3 Obsah redukujúcich sacharidov vo vzorkách medu



Obrázok 4 Percentuálne zastúpenie jednotlivých druhov mikroskopických húb vyizolovaných zo vzoriek medov



Počty mikroskopických húb vo vzorkách medu sa pohybovali v rozmedzí od 0,00 do 2,5 log KTJ.g⁻¹. Z mikroskopických húb sme vo vzorkách medu vyizolovali 6 druhov mikroskopických húb, z ktorých najvyššie percentuálne zastúpenie vo vzorkách medov mal druh *Penicillium sp.* (64 %).

Celkovým zhodnotením výsledkov sme zistili, že najvyššie hodnoty vodnej aktivity a pH, sa vyskytovali vo vzorkách, kde bola prítomnosť mikroorganizmov, či už koliformných baktérií tak i mikroskopických húb.

Diskusia

Med je potravinu dlhodobo skladovateľná v prirodzenom stave. S pribúdajúcim vekom zvyčajne tmavne a mení chuť, ale vyzretý med sa nekazí a udržuje si antibakteriálne vlastnosti desiatky rokov. Jeho použiteľnosť ako potraviny je ťažko definovať. Z praktického hľadiska sa stanovuje na 2 až 3 roky, ale môže byť oveľa dlhšia a súvisí predovšetkým s teplotnými pomermi skladovania.

Medzi mikroorganizmy nachádzajúce sa v mede patria hlavne baktérie alebo kvasinky pochádzajúce od včiel, suroviny (nektáru), alebo z externých zdrojov. Baktérie a kvasinky môžu mať rôzny pôvod. Larvy môžu byť sterilné na začiatku, ale sú zásobované nektárom a peľom včelami - robotnicami a preto sa očkujú nektárom, peľom a šľavou z kvetu pred kvitnutím (Kačániová, 2005).

Pojem kvalita – akosť je relatívny a znamená dobré vlastnosti, v našom prípade medu. Príslušné vlastnosti medu by sme mali zmerať okrem subjektívneho posúdenia aj podľa určitej technickej normy (Slovenská technická norma, Potravinový kódex SR, Codex Alimentarius). S tým je spojená reakcia na spotrebiteľov a teda aj bezpečnosť medu.

Primárne zdroje mikroorganizmov v mede sú širšie braného úľového prostredia (vrátane prachu, vzduchu, pôdy a nektáru), peľu a tráviaceho traktu včiel. Sekundárne zdroje znečistenia mikroorganizmami sa týkajú spracovania a skladovania medu. Dôležitá je čistota prostredia a vytáčanie len zrelého medu. Všetky postupy je potrebné dopredu si naplánovať, zistiť prípadné riziká s ohľadom na kvalitu medu a prijať riešenia na odstránenie, prípadne minimalizáciu rizík.

Literatúra

1. ADAMS, M.R. – MOSS, M.O. 2002. Food microbiology, Second edition, The Royal society of chemistry : Cambridge, 2002, 479 s. ISBN 0-85404-611-9

2. CHUDÝ, J. – ČANIGOVÁ, M. – HORVÁTOVÁ, V. et al. 2000. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu. 3 vyd., Nitra: VES SPU, 2000, 214 s., ISBN 80 – 7137 – 692 – 2.
3. KAČÁNIOVÁ, M.-TONKOVÁ, M.-PETROVÁ, J.- PAVLIČOVÁ, S.2005. Mikrobiologická kvality medu a včelieho peľu. In: 1. medzinárodné vedecké hydinarske dni, Nitra, 2005, s. 59-62, ISBN 80-8069-576-8.
4. KAČÁNIOVÁ, M. 2005. Med: vhodné či nevhodné prostredie mikroorganizmov? In: Rizikové factory potravného reťazca, Zborník na CD, 2005, s.131-135, ISBN 80-8069-594-6.
5. KAČÁNIOVÁ, M. – KLEMBASOVÁ, I. 2005. Physico-chemical properties of honey from different Slovak regions. In Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín (Zborník na CD), 2005, s. 214-218 , ISBN 80-8069-614-4.

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA VAJEC VO VZŤAHU K PODMIENKAM CHOVU NOSNÍC

MICROBIOLOGICAL EGGS QUALITY IN RELATION TO LAYER RAISING CONDITIONS

Kačániová, M., Čuboň, J., Haščík, P., Pavličová, S., Angelovičová, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

This study was intended to determine microbiological quality of eggs from ecological and conventional layer raising. In experiment count of coliforms bacteria, count of *Escherichia coli*, count of *Enterococcus*, *Lactobacillus*, total count of microorganisms, count of mesophilic anaerobic sporulating microorganisms and count of microscopic fungi was observed. We found that lower count of coliforms bacteria, count of *Escherichia coli*, *Lactobacillus* and count of mesophilic anaerobic sporulating microorganisms were at the top of egg-shell from ecological layer raising. But count of *Enterococcus* and microscopic fungi were lower in conventional one. Total count of microorganisms was same by ecological and conventional layer raising too. Globally higher count of microorganisms was in conventional layer raising as ecological one.

Key words: eggs, ecological, conventional, layer raising, microbiological quality

Úvod

Vajce je výborným živným prostredím pre rôzne mikroorganizmy, najmä pre hnilobné baktérie. Väčšina analýz uvádza, že čerstvé vajcia od zdravých sliepok neobsahujú mikroorganizmy v bielku a žĺtku, no reálnejšie je tvrdenie o 95 % sterilite obsahu čerstvých vajec. Možnosti kontaminácie vajec mikroorganizmami: hematogénna kontaminácia - už vo vaječníku nosníc sa môžu do žĺtka dostať krvnou cestou najmä zástupcovia rodu *Salmonella*; kongenitálna kontaminácia – v čase prechodu vajca cez vajcovod, ktorý je za normálnych podmienok sterilný s výnimkou časti pri kloake (Tančinová et al,2005).

Materiál a metodika

Na mikrobiologické vyšetrenie vzoriek vajec z ekologického a konvenčného chovu nosníc sme použili 10 vzoriek vaječnej škrupiny a zhomogenizovaný obsah vajec z bielka a žĺtka.

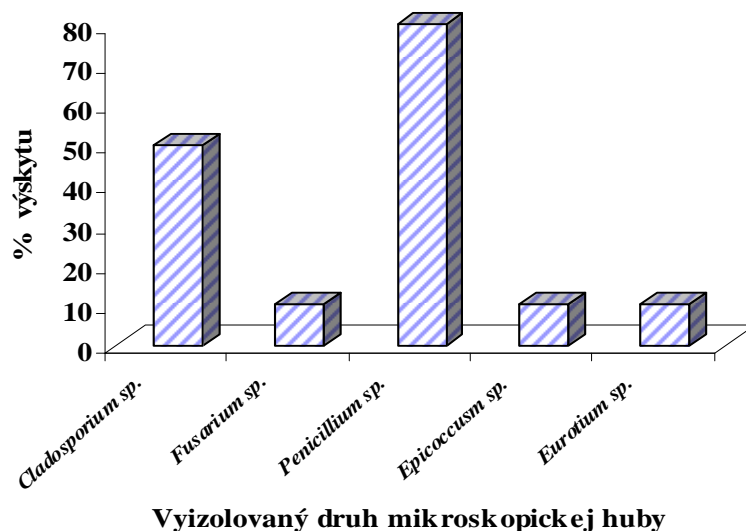
Sledované ukazovatele:

a) počet koliformných baktérií na VČŽL a Endovom agare po inkubácii 24-48 hodín pri teplote 37 °C; b) počet buniek *Escherichia coli* na VČŽL a Endovom agare po inkubácii 24-48 hodín pri teplote 37 °C; c) počet buniek enterokokov na Slanetz-Bartlyho agare po inkubácii 48-72 hodín pri teplote 37 °C; d) počet buniek laktobacilov na MRS a Rogosovom agare po inkubácii 48-72 hodín; e) celkový počet mikroorganizmov na GTK po inkubácii 48-72 hodín pri teplote 37 °C; f) počet mezofilných aeróbne sporulujúcich mikroorganizmov na MPA po inkubácii 72 hodín pri teplote 37 °C; g) počet mikroskopických húb na Czapek – Doxovom a Sladinovom agare po inkubácii 5-7 dní pri teplote 25 °C. Izolované druhy mikroorganizmov a ich základné identifikačné znaky sme posúdili podľa Stayleho et al., 2001. Kvalitatívne stanovenie mikromycét sme robili z nahromaďovacích kultúr získaných na Czapek-Doxovom agare a Sladinovom agare. Po izolácii čistých kultúr sme mikromycéty identifikovali podľa: Samson et al. (2002).

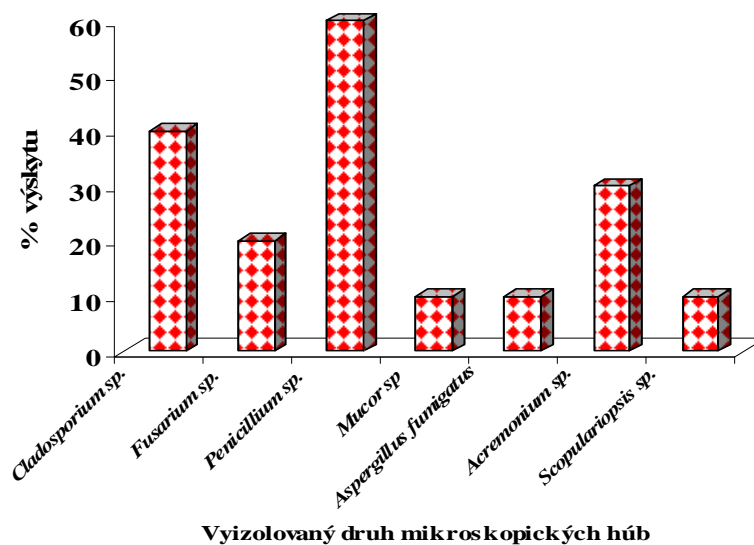
Výsledky

Mikrobiologickým vyšetrením škrupiny vajec sme zistili nulové počty koliformných baktérií, počet buniek *Escherichia coli* a laktobacilov. Počet enterokokov na povrchu vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 2,84 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet enterokokov vo vzorkách vaječnej škrupiny z ekologického chovu bol 1,66 log KTJ.g⁻¹. Celkový počet mikroorganizmov v jednotlivých vzorkách vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 1,54 do 2,66 log KTJ.g⁻¹. Priemerný celkový počet vo vzorkách vaječnej škrupiny z ekologického chovu bol 2,22 log KTJ.g⁻¹. Počet mezofilne aeróbnych mikroorganizmov sa na vzorkách škrupín pohyboval v rozmedzí od 1,54 do 2,92 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mezofilne sporulujúcich aeróbnych mikroorganizmov na vzorkách škrupín bol 2,12 log KTJ.g⁻¹. Počet mikroskopických húb v jednotlivých vzorkách vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 2,30 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mikroskopických húb vo vzorkách vaječných škrupín z ekologického chovu bol 1,01 log KTJ.g⁻¹.

Obrázok 1 Vyizolované druhy mikroskopických húb v % zo vzoriek vaječných škrupín



Obrázok 2 Vyizolované druhy mikroskopických húb v % zo vzoriek vaječných škrupín



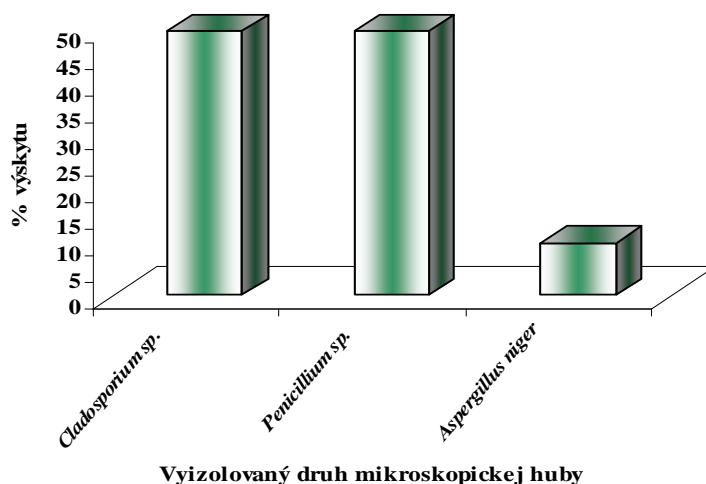
Mikrobiologickým vyšetrením vajec sme zistili nulové počty koliformných baktérií, počet buniek *Escherichia coli*, enterokokov, laktobacilov a mikroskopických húb. Celkový počet mikroorganizmov v jednotlivých vzorkách vajec sa pohyboval v rozmedzí od 1,30 do 2,55 log KTJ.g⁻¹. Priemerný celkový počet vo vzorkách vajec z ekologického chovu bol 2,00 log KTJ.g⁻¹. Počet mezofilne aeróbných sporulujúcich mikroorganizmov sa vo vzorkách vajec pohyboval v rozmedzí od 1,11 do 2,67 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mezofilne sporulujúcich aeróbných mikroorganizmov vo vzorkách vajec bol 1,92 log KTJ.g⁻¹.

Mikrobiologickým vyšetrením škrupiny vajec sme zistili, že počet koliformných baktérií sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 1,94 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet koliformných baktérií na škrupine vajca v konvenčnom chove nosníc bol 0,35 log KTJ.g⁻¹. Počet buniek *Escherichia coli* sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 0,70 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet buniek *Escherichia coli* bol 0,07 log KTJ.g⁻¹. Počet enterokokov na povrchu vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 1,87 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet enterokokov vo vzorkách vaječnej škrupiny z konvenčného chovu bol 0,85 log KTJ.g⁻¹. Počet laktobacilov na škrupine vajca sa pohyboval v rozmedzí od 0,78 do 1,53 log KTJ.g⁻¹.

Priemerný počet laktobacilov na vzorkách škrupín vajec bol 1,16 log KTJ.g⁻¹. Celkový počet mikroorganizmov v jednotlivých vzorkách vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 3,42 log KTJ.g⁻¹. Priemerný celkový počet na vzorkách vaječnej škrupiny z konvenčného chovu bol 2,22 log KTJ.g⁻¹. Počet mezofilne aeróbných sporulujúcich mikroorganizmov sa na vzorkách škrupín pohyboval v rozmedzí od 0,17 do 3,30 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mezofilne sporulujúcich aeróbných mikroorganizmov na vzorkách škrupín bol 2,24 log KTJ.g⁻¹. Počet mikroskopických húb v jednotlivých vzorkách vaječnej škrupiny sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 0,39 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mikroskopických húb vo vzorkách vaječných škrupín z konvenčného chovu bol 0,08 log KTJ.g⁻¹.

Mikrobiologickým vyšetrením vajec sme zistili, že počet koliformných baktérií sa pohyboval v rozmedzí od 1,95 do 2,93 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet koliformných baktérií vo vajciach z konvenčného chove nosníc bol 2,46 log KTJ.g⁻¹. Počet buniek *Escherichia coli* sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 2,51 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet buniek *Escherichia coli* bol 0,35 log KTJ.g⁻¹. Počet enterokokov vo vajciach z konvenčného chovu sa pohyboval v rozmedzí od 1,30 do 2,88 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet enterokokov vo vzorkách vajec z konvenčného chovu bol 2,07 log KTJ.g⁻¹. Počet laktobacilov vo vajciach sa pohyboval v rozmedzí od 0,69 do 2,32 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet laktobacilov vo vajciach bol 1,57 log KTJ.g⁻¹. Celkový počet mikroorganizmov v jednotlivých vzorkách sa pohyboval v rozmedzí od 2,49 do 3,70 log KTJ.g⁻¹. Priemerný celkový počet vo vzorkách vajec z konvenčného chovu bol 3,22 log KTJ.g⁻¹. Počet mezofilne aeróbných sporulujúcich mikroorganizmov sa na vzorkách vajec pohyboval v rozmedzí od 2,29 do 3,67 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mezofilne sporulujúcich aeróbných mikroorganizmov vo vzorkách vajec bol 2,97 log KTJ.g⁻¹. Počet mikroskopických húb v jednotlivých vzorkách vajec sa pohyboval v rozmedzí od 0,00 do 2,42 log KTJ.g⁻¹. Priemerný počet mikroskopických húb vo vzorkách vaječných škrupín z konvenčného chovu bol 0,58 log KTJ.g⁻¹.

Obrázok 3 Vyizolované druhy mikroskopických húb v % zo vzoriek vajec



Diskusia

Vo vajcovode získava vajce svoje ochranné podškrupinové blany, a preto baktérie, ktoré vnikli do vajcovodu z kloaky, môžu preniknúť do vajca ešte nechráneného škrupinou; extragenitálna kontaminácia – z povrchu škrupiny, ktorá ma mnoho jemných (až 6000) i väčších (až 20) otvorov uzatvorených vyschnutým mucínovým ochranným povlakom. Ak sa tento povlak mechanicky poruší alebo zvlhne (orosením, umývaním a pod.), otvárajú sa cesty k prenikaniu mikroorganizmov z povrchu škrupiny. Povrch škrupiny býva viac alebo menej znečistený trusom, podstielkou, nečistotami z kurínov, klietok, výbehov a inak. Počty mikroorganizmov na povrchu vajec kolíšu od niekoľko sto až po niekoľko miliónov. Cez póry škrupiny ľahko prenikajú do podškrupinovej blany najmä huby, ktoré svojimi hýfami blanu rozrušujú a otvárajú tak baktériám cestu do vnútra vajca. Na povrchu vajec sa z baktérií najčastejšie vyskytujú zástupcovia rodov: *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia* a z vláknitých mikroskopických húb *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor* a *Rhizopus* (Adams a Moss, 2002).

Dôležitým faktorom ochrany vnútra vajca pred kontamináciou sú enzýmy lyzozým a konalbumín, ktoré sa nachádzajú v bielku a majú baktericídne vlastnosti. Pôsobia lyticko alebo baktericídne na druhy rodov *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Bacillus* a ďalšie, ak sú tieto prítomné v malom množstve, na mikroskopické huby však nemajú vplyv. Starnutím vajec postupne prirodzená odolnosť vajca klesá, lebo sa znižuje obsah baktericídnych enzýmov. Postupne sa mení aj chemické zloženie vajca, uvoľňuje sa CO₂, a tým sa zvyšuje pH vajcového obsahu, odparuje sa voda a otvárajú sa póry. Všetky vonkajšie vplyvy, ktoré urýchľujú životné pochody vo vajci a spôsobujú jeho rýchle starnutie, znižujú jeho odolnosť proti mikroorganizmom a urýchľujú jeho kazenie (Buchanan et al., 2000; Benář et al., 1996).

Kazenie vajec mikroskopickými hubami sa obyčajne nazýva podľa štádia rastu huby. V skorom štádiu sa obyčajne označuje ako bodková škvrnitosť. Vtedy sa rast huby prejaví vo forme malých, ostro ohraničených kolónií na povrchu škrupiny alebo aj na jej vnútornej ploche. Konečný stupeň rozkladu vajec hubami je tzv. plesňová hniloba. Je to stav, keď mikroskopické huby prenikajú cez póry a pukliny do vnútra vajca a svojimi hýfami prestúpia vaječný obsah. Spôsobujú koaguláciu – gélovanie bielka. Zápach, ktoré mikroskopické huby zanechávajú, je intenzívny a prakticky sa nedá odstrániť. Všeobecne sa vyskytujú častejšie zmeny spôsobené baktériami ako mikroskopickými hubami (Frutamico et al., 2005).

Vláknité mikroskopické huby potrebujú pre svoj rozvoj dostatočnú vlhkosť, preto sa im darí tam, kde je k dispozícii dlhší čas vysoká relatívna vlhkosť. Spóry rozličných druhov

mikromycét sa nachádzajú prakticky na všetkých vajciach. Za vhodných podmienok mikromycéty najprv rastú na povrchu, neskôr prenikajú cez póry škrupiny do vnútra vajca. Kazenie vajec mikroskopickými hubami spôsobujú najmä zástupcovia rodov *Penicillium* (žlté, zelené až modré škvrny), *Aspergillus*, *Cladosporium* (tmavozelené alebo čierne škvrny), *Sporotrichum* (ružové škvrny), *Mucor*, *Alternaria* a ďalšie (Görner a Valík, 2004).

Literatúra

1. ADAMS, M. R. – MOSS, M. O. 2002. Food microbiology, Second edition, Cambridge: The Royal society of chemistry, 2002. 479 p. ISBN 0-85404-611-9.
2. BEDNÁŘ, M et al..1996. Lekárska mikrobiologie. Praha : Marvil. 1996, 558 s.
3. BUCHANAN, R. L. – SMITH, J. L. – LONG, W. 2000. Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. In: International Journal of Food Microbiology , 58, 2000, s.159 – 172 .
4. FRUTAMICO, P. M. – BHUNIA, A.K. – SMITH, J.L. 2005.Foodborne pathogens. Caister academic press: Norkfolk, 2005, 445s, ISBN: 1-904455-00-X.
5. GÖRNER, F. – VALÍK, Ľ. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívateľín.1. vyd. Bratislava : Malé Centrum, 2004. 528 p. ISBN 80–9670-649-7
6. TANČÍNOVÁ, D. et al. . 2005. Mikrobiológia potravín. SPU – VES Nitra, 2005. 144 s, ISBN 80-8069-568-7.

ANALÝZA KVALITY KRÁLIČIEHO MLIEKA PO PODANÍ NIKLU A ZINKU

ANALYSIS OF RABBIT MILK QUALITY AFTER AN NICKEL AND ZINC ADMINISTRATION

Kalafová, A.¹, Kirchnerová, K.², Chrastinová, L.², Chrenek, P.², Kováčik, J.¹, Capcarová, M.¹, Schneidgenová, M.¹, Foltýs, V.²

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, ²Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Nitra

Abstract

In this study the effect of nickel alone as well as in combination with zinc on selected parameters of rabbit milk was studied. Animal were divided into 5 groups – group P1 receiving 17.5 g, group P2 35 g NiCl₂ per 100 kg of feed mixture; group P3 receiving 17.5 g NiCl₂ + 30 g ZnCl₂, group P4 35 g NiCl₂ + 30 g ZnCl₂ and group K received feed mixture without experimental additives. Evaluation of the number of somatic cells detected higher value (1.10.10⁶ ml) in control group in comparison with all experimental groups. The level of milk fat was very similar in all studied groups and the highest value was detected in group with nickel + zinc administration. The concentration of proteins was in the range of 7.76 – 10.47 g.100 g⁻¹ and in the reference range. The level of lactose was 1.72 – 2.68 g.100g⁻¹ milk. Our preliminary results suggest only a very weak, non-significant difference in all experimental groups in comparison with control. Analysis of mineral components in rabbit milk samples are under investigation.

Úvod

Z hľadiska zabezpečovania zdravia ľudskej populácie sa za dôležitú považuje ochrana potravinového reťazca pred kontamináciou ťažkými kovmi, ktorá je z 20 % spôsobená vlastnou poľnohospodárskou činnosťou a z 80 % ide o znečistenie z cudzích zdrojov, predovšetkým priemyselnou činnosťou. Tento fakt si vynútil zvýšený záujem o kontrolu zdravotnej nezávadnosti vyrábaných potravín z hľadiska obsahu toxických látok, ale aj rizikových kovov. K prvej skupine patria toxické prvky ako ortuť, kadmium, olovo, arzén, cín, hliník, nikel atď. a zo skupiny rizikových prvkov je to najmä železo, zinok, selén, meď, ktoré sú esenciálne, ale v nadlimitnom množstve spôsobujú oxidačné zmeny v potravine alebo môžu poškodzovať zdravie konzumenta (Kováčik et al. 2000).

Nikel je esenciálny ťažký prvok. V súčasnosti máme množstvo výsledkov v, ktorých sa charakterizuje fyziologická úloha niklu na stavovce. V ľudskom tele je asi 18% množstva niklu uloženého v koži. Zvlášť vysoká koncentrácia niklu je aj v kostnej dreni, v uzlinách, pečeni a v pote. Prostredníctvom potu prebieha vylučovanie tohto prvku. Úloha niklu v tele ešte nie je celkom objasnená. Pripisuje sa mu účasť v transporte kyslíku ku tkanivám, v syntéze enzymatických bielkovín, v premene uhľovodíkov, tukov a bielkovín, v tvorbe hormónov. Napriek negatívnym vlastnostiam niklu, zohráva významnú úlohu aj v biologických systémoch, hlavne v aktivite enzýmov, hormonálnej regulácii ako aj funkčnosti RNA, DNA, a proteínov. Najtoxickjší je nikel vo forme uhličitanu, ktorý sa ľahko vstrebáva kožou a z pľúcnych alveol (Ankel a Thauer, 1988).

V posledných rokoch sa poznatky o toxicite a karcinogenite niklu výrazne zvýšili. Nadbytok niklu v organizme môže byť spôsobený vdychovaním dymu a atmosférickým znečistením. V našej dobe predstavuje ohrozenie zvierat a ľudí, pretože kov v tejto forme ľahko podlieha kumulácii v organizme (Coogan et al. 1989, WHO 1991).

Nikel v príliš veľkej koncentrácii poškodzuje sliznice, spôsobuje alergické reakcie, chromozomálne zmeny, zmeny v kostnej dreni, môže sa zúčastňovať na rozvoji nádorových buniek. Nadbytok niklu má nepriaznivý účinok na množstvo iných prvkov. Znižuje hladinu horčíku a zinku v parenchymatických orgánoch. Bohatým zdrojom niklu je čokoláda, celozrnné obilie, ryby, strukoviny, šupy semien, zelené časti rastlín. Nikel sa môže do organizmu dostať per orálne, dermálnou cestou a aj inhalačne.

Toxicita niklu vyvoláva veľký záujem kvôli rozšírenému výskytu niklu v prostredí. Možným vysvetlením ako nikel spôsobuje poškodenie a smrť buniek, je peroxidácia lipidov a tvorba reaktívnych foriem kyslíka. V experimentoch sa už po 1. hodine od aplikácie niklu ľudským lymfocytom zistila zvýšená tvorba hydroxylových radikálov, čo hrá úlohu pri oxidatívnom poškodení ľudských lymfocytov akútnym účinkom niklu (Chang-Yo et al., 2003).

Zinok je známy esenciálny kov potrebný pre funkciu rôznych enzýmov (Elinder, 1986). Nedostatok tohto prvku v potrave vyvoláva komplexnú atrofiu semenníkov, ktorá je ireverzibilná (Guun a Gould, 1970). Cigánková et al. (1993) pozorovali pri hypozinkémii čiastočnú alebo úplnú depléciu semenotvorného epitelu bez poškodenia ostatných bunkových a intersticiálnych súčasti semenníka.

Zinok má vzťah k metabolizmu bielkovín, k využitiu glukózy, je nevyhnutne potrebný pre syntézu molekuly inzulínu, ktorá obsahuje dva atómy zinku.

Zlúčeniny zinku zrážajú bielkoviny. Tento denaturačný účinok na bielkoviny sa uplatňuje pri otravách najmä v tráviacom aparáte. Vznik anémií intoxikovaných zvierat sa vysvetľuje účinkom zinku na metabolizmus medi a železa. Takéto anémie nevznikli, ak sa preventívne aplikovali zlúčeniny medi (Beseda a Kováčik, 2000).

Cieľom predkladanej práce bol popísať účinok niklu samostatne a následne v kombinácii so zinkom na vybrané parametre mlieka kráľika po experimentálnom podaní.

Materiál a metodika

V experimente bolo použitých 25 samíc brojlerových línií Kalifornského kráľika (SCPV, Nitra) o hmotnosti 3,5 – 4,0 kg vo veku 4 mesiace, ktoré boli rozdelené do piatich skupín (P1, P2, P3, P4, K). V prvej skupine (P1) zvieratá (n=5) dostávali nikel (NiCl_2 , Reachem) v dávke 17,5 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ kŕmnej zmesi po dobu 100 dní. V druhej skupine (P2) zvieratá (n=5) dostávali dvojnásobnú dávku niklu v rovnakom časovom období. V ďalšej skupine (P3) sme podávali piatim samiciam nikel v dávke 17,5 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ v kombinácii so zinkom v koncentrácii 30 g ZnCl_2 (ZnCl_2 , Reachem) po dobu 100 dní. V poslednej pokusnej skupine (p4) zvieratá (n=5) samice prijímali krmivo s prímiesou niklu (35 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ KZ) a zinku (30 g $\text{ZnCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ KZ) po dobu 100 dní. Na porovnanie výsledkov sme zostavili skupinu piatich samíc (K – kontrolná skupina), ktorá prijímala rovnakú kŕmnu zmes (KKV1) ale bez pridania niklu a zinku. Všetky zvieratá boli umiestnené v klimatizovaných halách, v jednopodlažných individuálnych kovových kliečkach typizovaných rozmerov. Voda bola k dispozícii z automatických napájačiek.

Vzorky mlieka sme získali po aplikácii oxytocínu a vodnej vývevy na 21. deň laktácie. Obsah tuku, bielkovín a laktózy bol vyhodnotený použitím prístroja Instrument Milko-Scan FT 120 (Foss Electric, Denmark). Počet somatických buniek sme vyhodnotili fluorescenčnou metódou použitím Fossomatic 90 (Foss Electric, Denmark).

Dosiahnuté výsledky sme vyhodnotili štatisticky použitím PC programu SAS. Preukaznosť rozdielov bola stanovená F-testom.

Výsledky a diskusia

Pri hodnotení počtu somatických buniek v mlieku sme najvyššie hodnoty zistili v kontrolnej skupine ($1,10 \times 10^6$ ml), v pokusných skupinách boli tieto hodnoty podstatne nižšie.

Pri sledovaní množstva tuku bol tento ukazovateľ vyrovnaný vo všetkých skupinách, najvyššia hodnota bola nameraná v skupine P2, ktorej bol podávaný nikel 35 g v kombinácii so zinkom 30 g na 100 kg krmiva.

Koncentrácia bielkovín sa pohybovala v skupinách v rozmedzí od 7,76 do 10,47 g.100 g⁻¹ mlieka v rámci referenčnej normy.

Koncentrácia laktózy kolísala v rozpätí od 1,72 do 2,68g.100g⁻¹ mlieka (Tabuľka 1). Dostal et al. (1989) zaznamenali po podaní NiCl₂ potkanom signifikantné zmeny v zložení mlieka, hladina tuku sa zvýšila a hodnota mliečnych bielkovín, laktózy sa preukazne znížila. Uvádzajú, že po podaní NiCl₂ dochádza k jeho vylučovaniu do mlieka a k zmenám v kvalite mlieka a jeho produkcii.

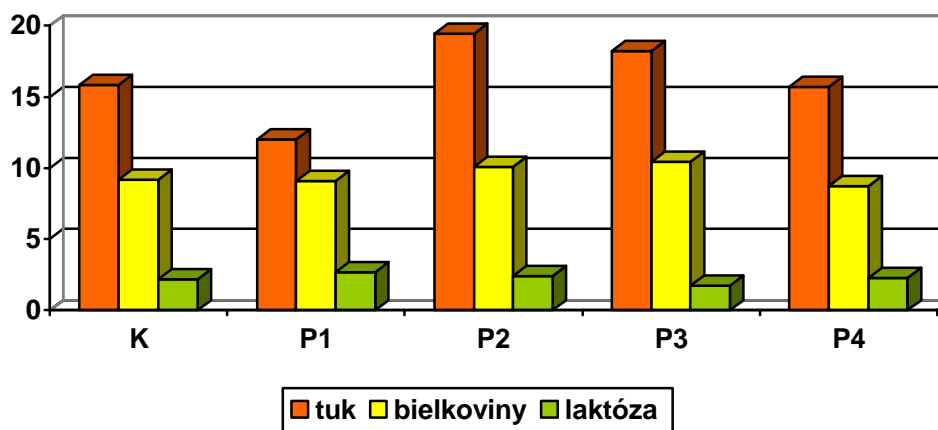
Naše predbežné výsledky poukazujú na mierne zmeny vo vzťahu k samotnému niklu ako aj ku kombinácii niklu so zinkom, avšak žiaden preukazný rozdiel medzi kontrolnou skupinou a pokusnými skupinami nebol zaznamenaný (Graf 1).

Tabuľka 1 – Vybrané parametre mlieka v sledovaných skupinách

	K			P1			P2			P3			P4		
	x	s	v	x	s	v	x	s	V	x	s	v	X	s	v
PSB	1,10	1,79	163,02	0,065	0,058	89,60	0,188	0,183	97,65	0,077	-	-	0,081	0,06	74,15
TUK	15,84	5,08	32,04	12,01	0,66	5,53	19,43	2,27	11,69	18,23	-	-	15,72	3,37	21,45
BIEL	9,18	1,29	14,04	9,12	0,21	2,25	10,07	1,42	14,08	10,47	-	-	8,76	0,51	5,77
LAK	2,19	0,27	12,16	2,68	0,52	19,22	2,40	0,27	11,40	1,72	-	-	2,27	0,33	14,59

PSB – počet somatických buniek (10⁶ ml), TUK – tuk (g.100 g⁻¹), BIEL – bielkoviny (g. 100 g⁻¹), laktóza (g.100g⁻¹)

Graf 1 – Tendencie hladín sledovaných parametrov mlieka



Použitie vyšších dávok niklu vyvoláva poškodenie zdravia. Sú to alergické stavy (kontaktná alergia pri použití šperkov z niklu), rakovina, poškodenie respiračného aparátu ako aj iatrogénne otravy. Pôsobením niklu môže dôjsť k hypersenzitivite, čo sa prejaví astmou, konjunktivitídou a zápalovými reakciami. Akútne prejavy intoxikáciou niklom sú charakterizované disfunkciou nadobličiek, hyperglykémiou, otravou pečene a renálnym zlyhaním. Nikel prechádza cez bariéry placenty, poškodzuje embryo ale aj plody experimentálnych zvierat (Sunderman et al., 1978). Nikel v príliš veľkej koncentrácii tiež poškodzuje sliznice, spôsobuje alergické reakcie, chromozomálne zmeny, zmeny v kostnej dreni, môže sa zúčastňovať na rozvoji nádorových buniek. Nadbytok niklu má nepriaznivý účinok na množstvo iných prvkov. Znižuje hladinu horčíku a zinku v parenchymatických orgánoch. Gunn a Gould (1970) uvádzajú, že ak sa zinok podal vo veľkých dávkach, spôsobil

len všeobecnú toxicitu, ale nie zistiteľný škodlivý účinok na reprodukčný systém samcov. Zistilo sa formovanie nádorov v intersticiálnom tkanive pri intratestikulárnych injekciách. 0,1 µg zinku v ml roztoku spôsobilo úplnú imobilizáciu spermii býka *in vitro* po 360 minútach. U kontrolného býka sa zistila motilita 10% v tomto čase (Šimoník et al., 1990).

Práca bola financovaná v rámci projektu VEGA 1/2417/05.

Literatúra

1. ANKEL-FUSCH, D. – THAUER, R. K. 1988. „Nickel in biology: Nickel as an essential trace element.“ In: The Bioorganic Chemistry of Nickel. VHC Publishers, Inc., New York, 1988, s.93-110.
2. BESEDA, I. - KOVÁČIK, J. 2000. Ťažké kovy a ich vzťah k produkčným ochoreniam. In: Kováčik, J. et al. Rizikové faktory potravinového reťazca človeka, SPU Nitra, 2000, 143 s.
3. CIGÁNKOVÁ, V. - MESÁROŠ, P. - BÍREŠ, J. 1993. Vplyv zinku na mikroskopickú a submikroskopickú štruktúru semenníkov býkov. In.: XXXV. zjazd Českej a Slovenskej anatomickej spoločnosti a Sekcie bunkovej biológie Čs. biologickej spoločnosti. Nitra, VŠP 1993, s. 34.
4. COOGAN, T. P. – LATTA, D M. – SNOW, E. T. – COSTA, M. 1989. Toxicity and Carcinogenicity of Nickel Compounds. In: CRC Critical Reviews in Toxicology, roč. 19, 1989, s. 341-384
5. DOSTAL, L. A,- HOPFER, S. M.,- LIN, S. M.,- SUNDERMAN F. W. JR. 1989.Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel through rat milk. In Toxicol APPL Pharmacol, vol. 101, 1989, NOV., s. 220-31.
6. ELINDER, C.G. 1986. Other toxic effects. In.: FRIBERG, L. - ELINDER, C.G. - KJELLSTROM, T. (ed.): Cadmium and health: a toxicological and epidemiological appraisal. Vol.2. Boca Raton, CRC Press 1986, s. 159-204.
7. GUNN, S.A. - GOULD,T.C. 1970. Cadmium and other mineral elements. In: JOHNSON, A.D. - GOMES, W.R. - VANDEMARK, N.L.(ed.): The testis, Vol.3. New York. - London, Academic Press 1970, s. 377-481.
8. CHANG, Y. CH. - YI-FEN, W. - YU-HWAN, L. - SHU-FANG Y. 2003. Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes. In: Arch. Toxicol., roč. 77, 2003, č. 3, s. 123-130.
9. KOVÁČIK et al. Rizikové faktory potravinového reťazca človeka. 1. vyd. SPU NITRA, 2000. s.5. ISBN 80 7137-796-1 .
10. SUNDERMAN JR., F. W. – SHEN, S. K – MITCHELL, J. M. – ALLIPASS, P. R. – DAMJANOV, I. 1978. Embryotoxicity and Fetal Toxicity of Nickel in Rats. In: Toxicol. Appl. Pharmacol, roč. 43, 1978, č. 5, s. 381-390.
11. ŠIMONÍK, I. - PAVELKA, J. - KUDLÁČ, E. 1990. The spermiotoxicity of selected chemical elements (Cr, Cu, Zn) *in vitro*. In: Reprod. Dom. Anim., roč. 25, 1990, s. 242-246.
12. WHO WORKING GROUP 1991. Environmental Health Criteria 108 – Nickel WHO, Geneva, 1991.

ANALÝZA KVALITY KRÁLIČIEHO MÄSA PO PODANÍ NIKLU A ZINKU

ANALYSIS OF RABBIT MEAT QUALITY AFTER AN NICKEL AND ZINC ADMINISTRATION

Kalafová, A.¹, Zaujec, K.², Mojto, J.², Chrenek, P.², Kováčik, J.¹, Capcarová, M.¹, Zemanová, J.¹.

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, ²Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Nitra

Abstract

In this study the effect of nickel alone as well as in combination with zinc on selected parameters of rabbit meat quality was studied. Animal were divided into 5 groups – group P1 receiving 17.5 g, group P2 35 g NiCl₂ per 100 kg of feed mixture; group P3 receiving 17.5 g NiCl₂ + 30 g ZnCl₂, group P4 35 g NiCl₂ + 30 g ZnCl₂ and group K received feed mixture without experimental additives. Evaluation of the total water content showed that this parameter was very similar in all groups in the range 73.92 – 74.54 g.100 g⁻¹. The level of total proteins was in the range of 21.7 – 22.9 g.100 g⁻¹ without significant differences. The level of intramuscular fat was highest in group with nickel and zinc administration, and in all other group the values were almost the same. In the evaluation of energetic value (kJ per 100 g) and pH significant differences were not obtained. Our preliminary results suggest only a very weak, non-significant difference in all experimental groups in comparison with control. Analysis of mineral componets from rabbit meat samples are under investigation.

Úvod

Z hľadiska kontaminácie potravín a krmív je potrebné venovať zvýšenú pozornosť obsahu rizikových chemických prvkov, ktoré sú významnými enviromentálnymi kontaminantami potravinového reťazca. Významnými anorganickými látkami vstupujúcimi do potravinového reťazca sú kadmium, ortuť, olovo, chróm a nikel.

Nikel existuje v rôznych minerálnych formách a môže byť prítomný všade v prostredí, obsiahnutý v riekach, jazerách, oceánoch, v pôde, vo vzduchu, v pitnej vode, v rastlinách a v živočíchoch (ATSDR, 1988, USAF, 1990). Ako u väčšiny kovov, toxicita niklu závisí od cesty vstupu do organizmu a od rozpustnosti zlúčenín niklu (Coogan et al., 1989). Rozpustné zlúčeniny niklu majú tendenciu byť viac toxické ako nerozpustné zlúčeniny (Goyer, 1991). Výživová hodnota – požadovaná dávka niklu je 50-80 ng.g⁻¹ potravy (Nielsen, 1976).

Nedostatok niklu spôsobuje nadmerné potenie, poruchy trávenia, chudokrvnosť, steatózu pečene, poruchu funkcie obličiek, narušuje vstrebávanie železa. V posledných rokoch sa poznatky o toxicite a karcinogenite niklu výrazne zvýšili. Nadbytok niklu v organizme môže byť spôsobený vdychovaním dymu a atmosférickým znečistením.

Zinok sa vyskytuje prakticky vo všetkých rastlinných a živočíšnych tkanivách. Za rizikový prvok je považovaný len pri nadlimitných koncentráciách, čo platí všeobecne pre živé organizmy. Resorpcia zinku v tráviacom aparáte je obmedzená, lebo z čreva sa dostane do organizmu len asi 10% zinku z orálne podaného množstva. Metabolizmus zinku je antagonisticky ovplyvňovaný kadmium, ktoré zabraňuje správne rozdeľovaniu a využitiu. Cieľom predkladanej práce bol popísať účinok niklu samostatne a následne v kombinácii so zinkom na vybrané parametre mäsa kráľika po experimentálnom podaní.

Materiál a metodika

V experimente bolo použitých 25 samíc brojlerových línií kalifornského kráľíka (SCPV, Nitra) o hmotnosti 3,5 – 4,0 kg vo veku 4 mesiace, ktoré boli rozdelené do piatich skupín (P1, P2, P3, P4, K). V prvej skupine (P1) zvieratá (n=5) dostávali nikel (NiCl₂, Reachem) v dávke 17,5 g NiCl₂.100 kg⁻¹ kŕmnej zmesi po dobu 100 dní. V druhej skupine (P2) zvieratá (n=5) dostávali dvojnásobnú dávku niklu v rovnakom časovom období. V ďalšej skupine (P3) sme podávali piatim samiciam nikel v dávke 17,5 g NiCl₂.100 kg⁻¹ v kombinácii so zinkom v koncentrácii 30 g ZnCl₂ (ZnCl₂, Reachem) po dobu 100 dní. V poslednej pokusnej skupine (P4) zvieratá (n=5) samice prijímali krmivo s prímiesou niklu (35 g NiCl₂.100 kg⁻¹ KZ) a zinku (30 g ZnCl₂.100 kg⁻¹ KZ) po dobu 100 dní. Na porovnanie výsledkov sme zostavili skupinu piatich samíc (K – kontrolná skupina), ktorá prijímala rovnakú kŕmnu zmes (KKV1), ale bez prídania niklu a zinku. Všetky zvieratá boli umiestnené v klimatizovaných halách, v jednopodlažných individuálnych kovových klietkach typizovaných rozmerov. Voda bola k dispozícii z automatických napájačiek.

Kvalitu kráľíčieho mäsa sme analyzovali zo vzorky z chrbta (*m. longissimus dorsi*). Vzorka mäsa bola odobratá hodinu po porážke, zabalená do alumíniovej fólie a uskladnená pri teplote 4 počas 24 hodín. Po tejto dobe bola zmeraná hodnota pH vpichovou elektródou a prístrojom Radelkis OP-109. Obsah vody, bielkovín a intramuskulárneho tuku bol stanovený prístrojom Infrateck 1265 48 hodín *post mortem*. Dosiahnuté výsledky sme vyhodnotili štatisticky použitím PC programu SAS. Preukaznosť rozdielov bola stanovená F-testom.

Výsledky a diskusia

Pri hodnotení obsahu celkovej vody boli hodnoty v pokusných skupinách aj v kontrolnej vyrovnané v rozmedzí od 73,92 do 74,54 v g.100g⁻¹. Pri meraní celkových bielkovín sa hodnoty pohybovali v rozpätí od 21,7 do 22,9 g.100g⁻¹. Hodnota intramuskulárneho tuku bola najvyššia v skupine P3, ktorej bol podávaný nikel v koncentrácii 17,5 g v kombinácii s 30 g zinku na 100 kg krmiva. V ostatných skupinách boli hodnoty vyrovnané. Pri meraní energetickej hodnoty v KJ na 100 g sme nezistili medzi skupinami rozdiely. (Graf 1). Vpichovou metódou zmeraná hodnota pH sa pohybovala okolo 6 pH vo všetkých sledovaných skupinách.

Dosiahnuté predbežné výsledky poukazujú na mierne zmeny vo vzťahu k samotnému niklu ako aj ku kombinácii niklu so zinkom, avšak žiaden preukazný rozdiel medzi kontrolnou skupinou a pokusnými skupinami nebol zaznamenaný (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 – Vybrané parametre mäsa v sledovaných skupinách

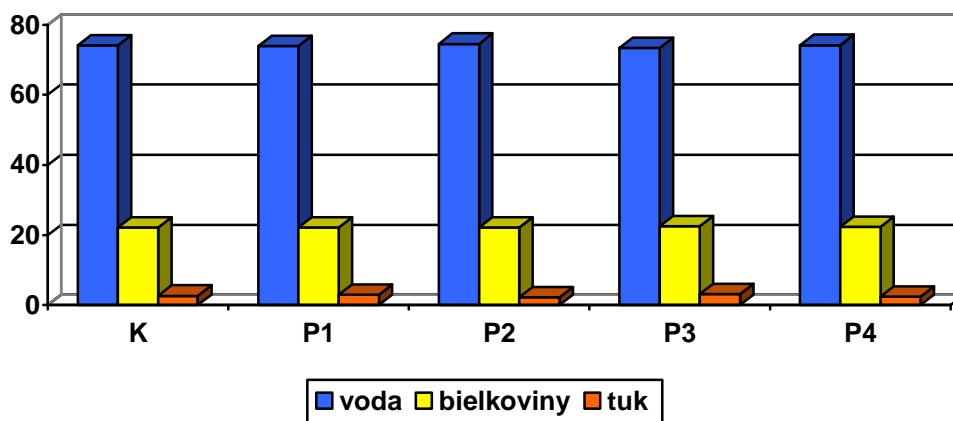
	K			P1			P2			P3			P4		
	x	s	v	x	s	v	x	s	v	x	s	v	x	s	v
CV	74,15	0,85	1,15	73,92	1,02	1,38	74,54	0,84	1,13	73,40	0,70	0,95	74,20	0,68	0,92
CB	22,10	0,22	0,98	22,08	0,41	1,88	22,16	0,51	2,29	22,43	0,42	1,86	22,28	0,26	1,16
CT	2,72	0,87	31,90	2,96	0,98	32,98	2,28	0,39	17,10	3,17	1,12	35,21	2,48	0,51	20,4
EH	472,85	31,52	6,67	481,93	36,71	7,62	457,09	21,31	4,66	495,0	35,0	7,08	466,64	20,82	4,46
pH	5,79	0,15	2,64	6,0	0,39	6,42	5,97	0,03	0,45	5,76	0,23	4,02	5,57	0,05	0,99

CV – obsah celkovej vody v g.100⁻¹ g; CB – celkové bielkoviny v g.100⁻¹ g; CT – celkový tuk v g.100 g⁻¹, EH – energetickej hodnota v KJ.100 g⁻¹

Úloha niklu v tele ešte nie je celkom objasnená. Pripisuje sa mu účasť v transporte kyslíku ku tkanivám, v syntéze enzymatických bielkovín, v premene uhľovodíkov, tukov a bielkovín, v tvorbe hormónov. Napriek negatívnym vlastnostiam niklu, zohráva významnú úlohu aj v biologických systémoch, hlavne v aktivite enzýmov, hormonálnej regulácii ako aj funkčnosti RNA, DNA a proteínov. Najtoxickéjší je nikel vo forme uhličitanu, ktorý sa ľahko vstrebáva kožou a z pľúcnych alveol (Ankel a Thauer, 1988). Toxicita niklu vyvoláva veľký záujem kvôli rozšírenému výskytu niklu v prostredí. Možným vysvetlením ako nikel spôsobuje poškodenie a

smrť buniek, je peroxidácia lipidov a tvorba reaktívnych foriem kyslíka. V experimentoch sa už po 1 hodine od aplikácie Ni ľudským lymfocytom zistila zvýšená tvorba hydroxylových radikálov, čo hrá úlohu pri oxidatívnom poškodení ľudských lymfocytov akútnym účinkom niklu (Chang-Yo et al., 2003).

Graf 1 – Tendencie parametrov mäsa v sledovanom pokuse



Toxicita zinku spočíva v inhibícii niektorých enzýmov ako je acetylcholinesteráza, kataláza, kyslá fosfatáza, pepsín, trypsín a amyláza. Zlúčeniny zinku zrážajú bielkoviny (Kováčik et al., 2000). Nedostatok tohto prvku v potrave vyvoláva komplexnú atrofiu semenníkov, ktorá je ireverzibilná (Gunn a Gould, 1970). Cigánková et al. (1993) pozorovali pri hypozinkémii čiastočnú alebo úplnú depléciu semenotvorného epitelu bez poškodenia ostatných bunkových a intersticiálnych súčasti semenníka.

Práca bola financovaná v rámci projektu VEGA 1/2417/05.

Literatúra

1. ANKEL - FUSCH, D. – THAUER, R. K. 1988. „Nickel in biology: Nickel as an essential trace element.“ In: The Bioorganic Chemistry of Nickel. VHC Publishers, Inc., New York, 1988, s.93-110.
2. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1988. Toxicological Profile for Nickel, ATSDR/U.S. Public Health Service, ATSDR/TP-88/19, 1988.
3. CIGÁNKOVÁ, V. - MESÁROŠ, P. - BÍREŠ, J. 1993. Vplyv zinku na mikroskopickú a submikroskopickú štruktúru semenníkov býkov. In.: XXXV. zjazd Českej a Slovenskej anatomickej spoločnosti a Sekcie bunkovej biológie Čs. biologickej spoločnosti. Nitra, VŠP 1993, s. 34.
4. COOGAN, T. P. – LATTA, D M. – SNOW, E. T. – COSTA, M. 1989. Toxicity and Carcinogenicity of Nickel Compounds. In: CRC Critical Reviews in Toxicology, roč. 19, 1989, s. 341-384
5. GOYER, R. 1991. Toxic effects of metals, In: Casarett and Doull's Toxicology, 4th ed. Amdur, M: O., J. D. Klaasen, eds., Pergamon Press, New York., 1991, s. 623-680
6. GUNN, S.A. - GOULD,T.C. 1970. Cadmium and other mineral elements. In: JOHNSON, A.D. - GOMES, W.R. - VANDEMARK, N.L. (ed.): The testis, Vol.3. New York. - London, Academic Press 1970, s. 377-481

7. CHANG, Y. CH. - YI-FEN, W. - YU-HWAN, L. - SHU-FANG Y. 2003. Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes. In: Arch. Toxicol., roč. 77, 2003, č. 3, s. 123-130.
8. KOVÁČIK, J. et al. Rizikové faktory potravinového reťazca človeka. 1. vyd. SPU NITRA, 2000, s.65, ISBN 80 7137-796-1.
9. NIELSEN, F. H. 1976. Newer trace elements and possible application in man. In: Trace element in human health and diseases, Vol II, Essential and Toxic elements. PRASAD A.S. and OBERLAES D. 1976, s 379-399.

VPLYV IGF-I NA OVARIÁLNE FUNKCIE HYDINY A OŠÍPANÝCH A MOŽNÉ VNÚTROBUNKOVÉ SPROSTREDKOVATELE JEHO ÚČINKU

EFFECT OF IGF-I ON FOWL'S AND PORCINE OVARIAN FUNCTIONS AND ITS POSSIBLE MEDIATORS

Kolesárová, A.¹, Sirotkin, A.², Capcarová, M.¹, Massányi, P.¹, Lukáč, N.¹, Kováčik, J.¹

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, ²Ústav genetiky a reprodukcie HZ, Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu v Nitre

Abstract

The aim of our experiments was to study the influence of insulin-like factor I (IGF-I) on release of progesterone (P) and expression of protein kinase A (PKA), tyrosine kinase (TK), MAP kinase (MAPK), transcription factor (CREB), proliferation-associated (PCNA), apoptotic (Bax) and antiapoptotic (Bcl) peptides in the large and small ovarian follicles of domestic fowl and gilts. It was observed that IGF-I stimulated production of P and accumulation of MAPK, PCNA, Bcl in both species. Furthermore, IGF-I stimulated expression of PKA, TK and apoptotic peptide Bax. In gilts but not in fowl, IGF-I suppressed of CREB. The large follicles had significantly higher responses to IGF-I treatment than the small follicles. These data demonstrate the involvement of IGF-I in regulation of proliferation, apoptosis, steroidogenesis, some protein kinases and transcription factor in fowl's and porcine ovaries.

Úvod

Rastové faktory sa významne podieľajú na vývoji folikulov, oocytovom zrení a ovulácii (Yoshimura, 1998). Inzulínu podobný rastový faktor typu I (IGF-I) stimulačne pôsobí na rast buniek v rozsiahlom pásme tkanív (Benbassat et al., 1999), reguluje proliferáciu, diferenciáciu a sekrečnú aktivitu buniek vaječníkov (Spicer a Echternkamp, 1995; Armstrong et al., 2000). Efekty IGF-I na proliferačné a generačné funkcie vaječníkov môžu byť sprostredkované cAMP/ proteínkinázami A (PKA), aktivovanými MAP-kinázami (MAPK) a tyrozínkinázami (TK) (Leung a Steele, 1992; Cameron et al., 1996). Či existujú medzidruhové rozdiely v účinkoch IGF-I na vaječníky, nie je celkom známe. Cieľom našich experimentov bolo porovnať účinok IGF-I na proliferáciu, apoptózu a steroidogézu ovariálnych buniek u hydiny a ošípaných, navrhnúť možné vnútrobunkové mechanizmy účinku IGF-I a zistiť zmeny odozvy buniek na IGF-I počas folikulogenézy. Konkrétne sme sledovali vplyv IGF-I na produkciu steroidného hormónu (progesterónu), na expresiu PKA, TK, MAPK, transkripčného faktoru (CREB), proliferačného peptidu (PCNA), apoptotického (Bax) a antiapoptotického peptidu (Bcl).

Materiál a metódy

Vaječníky sliepok (Leghornka biela) a ošípaných (Biela ušľachtilá) sme vizuálne hodnotili a rozdelili podľa príslušného druhu a veľkosti folikulov. V prípade hydiny sme izolovali a následne kultivovali fragmenty veľkých a malých ovariálnych folikulov (F2 a F12) a u ošípaných ovariálne granulózne bunky metódou aspirácie z malých (2 mm) a stredne veľkých (5 mm) folikulov. Kultiváciu buniek sme uskutočnili bez prídavkov (kontrola) a s prídavkami IGF-I (10 ng/ml) (Sigma, St. Louis, USA). V inkubačnom médiu sme stanovili koncentrácie progesterónu (P) použitím komerčných súprav RIA firmy DSL (Webster, USA) podľa návodu výrobcu. Metódou Western blotting (Laemmli, 1970) a imunocytochemickou analýzou podľa Osborna a Isenberga (1994) pomocou protilátok od firmy Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, USA) sme v kultivovaných bunkách identifikovali PKA, TK,

MAPK, CREB, PCNA, Bax a Bcl. Výsledky boli spracované bežnými štatistickými metódami. Signifikantnosť rozdielov medzi skupinami bola určená testami Wilcoxon a χ^2 .

Výsledky a diskusia

Zistili sme, že fragmenty ováriálnych folikulov sliepok a granulózne ováriálne bunky prasičiek sú schopné produkovať P, ktorého koncentrácie sa zvyšovali s následným rastom folikulov. Zaznamenali sme aj vplyv prídavku IGF-I na sekréciu P. Podobne ako v prípade sliepok, aj u prasičiek IGF-I stimuloval produkciu P. Stimulačný efekt IGF-I u oboch druhov sa prejavil aj v akumulácii PCNA, Bax a Bcl. Odlišný charakter vplyvu príslušných dávok IGF-I sme evidovali v expresii PKA, TK, CREB a Bax: IGF-I stimuloval expresiu PKA, TK a Bax u sliepok, u ošípaných bol zistený inhibičný vplyv IGF-I na tieto látky. Čo sa týka odozvy IGF-I na akumuláciu transkripčného faktora CREB, u hydiny nebol zaznamenaný účinok na rozdiel od prasičiek, u ktorých sa IGF-I správal ako inhibítor. Účinok IGF-I na vybrané látky bol variabilný nielen v závislosti od hospodárskych druhov, ale aj od veľkosti folikulov. U veľkých ováriálnych folikulov sme evidovali signifikantne vyššiu odozvu IGF-I ako u malých folikulov aj u sliepok a prasičiek.

Výsledky svedčia o vplyve a úlohe IGF-I v regulácii funkcií ováriálnych buniek (proliferácie, apoptózy a steroidogenézy), čo je v súlade s predchádzajúcimi autormi (Spicer a Echternkamp, 1995; Yoshimura, 1998; Benbassat et al., 1999; Armstrong et al., 2000). Zároveň naše pozorovania svedčia o tom, že PKA, TK, MAPK a CREB môžu byť vnútrobunkovými sprostredkovateľmi účinku IGF-I na ováriálne bunky sliepok a ošípaných. Predpoklady, že účinky IGF-I medzi rôznymi druhmi sú podobné, sa potvrdili v prípade P, MAPK, PCNA a Bcl. V prípade PKA, TK, CREB a Bax sme zaznamenali odlišnosti medzi sliepkami a ošípanými, čo svedčí o možných druhových rozdieloch v mechanizmoch účinku IGF-I na ovária.

Záver

Pozorovania demonštrujú úlohu IGF-I a vnútrobunkových sprostredkovateľov jeho účinku v regulácii ováriálnych funkcií hydiny a ošípaných. Naše pozorovania vysvetľujú principiálnu možnosť využitia IGF-I a iných regulátorov vnútrobunkových signálových dráh v regulácii reprodukcie hospodárskych zvierat.

Literatúra

1. Armstrong, D.G. - Gutierrez, C.G. - Baxter, G. - Glazyrin, A.L. - Mann, G.E. – Woad, K.J. - Hogg, C.O. - Webb, R.: Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF-receptor in bovine ovarian follicles. In: Journal of Endocrinology, roč. 165, 2000, č. 1, s. 101-113.
2. Benbassat, C. - Shoba, L.N.N. – Newman, M. - Adamo, M.L. - Frank, S.J. - Lowe, W.L.: Growth Hormone – Mediated Regulation of Insulin-Like Growth Factor I Promoter Activity in C 6 Glioma Cells. In: Endocrinology, roč. 140, 1999, č. 7, s. 3073-3081.
3. Cameron, M.R. - Foster, J.S. - Bukovský, A. - Wimalasena, J.: Activation of mitogen-activated protein kinase by gonadotropins and cyclic adenosine 5-monophosphates in porcine granulosa cells. In: Biology of Reproduction, roč. 55, 1996, s. 111-119.
4. Laemmli, U.K.: Cleavage and structure of proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: Nature, roč. 277, 1970, s. 680-685.
5. Leung, P.C.K. - Steele, G.L.: Intracellular signaling in the gonads. In: Endocrine Reviews, roč. 13, 1992, s. 476-498.

6. Osborn, M. – Isenberg, S.: Immunocytochemistry of frozen and of paraffin tissue sections. In: Cell Biology, roč. 2, 1994, s. 361-367.
7. Spicer, L.J. - Echternkamp, S.E.: The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. In: Domestic Animal Endocrinology, roč. 12, 1995, s. 223-245.
8. Yoshimura, Y.: Insulin-like growth factors and ovarian physiology. In: Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, roč. 24, 1998, č. 5, s. 305-323.

SLEDOVANIE VPLYVU SELÉNU NA ELIMINÁCIU KADMIA Z ORGANIZMU JAPONSKÝCH PREPELÍC

FOLLOWING THE EFFECT OF SELENIUM ON CADMIUM ELIMINATION FROM THE ORGANISM OF JAPANESE QUAIL

Koréneková, B., Skalická, M., Nad', P., Korének, M.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

The effect of Se on Cd elimination from muscles and liver of Japanese quails were investigated. Eighty birds were divided into 3 groups. Group 1 was the control group. The animals in group G2, received in water combination of 0.12mg/d Cd and 0.048 mg/d of Se. In group G3, Cd in dose 0.12 mg/d was added. After 110. day of experiment addition of Cd in group G2 (CdSe) was finished. Group G3(Cd) was divided into 2 parts A with addition of Cd and parts B with addition of Se. Cd was determined after 58 and 110d of supplementation by AAS method. The mean content of Cd in liver and muscles were significantly lower ($P < 0.001$) after addition of Se. These results suggest that Cd levels in organs and tissues of Japanese quails can be counteracted by Se supplementation.

Key words: cadmium, selenium, liver, muscle, Japanese quail

Úvod

Problémy znečistenia životného prostredia škodlivými látkami predovšetkým z ťažby surovín, metalurgického priemyslu a z poľnohospodárstva sú dôsledkom doterajšieho prístupu ľudskej populácie k využívaniu a ovplyvňovaniu prírody (Jacková, 2001; Kožárová a kol, 1997; Kočišová, 2004). Kadmium je významný industriálny a enviromentálny polutant, ktorý je pre organizmus toxický a má tendenciu kumulovať sa v potravinovom reťazci a tak predstavujú značné riziko pre populáciu (Massanyi a kol., 2003). Výrazne sa jeho účinok prejavuje v akútnych prípadoch, kedy spôsobuje hepatotoxicitu a v prípade chronickej expoície nephrotoxicitu (Hastad a Klaassen, 2002). Absorpcia a kumulácia Cd v organizme zvierat závisí od širokého množstva faktorov, ako sú vek, výživa, pohlavie (Underwood a kol, 1999), ale tiež od komplexu antagonistických interakcií medzi prvkami (Naginiene a kol, 2002). Preto veľký dôraz sa kladie na predchádzanie poškodzovania životného prostredia a na hľadanie spôsobov eliminácie škodlivých látok z organizmu. Selén ako esenciálny prvok je zložkou glutation peroxidázového systému, jedného z primárnych antioxidantov. Kľúčovým význam Se je v schopnosti väzby a tvorby komplexov s niektorými ťažkými kovmi, ktoré tak môžu chrániť a detoxikovať určité vitálne systémy (Bobček, 2002). Japonská prepelica (*Coturnix coturnix japonica*) je rozšírená takmer v celej Európe. Patrí do radu *Galliformes*, čeľade *Phasianidae* a rodu *Coturnix*. Svojimi chovnými vlastnosťami je vhodná ako objekt pre experimentálne účely (Cigánková a kol., 2005). Cieľom práce bolo sledovanie vplyvu prídavku selénu na elimináciu kadmia z organizmu Japonských prepelíc.

Materiál a metodika

Do experimentu boli zahrnuté Japonské prepelice vo veku 40 dní vážiace cca 170g. Experiment bol schválený etickou komisiou pričom podmienky experimentu boli v súlade s etickými a zoohygienickými požiadavkami. Prepelice v počte (80ks) boli držané v klietkách za kontrolovaných klimatických podmienok optimálnych pre ich rast a welfare. Kŕmené boli kompletnou kŕmnom zmesou HYD-10. Kŕmna zmes a voda boli podávané *ad libitum*.

Prepelice boli rozdelené do 3 skupín: 1. kontrolná skupina (bez prídavkov mikroprvkov), 2. skupina, kde prepeliciam bola denne vo vode podávaná kombinácia CdSe (0,048 mg Se/d a 0,12 mg Cd/d) a 3. skupina len s prídavkom 0,12 mg Cd/d.

Po 50. dni experimentu sme ukončili aplikáciu Cd v 2. skupine a prepeliciam sme podávali len Se do 110. dňa (CdSe →Se). Súčasne sme prepelice v 3. skupine rozdelili na dve časti, podskupinu A, kde sa pokračovalo s podávaním Cd do 110. dňa experimentu (Cd→Cd) a na podskupinu B len s prídavkom Se (Cd→Se). Vzorky prsnej, stehennej svaloviny a pečene boli odobraté na 50. a 110. deň experimentu, a spracované mikrovlnným rozkladom. Kadmium bolo analyzované na AAS podľa metodiky, ktorú uvádza Kocourek, (1992). Výsledky boli štatisticky spracované použitím Studentového *t* – testu (Microsoft Excel 7,0) na hladine významnosti $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ a $P \leq 0,001$.

Výsledky a diskusia

Hladiny Cd v kontrolnej skupine v prsnej, stehennej svalovine a v pečeni (0,021; 0,016; 0,026 mg.kg⁻¹) neprevýšili limity pre svalovinu a vnútorné orgány 0,05; 0,5 mg.kg⁻¹ udávané v Potravinovom kódexe SR (2004).

Prepelice v 2. skupine (Cd) mali po 50. dni experimentu štatisticky významne zvýšené hladiny Cd v stehennej svalovine ($P \leq 0,01$), v prsnej svalovine a v pečeni ($P \leq 0,001$) oproti kontrole (Graf. 1). Tieto výsledky sú v súlade s prácou Bokoriho a kol., (1995) a Kottferovej (2004), ktorí zistili po dlhodobej aplikácii Cd jeho zvýšenú kumuláciu Cd hlavne v pečeni hydiny.

V 3. skupine (CdSe) sme zaznamenali v priebehu experimentu taktiež signifikantný vzostup hladín Cd v svalovinách ($P \leq 0,05$) a v pečeni ($P \leq 0,001$) oproti kontrole, avšak menej výrazný.

Vzájomných porovnaním výsledkov Cd experimentálnych skupín 2. (Cd) a 3. (CdSe) sme zistili štatisticky významné zníženie hladín Cd v svalovinách ($P \leq 0,05$) a v pečeni ($P \leq 0,001$) z 0,060; 0,056; 0,231 mg.kg⁻¹ (2.sk. prídavok Cd) na 0,037; 0,025; 0,175 mg.kg⁻¹ (3.sk.-CdSe). Predpokladáme, že atómy Se kombinované s atómami Cd boli eskortované z pečene cestou žlčového systému a tak prispeli k eliminácii Cd z tela. Zabránilo sa tak ku poškodzovaniu tkanív Cd. Tento jav môže naznačovať, že ochranný účinok Se voči Cd bol spôsobený tvorbou vzájomných komplexov.

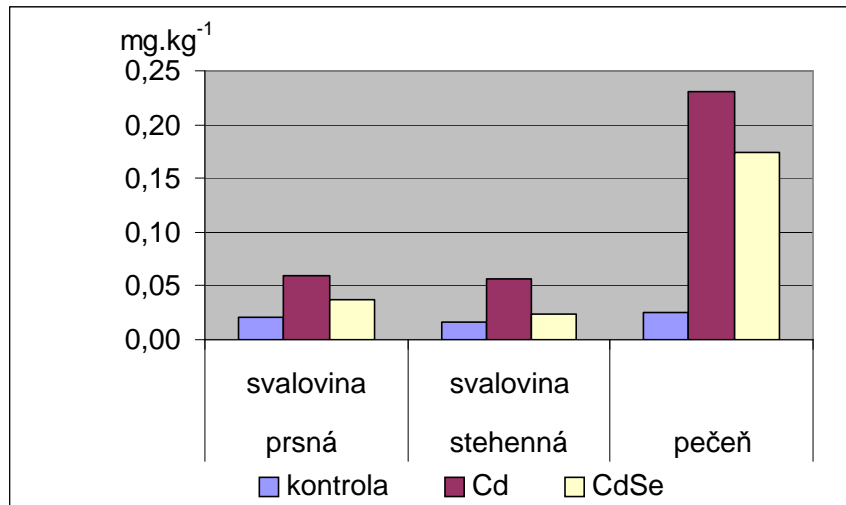
Na 110. deň experimentu sme 2. skupine (CdSe →Se) pozorovali vplyvom podávania Se štatistické zvýšené hladiny Cd len v pečeni ($P \leq 0,01$). V 3. skupine v oboch podskupinách sme pozorovali signifikantne zvýšenie hladín Cd ($P \leq 0,001$) oproti kontrole.

Mierny vzostup hladín Cd v prsnej svalovine ($P \leq 0,05$) sme pozorovali pri porovnaní vzoriek 3. skupiny navzájom, podskupiny A(Cd) ku B podskupine (Cd→Se). Pri porovnaní hladín kadmia v 3A skupine (Cd) ku 2.sk (CdSe →Se) sme pozorovali štatisticky významný pokles hladín Cd v prsnej svalovine, pečeni ($p \leq 0,01$) a v stehennej svalovine ($P \leq 0,05$). Signifikantne výraznejší pokles hladín Cd v svalovine ($P \leq 0,001$) a v pečeni ($p \leq 0,01$) sme pozorovali pri porovnaní skupiny 3B (Cd→Se) ku 2.skupine (CdSe →Se). Potvrdil sa tak vplyv dlhodobého podávania Se na pokles hladín Cd a na účinnosť jeho eliminácie z organizmu preplic v prsnej svalovine, stehennej svalovine a v pečeni z 0,026; 0,028; 0,272 mg.kg⁻¹ (Cd→Se) na 0,012; 0,009; 0,109 mg.kg⁻¹(CdSe →Se).

Selén je účinný antioxidant, ktorý je navrhnutý ako možný faktor Cd tolerancie. Prebieha ešte stále rozsiahla diskusia o tomto mechanizme. Exaktný mechanizmus Se indukovanej tolerancie ku Cd je nejasný. Se má vďaka vysokej afinite voči ťažkým kovom pomerne silnú tendenciu vytvárať s nimi chemické väzby a komplexy. Vznikajú tak nerozpustné, neaktívne formy biologicky inertných zlúčenín, ktoré zabráňujú poškodzovaniu tkanív kadmiumom.

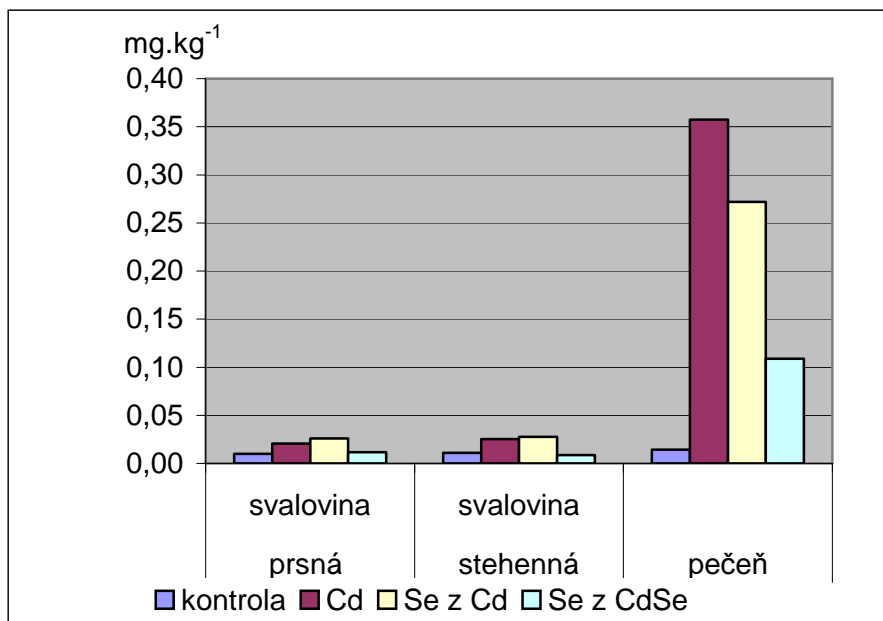
Graf.1.

Distribúcia Cd v svalovine a v pečeni Japonských prepelíc na 50. deň experimentu



Graf.2.

Eliminácia Cd vplyvom Se v svalovine a v pečeni Japonských prepelíc na 110. deň experimentu



Literatúra:

1. Bokori J., Fekete S., Kadar I., Koncz J., Vetesi F., Albert M., 1995: Complex study of the physiological role of Cd. 3. Cd loading trials on broiler chickens, Acta Vet Hung. 43, 2-3, 195-228.
2. Bobček R 2002 The role of Se in nutrition of poultry, Slovenský chov 5, 32-33
3. Cigánková, V., Zibrín M., Bod'a K., Holovská K.: Effect of long-term experimental hypodynamy on the adrenal glands of Japanese quails: An ultrastructural study, Bull Vet Inst Pulawy, 49, 2005, 449-453.
4. Jacková, A.: Vplyv emisií oceliarní na hovädzí dobytok. Vedecká konferencia: Agroekologický potenciál Východoslovenskej nížiny z hľadiska produkčného,

- environmentálneho a ekonomického, Michalovce, September 2001. Zborník ISBN 80-968630-6-1, 99-102
5. Kottferová, J.: Vybrané minerálne látky, ich význam, interakcie a eliminácie z organizmu. Habilitačná práca, 2004, pp. 127.
 6. Kočišová, A., Petrovský, M., Toporčák, J., Nosál, P.: The potential of some insect growth regulators in housefly control., *Biológia*, 2004, 5, 661-668.
 7. Kožárová, I., Máté, D., Turek, P., Nagy, J.: Antikokcidiká z pohľadu hygieny potravín. *Slov. vet. čas.*, 22, 4, 1997, 205–208.
 8. Harstad, E.B., Klaasen, C.D.: iNOS-null mice are not resistant to Cd chloride-induced hepatotoxicity, *Toxicology*, 175, 2002, 83-90.
 9. Massanyi, P., Jančová, A., Uhrín, V.: Morphometric study of male reproductive organs in the rodent *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis*, *Bull Vet Inst Pulawy*, 47,1,2003,133-138.
 10. Underwood, E.J., N.F. Suttle: The mineral nutrition of livestock, CABI International Publishing, 1999, 585.
 11. Naginiene R., Abdrachmanovas O., Kregzdyte R., Ryselis S., 2002: Investigation of heavy metals in people with alopecia. *Trace Elements and Electrolytes*, 19, 2, 87–90.
 12. VÝNOS MP SR a MZ SR z 15. marca 2004 č. 608/3/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty v potravinách, 2. časť všeobecné požiadavky, 10. hlava kontaminanty v potravinách

Spracovanie príspevku bolo podporené projektmi: VEGA 1/0564/03, VEGA 1/1336/04, VEGA 1/1353/04

Kontaktná adresa:

MVDr. Beáta Koréneková, PhD., Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita Veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, korenekova@uvm.sk

RIZIKÁ POUŽITIA POPOL–POPOLČEKOVEJ ZMESI PRI PESTOVANÍ JACMEŇA JARNÉHO

THE RISKS OF ASH – ASH FLY MIXTURE USE IN SPRING BARLEY GROWING

Kováčik, P.

Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra

Abstract

The effect of ash – ash fly mixture (AFAM), applied separately or in a combination with NPK fertilizers, on the content of heavy metals in the soil and in the spring barley corn has been studied in a pot trial conducted on haplic luvisol in a vegetation cage located at Slovak Agricultural University in Nitra. Achieved results showed that the use of ash – ash fly mixture as well as NPK fertilizers increases the content of heavy metals in the soil but, as a result of AFAM ability to lower the soil acidity, the contents of only five metals have been increased in the corn (Pb, Cr, Cu, Ni, Fe) contrary to NPK fertilizers which have increased the content of eight (out of nine) metals. The variant with the NPK fertilizers had the contents of Cd, Pb, Zn, Co, Ni, Mn and Fe in the barley corn higher than the variant with ash – ash fly mixture.

At the end of the trial the content of evaluated heavy metals showed that the limit values of their content in the soil of all variants were not exceeded.

Key words.: ash – fly ash mixture, heavy metals, barley, NPK fertilizers

Úvod

Slovensko sa produkciou (popolov, popolčekov a ich zmesí) energetických odpadov na obyvateľa a km² zaraďuje do prvej desiatky štátov na svete. Pri celkovej ploche Slovenskej republiky 49 000 km² pripadá ročne na 1 km² cca 23,4 t popolčeka (Michalíková et al., 2003).

Likvidácia popolov a popolčekov, v zmysle zužitkovania ich pozitívnych vlastností, je v súčasnosti vo svete diskutovaným problémom, keďže sa jedná o prístupnú surovinu využiteľnú najmä v stavebníctve, ale i poľnohospodárstve, ktorá má potenciú predstavovať riziko pre životné prostredie.

Počiatky používania popola v poľnohospodárstve spadajú do obdobia jeho vzniku, čo je obdobie staroveku, kedy prví roľníci spozorovali, že na miestach bývalých zhorenísk rastú rastliny bujnejšie. Použitie popolčekov je taktiež tisícky rokov známe. Čínsky roľníci už v praveku miešali výkaly zvierat so sadzami a popolom a vzniknutú zmes kompostovali spolu so všetkými odpadmi z hospodárstva (Kováčik et al., 2006).

V súčasnosti z problematiky uplatnenia popolov a popolčekov v rastlinnej výrobe je najviac poznatkov z oblasti ich vplyvu na fyzikálne, chemické a biologické parametre pôdy, t.j. na sorpciu živín a možnosti mobilizácie a imobilizácie živín v pôde, na salinitu, pH a výživový potenciál, na pórovitosť a vodnú kapacitu (Campbell et al., 1983; Khanna et al., 1996; Pathan et al. 2002; Kováčik, 2005).

Napriek zisteným pozitívnym vplyvom popolov a popolčekov na viaceré parametre pôdy, s ich aplikáciou sú spojené riziká. Na vrchole rizík stojí nebezpečenstvo vnášania ťažkých kovov do pôdy a ich následného zapojenia do potravinového reťazca. Z toho dôvodu slovenská legislatíva v súčasnosti neumožňuje ich použitie v poľnohospodárstve, čo Kováčik et al., 2006 považujú za neopodstatnené, najmä z dôvodu, že medzi popolmi a popolčkami sú výrazné kvalitatívne rozdiely, v dôsledku čoho riziko inputu významných množstiev ťažkých kovov pri racionálnych dávkach hnojív môže byť minimálne.

Cieľom pokusu bolo zistiť potenciálne riziko aplikácie popol-popolčekovej zmesi produkovanej spoločnosťou US Steel Košice zvýšenia hladiny ťažkých kovov v pôde a hlavnom produkte modelovej plodiny.

Materiál a metódy

Nádobový pokus sa realizoval vo vegetačnej kletke umiestnenej v areáli Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre. Varianty pokusu uvádza tabuľka 1.

Tabuľka 1 Varianty pokusu

číslo	Variant	Dávka [g. nádoby ⁻¹]
	označenie	
1	0	-
2	PPZ ₁	24
3	NPK	3 N + 1 P + 2 K
4	NPK + PPZ ₁ (0,1%)	3 N + 1 P + 2 K + 24 TPZ
5	NPK + PPZ ₂ (1,0%)	3 N + 1 P + 2 K + 240 TPZ
6	NPK + PPZ ₃ (5,0%)	3 N + 1 P + 2 K + 1200 TPZ

PPZ₁ – základná dávka popol–popolčekovej zmesi

TPZ₂ - 10 – násobok základnej dávky popol–popolčekovej zmesi

TPZ₃ – 50 – násobok základnej dávky popol–popolčekovej zmesi

Do tridsaťkilogramových nádob sa navázila hnedozem modálna zmiešaná s kremičitým pieskom v pomere 2:1 (16 kg zeminy a 8 kg piesok). Do každej nádoby sa vysialo 100 zrn jačmeňa jarného (odroda Expres). Pokus mal 6 variantov so štvornásobným opakovaním. Dávky NPK hnojív boli vypočítané na základe rešpektovania obsahu N_{an} a prístupného P, K v hnedozemi modálnej a potreby NPK pre plánovanú úrodu. Základná dávka popol–popolčekovej zmesi (PPZ₁) predstavovala 24 g.nádoby⁻¹ a vychádzala z poznatkov použitia popolčekov pri pestovaní rastlín Cervelli et al. (1988). Dávka PPZ₂ bola 10 – násobkom (240 g.nádoby⁻¹) a PPZ₃ 50 – násobkom (1200 g.nádoby⁻¹) základnej dávky.

Obsah ťažkých kovov v pôde bol stanovený pred založením pokusu a po skončení pokusu metódou totálneho rozkladu pomocou lúčavky kráľovskej na atómovom absorpčnom spektrofotometri. Obsah celkových foriem ťažkých kovov v pôde pred založením pokusu uvádza tabuľka 2.

Tabuľka 2 Obsah celkových foriem ťažkých kovov a hodnota výmennej pôdnej reakcie v pôde pred založením pokusu

Pb	Cd	Co	Ni	Cr	Cu	Zn	Mn	Fe	pH _{KCl}
mg.kg ⁻¹									
15,8	0,50	9,8	17,8	20,4	13,6	36,4	434,8	17588	5,48

Obsahy ťažkých kovov v použitej popol-popolčekovej zmesi (tab. 2) boli stanovené pred založením pokusu metódou totálneho rozkladu pomocou HClO₄ + HF na atómovom absorpčnom spektrofotometri a neprekračujú limitné hodnoty ich obsahov dané pre pôdne pomocné látky využívané v poľnohospodárstve (Zb. z. 26/2001).

Tabuľka 3 Obsah celkových foriem ťažkých kovov v popol-popolčekovej zmesi

Pb	Cd	Hg	As	Co	Ni	Cr	Cu	Zn	Mn	Fe	pH _{KCl}
mg.kg ⁻¹											
< 5	< 1	0,366	< 0,04	34,0	34,0	34,27	28,0	26,8	960	49 560	12,35

Zber úrody zrna jačmeňa jarného sa vykonal v rastovej fáze (DC 91). Stanovil sa obsah ťažkých kovov na atómovom absorpčnom spektrofotometri pri predchádzajúcej mineralizácii pomocou HClO₄ + HNO₃.

Výsledky a diskusia

Obsahy sledovaných ťažkých kovov v pôde pred založením pokusu boli vyššie ako ich obsahy po skončení pokusu. Výnimkou bol obsah Cd, a to iba na variantoch 5. a 6 v ktorých boli aplikované zvýšené množstvá popol-popolčekovej zmesi (tab. 2 a 4). Zistené má mimoriadny význam z hľadiska poukázania na nerizikovosť použitia racionálnej dávky (3 – 4,5 t.ha⁻¹ v závislosti od objemovej hmotnosti) predmetnej zmesi a na schopnosť jačmeňa jarného prijať významné množstvá ťažkých kovov.

Tabuľka 4 Vplyv variantov pokusu na obsahy ťažkých kovov v pôde (celkové obsahy)

Variant		Pb	Cd	Co	Ni	Cr	Cu	Zn	Mn	Fe	pH _{KCl}
		mg.kg ⁻¹									
1	0	11,733	0,300	8,07	13,267	15,467	5,60	23,9	322,0	10308,0	5,63
2	PPZ ₁	14,000	0,367	9,40	15,333	18,867	9,27	31,0	410,0	12748,7	5,98
3	NPK	12,933	0,300	8,67	14,133	17,867	9,40	26,1	404,9	11603,3	5,74
4	NPK+PPZ ₁	9,267	0,473	6,33	10,800	11,867	6,67	20,9	258,9	8072,7	5,82
5	NPK+PPZ ₂	12,800	0,660	8,13	13,667	15,733	7,13	32,3	348,1	11234,0	6,24
6	NPK+PPZ ₃	13,000	0,593	7,80	13,400	15,667	7,27	32,8	337,2	10914,7	7,13
Hd _{0,05}		0,0235	0,0018	0,0173	0,0201	0,0177	0,2818	0,1503	1,5978	0,0784	0,4344
Hd _{0,01}		0,0335	0,0026	0,0246	0,0286	0,0251	0,4008	0,2138	2,2728	0,1115	0,6179

Porovnaním hladín ťažkých kovov zistených na jednotlivých variantoch pokusu sa zistilo, že aplikácia popol-popolčekovej zmesi (var. 2) v porovnaní s kontrolným variantom 1 vysoko signifikantne zvyšovala obsahy celkových foriem ťažkých kovov v pôde (tab. 4). Zistené hodnoty sú v súlade s poznatkami Chrenekovej a Lahučkého (1992) konštatujúcich, že vylepšenie vlastností pôd popolmi vytvára riziko prekročenia rozpätia bežných obsahov týchto zložiek v pôdach. V našom pokuse ani pri extrémne vysokých dávkach PPZ (cca 150 t.ha⁻¹) sa obsahy sledovaných ťažkých kovov nezvýšili tak, aby došlo k prekročeniu limitných hodnôt povolených obsahov v pôde (Zb. z. 220/ 2004) – As (25 mg.kg⁻¹); Cd (0,7 mg.kg⁻¹); Co (15 mg.kg⁻¹); Cr (70 mg.kg⁻¹); Cu (60 mg.kg⁻¹); Hg (0,5 mg.kg⁻¹); Ni (50 mg.kg⁻¹); Pb (70 mg.kg⁻¹) a Zn (150 mg.kg⁻¹).

Na predmetnom variante 2 napriek zvýšeniu hladín obsahov celkových foriem ťažkých kovov v pôde, bol vplyv popol-popolčekovej zmesi na hladinu ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného veľmi selektívny (tab. 5). Obsahy Co, Cd, Zn a Mn sa znížili. Pokles Co bol vysoko preukazný, Cd preukazný a Zn i Mn nepreukazný. Naopak obsahy ostatných kovov (Pb, Cr, Cu, Ni, Fe) sa zvýšili.

Zistenie, že so zvýšením hladiny celkových obsahov ťažkých kovov v pôde nemusí dochádzať k nárastu ich hladín v zrne súvisí s poznatkom, že o množstve absorbovaného kovu rastlinou významne rozhoduje podiel mobilnej frakcie. Mobilita živín je významne determinovaná pôdnou reakciou (Čurlík, 2003; Borůvka a Drábek, 2004). Z tohto aspektu je zrejmé, že ak aplikáciou popol – popolčekových zmesí sa zníži acidita pôd, napriek inputu ťažkých kovov do pôdy, ich obsah v pestovaných rastlinách môže byť výrazne nižší. Podobné poznatky publikovali Kováčik et al. (2001).

Použitie NPK hnojív (var. 3) zvyšovalo obsah ťažkých kovov v pôde menej výrazne (s výnimkou Cu) ako použitie PPZ (var. 2, tab. 4), avšak v dôsledku zaznamenania nižšej hodnoty pH na variante s NPK hnojivami ako na variante s PPZ sa v zrne jačmeňa jarného

dopestovaného na variante 3 zistili vyššie hladiny Cd, Pb, Zn, Co, Ni, Mn a Fe ako na var. 2. Zistený poznatok vytvára reálny predpoklad pre možné uplatnenie konkrétnej PPZ v poľnohospodárskej praxi a zvyrazňuje hygienicky význam pôdnej reakcie.

Spoločná aplikácia popol-popolčekovej zmesi spolu s NPK hnojením tlmila negatívny vplyv NPK hnojenia na zvyšovanie obsahu ťažkých kovov v pôde (var. 4, resp. 5 a 6 versus var. 3). So zvyšujúcou dávkou popol-popolčekovej zmesi sa však v pôde postupne zvyšoval obsah Pb a Cd (vysoko preukazne), čo je negatívne zistenie. U ostatných sledovaných prvkov (Cu, Mn, Fe, Co, Ni) môžeme potvrdiť všeobecne platný pozitívny trend znižovania ich obsahu v pôde po aplikácii popol-popolčekovej zmesi v interakcii s NPK hnojivami.

So zvyšujúcou sa dávkou popol-popolčekovej zmesi pri súčasnej aplikácii NPK hnojív sa však napriek zaznamenanému rastu obsahu Pb a Cd v pôde (var. 4, resp. 5 a 6 versus var. 3), znížili obsahy všetkých ťažkých kovov v zrne jačmeňa (okrem Mn a Fe).

Pri porovnávaní hladín kovov v zrne jačmeňa dopestovaného na variantoch 4, 5 a 6 sa zistilo, že s postupným zvyšovaním dávky PPZ aplikovanej v interakcii s NPK hnojivami sa obsah Pb, Ni zvyšovali nepreukazne, Co preukazne a Fe vysoko preukazne.

Tabuľka 5 Obsah kovov v zrne jačmeňa jarného (100% sušina)

Variant		Pb	Cd	Co	Ni	Cr	Cu	Zn	Mn	Fe
číslo	označenie	mg.kg ⁻¹								
1	0	0,4575	0,0900	0,2600	0,3425	0,3250	7,475	33,575	13,925	27,350
2	TPZ ₁	0,4750	0,0875	0,1575	0,3525	0,4600	7,550	30,900	13,425	30,925
3	NPK	0,5400	0,1225	0,4050	0,6825	0,3775	5,825	43,050	19,450	47,125
4	NPK+TPZ ₁	0,3250	0,1200	0,2675	0,5000	0,3525	5,050	37,325	16,725	42,125
5	NPK+TPZ ₂	0,3575	0,1050	0,2675	0,5100	0,3600	4,525	41,225	16,450	44,050
6	NPK+TPZ ₃	0,3750	0,1175	0,3225	0,5750	0,3325	5,700	40,225	19,675	54,225
Hd _{0,05}		0,1094	0,0096	0,0422	0,0703	0,0478	0,8080	3,2136	1,7334	6,4020
Hd _{0,01}		0,1512	0,0133	0,0583	0,0972	0,0661	1,1170	4,4428	2,3964	8,8507

Záver

Obsahy Pb, Co, Ni, Cr, Cu, Zn, Mn, Fe zistené v pôdach všetkých variantov na konci pokusu boli nižšie ako ich obsahy pred založením pokusu. Výnimkou bola iba hladina Cd na variantoch kde boli aplikované vysoké dávky popol-popolčekovej zmesi (30 – 150 t.ha⁻¹) spolu s NPK hnojivami.

Hladina hodnotených ťažkých kovov stanovená na konci pokusu v pôde všetkých variantov neprekračovala limitné hodnoty povolených obsahov.

Popol-popolčeková zmes tlmila pôdnu aciditu.

Použitie popol-popolčekovej zmesi a rovnako i NPK hnojív zvyšuje hladinu ťažkých kovov v pôde, avšak v dôsledku schopnosti PPZ tmiť pôdnu aciditu, jej použitie zvýšilo len obsahy piatich kovov v zrne (Pb, Cr, Cu, Ni, Fe) na rozdiel od NPK hnojív ktoré zvýšili hladinu ôsmich kovov z deviatich. Na variante s NPK hnojivami sa v zrne jačmeňa jarného zistili vyššie hladiny Cd, Pb, Zn, Co, Ni, Mn a Fe ako na variante s popol-popolčekovou zmesou.

Literatúra

1. BORŮVKA, L. – DRÁBEK, O. 2004. Heavy metal distribution between fractions of humic substances in heavily polluted soils. In: Plant, soil and environment. roč. 49. 2004. Č. 8, s. 339 – 345.
2. CAMPBELL, D. J. – FOX, W. E. – AITKEN, L. – BELL, L. C. 1983. Physical characteristics of sands amended with fly ash. Australian J. Soil Res., 21, 1983, č. 2, s. 147 – 154.

3. CERVELLI, S. - PETRUZZELLI, B. - PERNA, A. - BONARI, E. 1988. Efficient use of nitrogen fertilizers in the presence of waste materials (fly ashes). In: Nitrogen efficiency in agricultural soils. Els. App. Science London and New York. 1988, p. 158- 170
4. ČURLÍK, J et al. 2003. Pôdna reakcia a jej úprava. Bratislava: Suma Print, 2003. 250 s. ISBN 80-967696-1-8.
5. Hycnar, J. – Romańczyk, E. 1988. Zagospodarowanie odpadów górniczych i elektrowniannych. In: Energopomiar, Katowice.
6. Chreneková, E. – Ľahučký, L. 1992. Riziko aplikácie popola do pôdy. In: Pedológia a meliorácie. 1992 (1); s. 51 – 57.
7. KHANNA, P. K. – LUDWIG, B. – RAISON. R. J. (1996): Comparing modelled and observed effects of ash additions on chemistry of a highly acid soil. Australian Journal of Soil Research. Vol. 34, 1996, No. 6, p. 999 – 1013.
8. KOVÁČIK, P. – VARGA, L. – DUCSAY. L. (2001): Pestovateľské substráty. Nitra : VES SPU v Nitre. 2001, 89 s. ISBN: 80-7137-875-5.
9. KOVÁČIK, P. (2005): Výživa a hnojenie rastlín v ekologickom poľnohospodárstve. In: Bartošová et al., Udržateľné a ekologické poľnohospodárstvo. Ves SPU Nitra : 2005, s. 311 – 388, ISBN – 80-8069-556-3.
10. KOVÁČIK, P. 2006. Vplyv trosko-popolčekovej zmesi na parametre úrody jačmeňa jarného. In: Agrochémia, X. (46), 2006, č. 2, s.21 – 26.
11. MICHALÍKOVÁ, F. – FLOREKOVÁ, Ľ – BENKOVÁ, M. 2003. Vlastnosti energetického odpadu – popola. Košice: TU, 2003. 226 s. ISBN 80-8087-054-7.

Príspevok vznikol na základe riešenia grantového projektu **VEGA č. 1/1346/04**

VPLYV APLIKÁCIE ČADIČOVÝCH VÁT NA HLADINU ŤAŽKÝCH KOVOV V ZRNE JAČMEŇA JARNÉHO

THE EFFECT OF ROCK WOOLS ON THE CONTENT OF HEAVY METALS IN THE SPRING BARLEY CORN

Kováčik, P.

Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra

Abstract

The effect of soil additives (Nobasyp and Agrodrap) on the content of spring barley corn has been studied in a pot trial conducted in a vegetation cage located at the Slovak Agricultural University in Nitra (48° 18' N, 18° 05' E) on haplic luvisol with low supplies of N and P and high supplies of K and humus. Achieved results showed that the amount of used Nobasyp and Agrodrap of 10 to 20 t.ha⁻¹ does not represent a bigger risk from the viewpoint of heavy metals cumulating in the spring barley corn than the use of rational doses of NPK fertilizers. No application of fertilizers or soil additives does not guarantee that the grown plants will have low content of heavy metals.

Key words: rock wools, soil additives, heavy metals, barley

Úvod

Nepriame hnojivá nie sú významnými nositeľmi živín, avšak ich pôsobením na fyzikálne, chemické a biologické parametre pôdy (objemová hmotnosť, tepelná vodivosť a tepelná kapacita, sorpčná kapacita, pH, druhové zastúpenie pôdneho edafónu), prípadne priamo na rastlinu, dochádza k lepšiemu využitiu živín z pôdy, hospodárskych hnojív, mletých hornín, prípadne k intenzívnejšej fixácii vzdušného dusíka a následne k tvorbe vyšších a často krát i kvalitnejších úrod. Nepriame hnojivá sú vo väčšine prípadov vedľajšími produktmi stavebnického, hutníckeho, textilného, energetického a potravinárskeho priemyslu. Keďže vznikajú ako odpadový produkt ich realizačná cena je takmer nulová a i preto sa v poslednom období, zo strany poľnohospodárskej praxe, zvyšuje o ne záujem. Na strane druhej nie je možné používať odpadové materiály bez ich detailnej analýzy ktorá musí predchádzať ich certifikácii ako pôdnych pomocných látok (Kováčik, 2006).

Slovenská vedeckovýskumná základňa venuje problematike pôdnych pomocných látok pomerne malú pozornosť. Najlepšie sú zdokumentované vlastnosti a účinky materiálov používaných v okrasnom záhradníctve, resp. zeleninárstve (íly, keramzity, zeolity, antuky, škváry, penoplasty, kôra, ihličie, kokosové vlákna, atď). Keďže čadičové vaty sa vyznačujú vysokou pórovitosťou, ktorá je vždy vyššia ako 90 %, dobrou vodnou kapacitou, ktorá neklesá pod 80 %, minimálne 95 %-nou pružnosťou, 200 a viac %-nou nasiakavosťou (Kováčik et al., 2001), možno ich považovať za potenciálne dobré nepriame hnojivá (Kováčik, 2005). Na Slovensku pre účely nepriamych hnojív možno z čadičových vát využiť dva domáce produkty: Agroban a Nobasyp. Nobasyp je sypkého charakteru a je to recyklovaný nepoužitý tepelno izolačný materiál uplatňujúci sa v stavebníctve pod komerčným názvom Nobasyl. Agrodrap je recyklovaný nepoužitý Agroban a je získaný drápaním Agrobanu. Agroban je komerčne nazývaná čadičová (kamenná) vlna uplatňovaná v záhradníctve pri hydroponických systémoch pestovania rastlín.

Cieľom nášho pokusu bolo zistiť vplyv čadičových vát aplikovaných do pôdy na hladinu ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného.

Materiál a metódy

V nádobovom pokuse realizovanom vo vegetačnej kletke nachádzajúcej sa v areály SPU v Nitre (48° 18' N, 18° 05' E) na hnedozemi modálnej s nízkou zásobou N_{an} a P a vysokou zásobou K a humusu sa sledoval vplyv nepriamych hnojív (Nobasypu a Agrodrapu) na hladinu ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného.

Do tridsať kilogramových nádob sa navážilo 23,5 kg hnedozeme modálnej, ktorej agrochemické parametre sú uvedené v tabuľke a ich metódy stanovenia pod tabuľkou 1. Do každej nádoby sa vysialo 100 zrn jačmeňa jarného (odroda Expres) a následne sa povrch pôdy zapieskoval sterilným pieskom (1,5 kg), v dôsledku čoho celková hmotnosť zeminy bola 25 kg. Po vzídení jačmeňa sa počet jedincov vytrhaním zjednotil na 75 rastlín na nádobu. Vlhkosť zeminy sa udržiavala na hladine 60 % PVK pravidelným polievaním vodou. Pokus mal 8 variantov so štvornásobným opakovaním (tab. 2).

Obsahy ťažkých kovov v pôde boli stanovené na atómovom absorpčnom spektrofotometri po predchádzajúcom rozklade pomocou lúčavky kráľovskej.

Tabuľka 1 Agrochemické parametre pôdy a materiálov použitých v nádobovom pokuse

Materiál	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N _{an}	P	K	Ca	Mg	pH _{KCl}	EC μS.cm ⁻¹	CaCO ₃
	mg.kg ⁻¹									
Pôda	6,6	2,2	8,8	31,9	339	2050	331,5	5,48	,03	,96
Agrodrap	10,12	0,45	10,57	34,5	602	3850	331,5	10,1	0,19	1,89
Nobasyp	7,66	3,15	10,81	30,5	618	9100	361,5	10,08	0,19	3,29

pH_{KCl} – (1,0 M KCl), N-NH₄⁺ – (kolorimetricky, Nesslerovo činidlo)

N-NO₃⁻ – (kolorimetricky, kyselina phenol – 2,4 disulphónová), N_{an} – (N-NH₄⁺ + N-NO₃⁻)

P – (kolorimetricky, Mehlich II), K – (plameňová fotometria, Mehlich II)

Mg – (atómový absorpčný spektrofotometer, Mehlich II), EC – potenciometricky

Tabuľka 2 Varianty pokusu

číslo	Variant	Dávka [g. nádobu ⁻¹]
	označenie	
1	0	-
2	NS ₁	20 t.ha ⁻¹
3	AD ₁	20 t.ha ⁻¹
4	NPK	6g + 3g + 2g
5	NPK + NS ₁	6g + 3g + 2g + 20 t.ha ⁻¹
6	NPK + NS _{1/2}	6g + 3g + 2g + 10 t.ha ⁻¹
7	NPK + AD ₁	6g + 3g + 2g + 20 t.ha ⁻¹
8	NPK + AD _{1/2}	6g + 3g + 2g + 10 t.ha ⁻¹

NS = Nobasyp (NS₁ -167g a NS_{1/2} - 83g na nádobu) AD = Agrodrap (AD₁ -167g a AD_{1/2} - 83g na nádobu)

Výsledky a diskusia

Exaktnými chemickými analýzami stanovené parametre prezentované v tabuľkách 3 a 4 potvrdzujú poznatky Kováčika (2002), Borůvky a Drábeka (2004), že neaplikácia priemyselných hnojív, resp. pôdných pomocných látok do pôdy nezaručuje dopestovanie produktov s najnižším obsahom kovov (var. 1). Naopak, pestovanie rastlín na pôdach nedostatočne saturovaných živinami môže rezultovať vo zvýšený príjem ťažkých kovov.

Použitie NPK hnojív spôsobilo nárast obsahov Cd, Hg, Zn, Co, Mn a Fe v zrne jačmeňa jarného, pričom nárasty Cd a Mn boli vysoko preukazné a Co a Fe preukazné (var.4 versus var.

1). Tak významné nárasty hladiny ťažkých kovov v zrne nie je možné pripísať na vrub ich inputu priemyselnými hnojivami, ale najmä účinku hospodárskych hnojív na pôdnu organickú hmotu, na zintenzívnenie procesu mineralizácie organických látok v pôde a následne na uvoľnenie ťažkých kovov z relatívne stabilných organických väzieb (Bielek, 1998).

Tabuľka 3 Vplyv čadičových vát na obsahy Cd, Pb, Hg, As, Cr, Zn v zrne jačmeňa jarného

Variant		Cd	Pb	Hg	As	Cr	Zn
číslo	označenie	mg.kg ⁻¹					
1	0	0,0767	0,7200	0,0083	0,4041	0,3333	31,63
2	NS ₁	0,0767	0,6467	0,0234	0,465	0,3000	30,00
3	AD ₁	0,0800	0,7433	0,0065	0,5266	0,2900	32,37
4	NPK	0,1233	0,5333	0,0145	0,391	0,2567	35,57
5	NPK + NS ₁	0,1300	0,7133	0,0083	0,4615	0,3533	36,20
6	NPK + NS _{1/2}	0,1167	0,7000	0,0027	0,5106	0,3533	34,00
7	NPK + AD ₁	0,1233	0,6867	0,0032	0,4863	0,4000	35,00
8	NPK + AD _{1/2}	0,1300	0,8333	0,0075	0,3965	0,3900	34,53
Hd_{0.05}		0,0123	0,3290	0,0115	0,1154	0,0969	4,0068
Hd_{0.01}		0,0171	0,4566	0,0159	0,1602	0,1345	5,561

Tabuľka 4 Vplyv čadičových vát na obsahy Cu, Co, Ni, Mn, Fe v zrne jačmeňa jarného

Variant		Cu	Co	Ni	Mn	Fe
číslo	označenie	mg.kg ⁻¹				
1	0	10,7333	0,1667	0,2433	9,36	38,80
2	NS ₁	7,6667	0,2333	0,3767	8,67	34,33
3	AD ₁	8,6000	0,2233	0,2434	9,13	33,37
7	NPK	6,0670	0,2100	0,2433	16,67	42,83
8	NPK + NS ₁	5,1670	0,2767	0,2700	14,67	39,47
9	NPK + NS _{1/2}	5,1333	0,2100	0,4300	14,73	41,37
10	NPK + AD ₁	5,7333	0,2667	0,4100	15,43	41,17
11	NPK + AD _{1/2}	5,3667	0,1567	0,4100	14,97	37,23
Hd_{0.05}		2,1393	0,0332	0,0932	1,0856	3,6664
Hd_{0.01}		2,9691	0,0461	0,1294	1,5066	5,0885

Zpracovanie nepriameho hnojiva Nobasypu (var. 2), na rozdiel od NPK hnojív, vysoko preukazne zvýšilo iba obsah Ni a preukazne Hg a Co.

Použitie Agrodapu nezvýšilo vysoko preukazným spôsobom ani jeden zo sledovaných kovov. Preukazne zvýšil dva kovy, a to As a Co. Na strane druhej znížil obsahy Hg, Cr, Cu Mn a Fe.

Porovnávaním interakčného pôsobenia NPK hnojív s Nobasypom a NPK hnojív s Agrodapom sa zistilo, že pri Agrodape sú obsahy Cd, Pb, Hg, Zn a Co nižšie a naopak obsahy As, Cr, Cu, Ni a Zn vyššie.

Zníženie dávok čadičových vát na polovicu, pri ich spoločnej aplikácii s NPK hnojivami nemalo jednoznačný účinok na hladinu ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného.

Záver

Použitie Nobasypu a Agrodrapu v množstvách 10 až 20 t.ha-1 nepredstavuje z aspektu kumulácie ťažkých kovov v zrne jačmeňa jarného väčšie riziko, ako použitie racionálnych dávok NPK hnojív. Nepoužívanie priamych a nepriamych hnojív nie je zárukou dopestovania rastlín so zníženým obsahom ťažkých kovov.

Literatúra

1. BIELEK, P.1998. Dusík v poľnohospodárskych pôdach Slovenska: Bratislava: VÚPÚ, 1998, 255 s, ISBN 80-85361-44-2
2. BORŮVKA, L. – DRÁBEK, O. 2004. Heavy metal distribution between fractions of humic substances in heavily polluted soils. In: Plant, soil and environment. Roč. 49. 2004. Č. 8, s. 339 – 345.
3. KOVÁČIK, P. – VARGA, L. – DUCSAY, L. 2001. Pestovateľské substráty. Nitra : VES SPU v Nitre. 2001, 89 s. ISBN: 80-7137-875-5.
4. KOVÁČIK, P. 2002. Vzťah pôda, rastlina, človek z hľadiska výživy rastlín : Habilitačná prenáška. Nitra : SPU, 31. X. 2002.
5. KOVÁČIK, P. 2005. Výživa a hnojenie rastlín v ekologickom poľnohospodárstve. In: Lacko-Barošová, M. a kol.: Udržateľné a ekologické poľnohospodárstvo. Nitra : SPU, 2005, 575 s. ISBN 80-8069-556-3.
6. KOVÁČIK, P. 2006. Vplyv trosko-popolčekovej zmesi na parametre úrody jačmeňa jarného. In: Agrochémia, X. (46), 2006, č. 2, s.21 – 26.

Príspevok vznikol na základe riešenia grantového projektu **VEGA č. 1/1346/04**

MICROWAVE PASTEURIZATION

Kovácsné L.M., Sembery P., Géczi G.

Szent István University, Gödöllő, Hungary

Abstract

Pasteurization is applied in milk processing, beer production, canning industry technologies and in several other fields where the aim of the treatment is to reduce the number of harmful microorganisms. Pasteurization therefore leads to an improvement in the lifetime of products and better food safety. Pasteurization is almost always a so-called critical control point (CCP) in quality management systems and therefore has to be controlled, appropriately documented and regulated. This research proves that microwave heat production is a good solution by environmental aspects in addition to meeting the above-mentioned requirements.

In Hungary neither the dairy industry nor other technologies for liquid food processing (for example: beer production or soft drink pasteurization) make use of the opportunities provided by microwave technology. The reason for that is that the electric field is not homogeneous. Due to the inhomogeneity of the electric field, temperature is not the same at every point of the product therefore the uniform sterilization is not provided.

An appropriate continuously operating microwave device was set up to make possible the microwave pasteurization of liquid food products. The effect of the heat treatments on milk was estimated by measuring the number of germs killed by carrying out phosphatase and peroxidase tests and measuring milk fat, protein, lactose and solids-non-fat (SNF). An appropriate temperature-time combination gave negative result for the phosphatase test and the number of germs was low. The results show that the microwave heat treatment of milk can be an effective and mild way of milk pasteurization.

Introduction

Milk is a complex biological liquid produced by the mammary glands of mammals. Microorganisms – that can always be found in milk – reduce the quality of milk and worsen its durability. Harmful microorganisms have to be killed, which can only be achieved by heat treatments. A heat treatment is understood as a treatment on 71,7°C for 15 seconds or another treatment that is equal to that according to time and temperature, since the efficiency of killing microorganisms depends on the temperature of the treatment and the holding period. In traditional technologies milk is heated to approximately 72 °C then followed by a holding period of about 1 to 2 minutes. In the case of ultra-high-temperature (UHT) treatment the safety of milk is provided by a 4 to 6 seconds holding period on 140 °C.

Since the first study about milk pasteurization by microwave heating was published (Hamid et al., 1969), several other studies have been released in connection with the microwave heat treatment of milk. The studies mainly focus on investigating the process from a microbiological point of view (Knutson et al., 1988; Thompson & Thompson, 1990).

Although the chemical reactions and changes due to the microwave radiation are known, only a few studies deal with the chemical changes in milk caused by microwave heating. Lubec et al., 1989 found that milk treated by microwave is dangerous for human health, because of the increased amount of D-amino acid in it.

Further studies showed that there is no significant difference between the isomerization of milk heated by conventional methods and by microwave (Dehne et al., 1992; Marchelli et al., 1992).

As the measurement technology of dielectric properties developed and more information became available on the electromagnetic field, microwave heat production became more and more popular (Ashim, 2001).

Microwave is an electromagnetic wave in the 300 MHz and 300 GHz range. However only frequencies 915 MHz, 2.45 GHz, 5.8 GHz and 24.124 GHz are allowed to be used in the food industry because of food safety concerns. Microwave energy is usually produced by a magnetron. Then microwave is driven to a leak-proof cavity where it is converted to an electromagnetic field which is suitable for treating food. The energy dissipating in the product put in this field results in a temperature-rise ΔT ($^{\circ}\text{C}$) which can be expressed with the equation as follows:

$$P_d = c \cdot m \cdot \Delta T \quad (1)$$

where c (kJ/kg $^{\circ}\text{C}$) is the specific heat of the material and m (kg/s) is the mass flow of the dielectric. (NMAB, 1994).

Material and Method

Raw milk of 3,7% fat-content – originating from healthy cows – from the dairy-farm of the University was used for the tests. A continuously operating microwave pasteurizer (MWP) was set up in laboratory size for the pasteurization process. Figure 1 shows the draft of the microwave measuring circle.

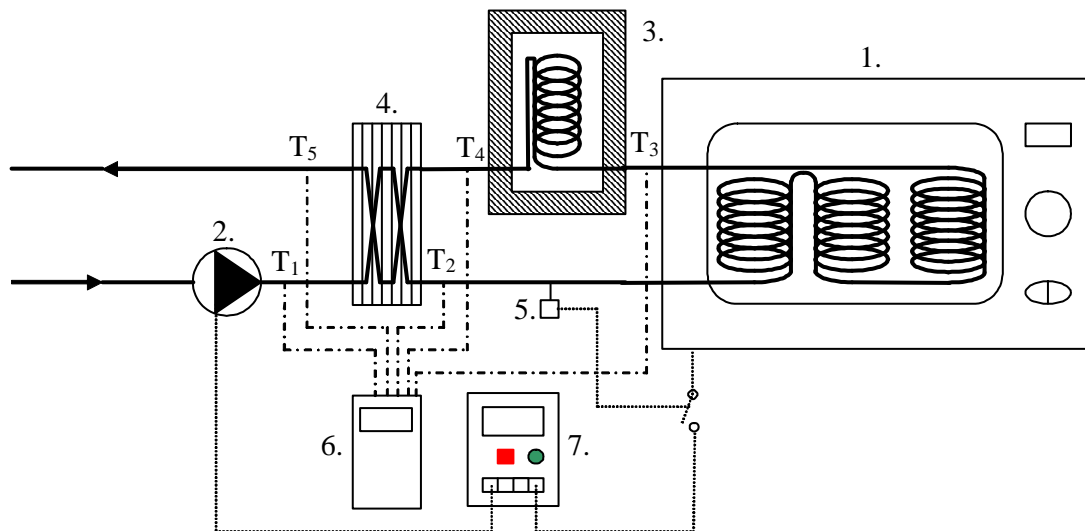


Figure 1: Continuously operating pasteurizer in laboratory circumstances

1- Whirpool AT 314 microwave oven with spiral insets, 2- STENNER 85M5 feeding pump, 3- holding period, 4- Alfa-Laval plate heat exchanger, 5- flow sensor, 6- ALMEMO 2590-9 thermometer, 7- ACTARIS SL7000 consumption meter

As the first step of the experiment two 7 mm diameter holes were bored on the side of a traditional household microwave oven (Whirpool AT 314 MW) 8 cm from each other in order to drive the liquid into and out of the oven. The diameter and the distance of the holes were calculated so that the oven can operate safely. Then a feeding pump (STENNER 85M5), a mass meter (XP-3000), a volume meter, a stopwatch and a thermometer (ALMEMO 2590-9) were attached to the microwave oven (already equipped with glass spiral insets). Then the measuring circle was extended with a plate heat exchanger with heat recovery (Alfa-Laval), holding period, a flow sensor, a consumption meter (ACTARIS SL7000).

The heat measurement points are as follows: T_1 is the initial temperature, T_2 is the temperature of the pre-heated material, T_3 is the temperature of the product leaving the microwave oven, T_4 is the temperature of the material after the holding period and T_5 is the temperature of the pre-cooled product.

The microwave measuring circle shown in Figure 1 makes it possible to adjust the volume flow Q (cm^3/s) of the pump and to replace the spirals with other ones in the oven and therefore modify the length l_{spiral} (cm) of the spirals. Both the change in the volume flow and the length of the spirals make it possible to modify the time t_t (s) that the liquid spends in the cavity which obviously has an effect on the rate of heating.

An inset of 30 spirals was put in the oven which means that the amount of liquid in the microwave field at a given time was $0,7 \text{ dm}^3$ while the complete length was 36 meters. The ideal pasteurization temperature (72°C) for milk was provided in seven stages which means a $2,4 \text{ cm}^3/\text{sec}$ volume flow. With this adjustment the milk spends more than 4 minutes in the microwave oven, which is followed by a holding period of 60 seconds.

In order to make a good comparison, a part of the milk samples were treated by a milk pasteurizer with plate heat exchanger (PHE) also on 72°C with a holding period of 1 minute and then were pasteurized by the ultra-high-temperature method (UHT) as well. Microbiological and chemical examinations were carried out for both pasteurized and raw milk samples.

The effectiveness of the heat treatments were determined by tests on lactose, milk fat, protein, the changes in solids-non-fat (SNF), the amount of the germs killed and by phosphatase and peroxidase tests.

The total number of microbes in milk was determined by colony count in accordance with the Hungarian standard MSZ ISO 6610:1993.

Chemical tests were carried according to the MSZ 3710:1987 Hungarian standard in the Central Laboratory of the Pest Megyei Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás (Animal Health and Food Controlling Station of Pest County, Hungary). The tests were evaluated at the Milk Laboratory of the University with a machine called Milko Scan 1338.

Results

The treatments were repeated on five different days and all five investigations gave similar results. The samples used on each day are marked by roman numbers.

During the tests the amount of lactose, milk fat, milk protein and solids-non-fat (SNF) were determined separately. According to the data that can be found in professional literature, the amount of some of the macro ingredients can vary between the following values, depending on the number of the cows in a stock: milk fat: 3,2-3,8 g/100ml; milk protein: 3,2-3,8 g/100ml; solids-non-fat (SNF): 8,8-9,0 g/110ml; lactose: 4,5-4,8 g/100ml. Our measurements show that the results fall in the above mentioned interval, therefore it is concluded that neither conventional heating, nor microwave heating changed the ingredients of milk (lactose, milk fat, milk protein and solids-non-fat).

Milk pasteurization can only be considered efficient and protective if the phosphatase test is negative and the peroxidase test is positive. The results are shown in Table 1.

Table 1

Samples	Phosphatase test					Peroxidase test				
	I.	II.	III	IV	V.	I.	II.	III	IV	V.
Raw milk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>MWP</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PHE	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
UHT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

The data in the Table 1 shows that the phosphatase test was negative and the peroxidase test was positive for the samples pasteurized by the microwave heat exchanger and the plate heat exchanger, which means that the heat treatment was efficient and protective in both cases. Milk is exposed to higher heat load on higher temperature which can make an unfavourable effect on the level of pasteurization for example in the case of UHT treatment.

It is obvious that the investigations did not aim at raw milk therefore both the phosphatase and the peroxidase tests are positive.

The initial number of bacteria in raw milk was between $6,45 \times 10^4$ /ml and $7,15 \times 10^4$ /ml. Figure 2 clearly shows that the reduction in the number of bacteria by our microwave heat treatment was equal to that of traditional technologies.

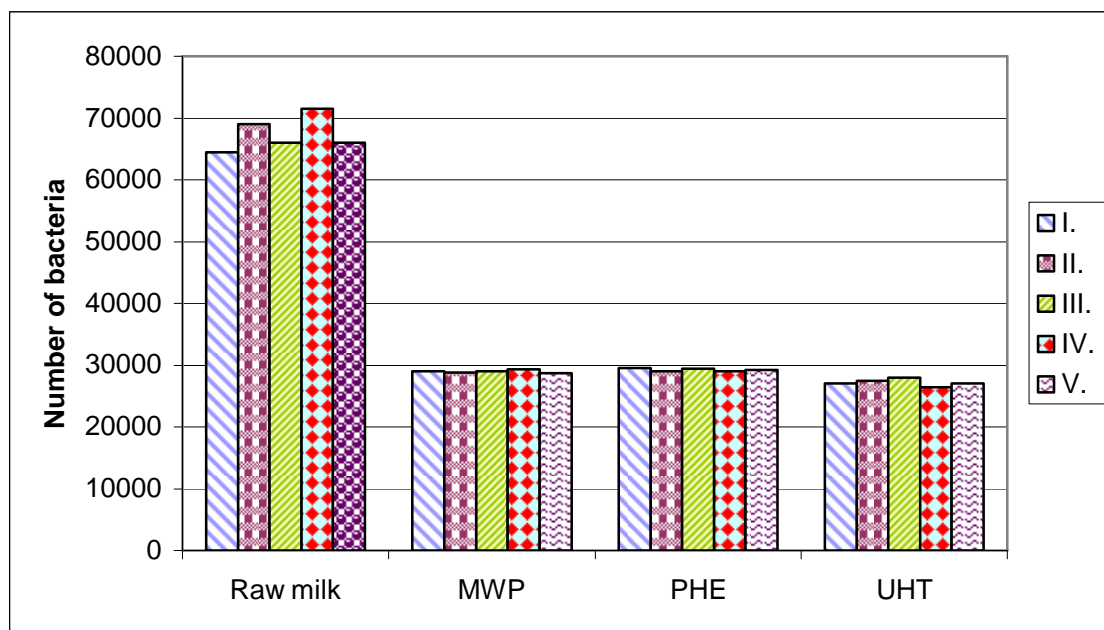


Figure 2: Number of bacteria as a function of the type of heat treatment

References

1. ASHIM K. DATTA (2001): Handbook of Microwave Technology for Food Applications. Cornell University Ithaca, New York. Marcel Dekker, Inc. USA
2. DEHNE, L. I., FRITZ, P., ZAGON, J. & BOEGL, K.W. (1992): Does microwave heating cause isomerization of amino acids? Bundesgesundheitsblatt, 35, 463-464.
3. HAMID, M.A.K., BOULANGER, R.J., TONG, S.C., GALLUP, R.A. & PEREIRA, R.R. (1969): Microwave pateurization of raw milk. J. Microwave Power, 4, 272-275.
4. KNUTSON, K.M., MARTH, E.H. & WAGNER, M.K. (1988): Use of microwave ovens to pateurize milk. J. Food Protect., 51, 715-719.
5. LUBEC, G., WOLF, C. & BARTOSCH, B. (1989): Aminoacid isomerization and microwave exposure. Lancet, 334, 1392-1393.
6. MARCHELLI, R., DOSSENA, A., PALLA, G., AUDHUY-PEAUDECERF, M., LEFEUVRE, S., CARNEVALI, P. & FREDDI, M. (1992): D-aminoacids in reconstituted infant formula: a comparions between conventional and microwave heating. J. Sci. Food Agric., 59, 217-226.
7. THOMPSON, J.S. & THOMPSON, A. (1990): In home pasteurization of raw goat's milk by microwave treatment. Int. J. Food Microbiol., 10, 59-64.

8. National Materials Advisory Board (1994). Microwave Processing of Materials, National Academy Press, Washington D.C. 150 p.

This research is subsidized by program T043320 of the Hungarian Scientific Research Fund.

POROVNÁVACIA ŠTÚDIA DETEKČNEJ CITLIVOSTI MIKROBIÁLNYCH INHIBIČNÝCH TESTOV NA ANTIKOKCIDIKÁ

COMPARATIVE STUDY OF DETECTION SENSITIVITY OF MICROBIAL INHIBITION TESTS TO ANTICOCCIDIALS

Kožárová, I.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

Microbial inhibition tests (MIT) form the basis of screening in detection of presence of antibiotic and sulphonamide residues in food producing animals and their products. MIT must indicate the presence of the investigated substance in examined matrices in concentrations equal to maximum residue limit (MRL) set. Despite the fact that it is now mandatory to include the monitoring of residues of anticoccidial drugs in the national residue-testing programmes, a serious weakness exists due to a lack of suitable screening tests. The objective of this paper was, therefore, to evaluate the detection sensitivity of Premi[®] Test, *Bacillus stearothersophilus* disc assay (BSDA), Four-plate test (FPT) and Screening test for determination of antibiotic residues (STAR) to selected types of anticoccidials under *in vitro* conditions. Results showed that MIT are not sensitive for chemical anticoccidials like amprolium, diclazuril, nicarbazin and robenidine, however, they allows a detection of ionophores, furazolidone and sulphadimidine at a concentration range close to the MRL.

Úvod

Antikokcidiká (ATK) sú kŕmne doplnkové látky cielene aplikované v chove hydiny za účelom prevencie a kontroly kokcidiózy. Kokcidióza predstavuje jedno z ekonomicky najzávažnejších parazitárnych ochorení a chov hydiny, spojený s výrobou hydinového mäsa a vajec, by vzhľadom na závažnosť tohto ochorenia a nesmierny ekonomický dopad bol bez zapracovania antikokcidík vo forme premixov do kŕmnych zmesí prakticky nemožný. Podávanie antikokcidík však predstavuje chemoterapeutický prístup ku kontrole kokcidiózy v chove hydiny spojený s rizikom prítomnosti rezíduí týchto látok v živočíšnych produktoch hydiny. Prítomnosť rezíduí antikokcidík v živočíšnych produktoch hydiny predstavuje potenciálne riziko pre konzumenta a nesmie byť podceňovaná.

Vzhľadom k potencionálnemu riziku ohrozenia zdravia ľudí, ale aj výroby bezpečných a kvalitných potravín je kontrola rezíduí týchto látok u zvierat produkujúcich potraviny a v živočíšnych produktoch týchto zvierat vrátane hydiny v súčasnosti povinná a právne podložená (Smernica Rady 96/23/ES; Nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 320/2003 Z. z. v znení neskorších predpisov).

Mikrobiologické metódy sú neodmysliteľnou súčasťou prvotnej depistáže súčasného dvojrstvového testovacieho systému uplatňovaného v zmysle ustanovení rozhodnutia Rady 93/257/EHS v úradných laboratóriách pri kontrole rezíduí veterinárnych liečiv v živočíšnych produktoch zvierat produkujúcich potraviny. Mikrobiologické metódy predstavujú agarové difúzne testy, označované aj ako mikrobiálne inhibičné testy (MIT), princípom ktorých je inhibícia rastu testovacieho kmeňa prítomnou farmakologicky aktívnou, resp. inhibičnou látkou. Inhibícia rastu testovacieho kmeňa v agarovom médiu je prezentovaná tvorbou inhibičných zón (difúzna disková platňová metóda), resp. zmena farby indikátora (brómtymolová modrá, briliantová čerň) podmienená poklesom hodnoty pH v dôsledku aktívneho metabolizmu testovacieho kmeňa v neprítomnosti inhibítora nie je pozorovaná

(difúzna metóda v liekovkách, resp. testovacích skúmavkách alebo mikrotitračných platničkách) (Kožárová a Hussein, 2004; Kožárová, 2005).

Antikokcidiká vykazujú veľké variácie molekulárnej štruktúry, ale aj fyzikálno-chemických vlastností a biologickej, resp. antibakteriálnej aktivity. Antibakteriálny účinok niektorých látok zo skupiny antikokcidík je však možné využiť aj ako detekčný princíp depistážneho stanovenia. Vzhľadom na uvedenú skutočnosť, predmetom našej práce bolo zhodnotiť detekčnú citlivosť MIT na antikokcidiká, stanoviť minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) a detekčné limity metód (LOD) pre jednotlivé látky zo skupiny antikokcidík.

Materiál a metodika

Difúzna metóda v liekovkách: Premi[®]Test (DSM Food Specialities, Holandsko) (Vestník Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky, čiastka 1, 11, 2004).

Diskové difúzne platňové metódy: Mikrobiologická metóda s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (BSDA), mikrobiologická metóda štvorplatňová (FPT) (Bogaerst a Wolf, 1980), screeningový test na stanovenie rezíduí antibiotík s použitím bakteriálnych kmeňov (metóda STAR) (Vestník Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky, čiastka 1, 11, 2004).

Štandardy ATK: *amprólium* (Sigma A 0542), *diklazuril* (Chromservis C 12533000), *furazolidón* (Sigma F 9505), *lasalocid* (Sigma L 1021), *maduramycín* (Chemos GMB 84878-61-5), *monenzín* (Sigma M 5273), *narazín* (Sigma N 1271), *nikarbazín* (Sigma N 3905), *robenidín* (Chromservis C 16815400), *salinomycín* (Sigma S 4526) a *sulfadimidín* (Sigma S 5637).

Roztoky ATK: Zásobné roztoky ATK s koncentráciou 500 µg.ml⁻¹ boli pripravené riedením jednotlivých štandardov ATK v príslušných riediacich roztokoch (metanol, dimetylformamid, sterilná destilovaná voda). Pracovné roztoky ATK boli pripravené riedením zásobných roztokov ATK sterilnou destilovanou vodou na koncentrácie od 0,005 µg.ml⁻¹ do 50 µg.ml⁻¹. Roztoky ATK boli uchovávané v chladničke pri teplote +4 °C.

Postup skúšania (difúzne metódy v liekovkách): 0,1 ml reziduálnej koncentrácie príslušného štandardu ATK sa pomocou dávkovacej pipety aplikovalo do liekoviek vyplnených agarovým živným médiom obsahujúcim testovací kmeň *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. Ako negatívna kontrola sa do liekoviek aplikovalo 0,1 ml sterilnej destilovanej vody.

Inkubácia a vyhodnotenie výsledkov: Liekovky sa inkubovali v termobloku pri teplote 64 ± 0,5 °C po dobu 3 – 3 ½ hodín. Ukončenie screeningu bolo podmienené zmenou farby negatívnej kontroly. Pri posudzovaní výsledkov sa hodnotila farba dolných dvoch tretín agaru. *Žlté sfarbenie* pevného média udáva, že sledované látky nie sú testom detegovateľné. *Fialové sfarbenie* pevného média udáva, že sledované látky sú testom detegovateľné a *žlté/fialové sfarbenie* pevného média udáva, že sledované látky sú detegovateľné na úrovni LOD metódy.

Postup skúšania (diskové difúzne platňové metódy): Na povrch testovacích agarových platní (pri *Bacillus subtilis* BGA /pH 7,2/ a *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149 prídavok trimetoprimu /Sigma T 7883/ v koncentrácii 0,05 a 0,5 µg.ml⁻¹ agaru) sme paralelne ukladali sterilné papierové disky (Whatman 1, priemer 9 mm), na ktoré sme naniesli 100 µl známej koncentrácie testovaných štandardov ATK. Kontrolné roztoky antibiotík o predpísanej koncentrácii boli použité ku kontrole citlivosti šarže jednotlivých testovacích agarov.

Inkubácia a vyhodnotenie výsledkov: Petriho misky boli inkubované v termostate pri teplote a) *metóda BSDA:* 64 ± 1 °C 2 ½ – 5 h, b) *FPT:* *Bacillus subtilis* BGA (pH 6,0, 7,2 a 8,0)

30 ± 1 °C 18–24 hodín, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 37 ± 1 °C 18–24 hodín, c) metóda STAR: *Bacillus subtilis* BGA 30 °C najmenej 18 hodín, *Kocuria varians* ATCC 9341 37 °C najmenej 24 hodín, *Bacillus cereus* ATCC 11788 30 °C najmenej 18 hodín, *Escherichia coli* ATCC 11303 37 °C najmenej 18 hodín, *Bacillus stearotherophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149 55 °C najmenej 12–15 hodín. Po inkubácii sa zisťovali číre pravidelné zóny inhibície okolo papierových diskov napustených štandardnými roztokmi ATK. Veľkosť inhibičných zón bola meraná od okraja papierového disku po vonkajší kraj zóny inhibície v mm. Kontrola citlivosti šarže jednotlivých testovacích agarov bola zhodnocovaná podľa veľkostí inhibičných zón vytvorených pri kontrolných roztokoch antibiotík a porovnávaná s hodnotami stanovenými metódami. MIC antikocidík boli vyhodnocované na základe najmenších veľkostí inhibičných zón vytvorených pri jednotlivých testovacích kmeňoch.

Výsledky a záver

Dosiahnuté výsledky sú prezentované v Tabuľkách 1 a 2.

Tab. 1. Priemerné veľkosti inhibičných zón (mm) vytvorené reziduálnymi koncentraciami štandardov vybraných druhov antikocidík v závislosti od použitej mikrobiologickej metódy a testovacieho kmeňa

ATK	c µg.ml ⁻¹	STAR					FPT					BSDA
		<i>B. subt.</i>	<i>M. LUT.</i>	<i>B. cer.</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. stearo.</i>	<i>B. subt.</i>			<i>M. lut.</i>	<i>B. stearo.</i>	
		pH 7,2	pH 8,0	pH 6,0	pH 8,0	pH 7,4	pH 6,0	pH 7,2	pH 8,0	pH 8,0	pH 8,0	
Amprólium 0,2 – 1,0 mg.kg ⁻¹	50	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Diklazuril 0,5 – 3,0 mg.kg ⁻¹	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Nikarbazín 4,0 mg.kg ⁻¹	50	0	0	0,5	0	2	3	0	0	0	1	
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Robenidín 0,1 – 0,2 mg.kg ⁻¹	50	2	0	0	0	7	0	0	0	0	0	
	25	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Furazolidón 0,005 mg.kg ⁻¹	5	13	0	0	12	9	33	18	31	0	9	
	1	12	0	0	11	7,5	28	16	27	0	8	
	0,5	11	0	0	10	6	24	13	22	0	6	
	0,05	10	0	0	8	4	18	12	17	0	3,5	
	0,005	9	0	0	7	2	15	10	13	0	1,5	

Annex IV	0,0005	7	0	0	5	0	8	8	5	0	0
Lasalocid 0,01 – 0,2 mg.kg⁻¹	50	5	9	N	0	N	N	N	N	8,5	N
	25	3	7	N	0	N	N	N	N	7	N
	10	2	5	N	0	N	8	7	5	5	N
	5	0	3	5	0	12,5	6	5	3	2,5	8
	1	0	0	3	0	9,5	3	3	0	0	5
	0,5	0	0	2	0	5	2	0	0	0	3
	0,1	0	0	1	0	2,5	0	0	0	0	1,5
0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Maduramycín 0,4 mg.kg⁻¹	50	5	7	N	4	N	N	5	N	7	N
	25	3	5	N	0	N	N	2	9	4	N
	10	0	2	4,5	0	13,5	7	0	6	2	N
	5	0	0	2,5	0	11,5	4	0	3	0	6
	1	0	0	1	0	9	0	0	0	0	3
	0,5	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1,5
0,1	0	0	0	0	2,5	0	0	0	0	0	
Monenzín 0,05 mg.kg⁻¹	50	6	6	N	0	N	N	N	N	9	N
	25	3	4	N	0	N	N	N	8	7	N
	10	0	2	6	0	N	N	8	6	5	N
	5	0	0	4	0	N	7	5	4	2	N
	1	0	0	3	0	12	3,5	2	0	0	8
	0,5	0	0	2	0	10	2	0	0	0	5
	0,1	0	0	0	0	7	0	0	0	0	2,5
0,05	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	
Narazín 0,05 – 0,5 mg.kg⁻¹	50	N	N	N	0	N	N	N	N	N	N
	25	7	N	N	0	N	N	6	N	N	N
	10	5	6	5,5	0	15,5	7,5	4	6	6	N
	5	3	3	4	0	13,5	5,5	2	4	4	N
	1	0	1	2,5	0	12	3	0	1	1,5	7
	0,5	0	0	1,5	0	8	2	0	0	0	5
	0,1	0	0	0	0	6	1	0	0	0	3
0,05	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1,5	
Salinomycín 0,35 mg.kg⁻¹	50	5	N	N	0	N	N	N	N	N	N
	25	3	9	N	0	N	N	8	9	10	N
	10	2	5	5	0	18	9,5	6	7	6	N
	5	0	3	4	0	15	6,5	2,5	4	4	11
	1	0	0	2,5	0	10	3,5	0	0	0	8
	0,5	0	0	1,5	0	7	2,5	0	0	0	4,5
0,1	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2,5	
Sulfadimidín 0,1 mg.kg⁻¹	50	0	0	0	0	N	0	N	0	0	0
	25	0	0	0	0	17,5	0	14	0	0	0
	10	0	0	0	0	15	0	10	0	0	0
	5	0	0	0	0	13	0	7,5	0	0	0
	1	0	0	0	0	10	0	3	0	0	0
	0,5	0	0	0	0	5	0	1	0	0	0
0,1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	

tučne zvýraznené číslice predstavujú najmenšie veľkosti inhibičných zón prezentujúce MIC sledovaných látok pri jednotlivých testovacích kmeňoch MIT; tučne zvýraznené koncentrácie predstavujú LOD MIT pre jednotlivé látky

Tab. 2. Detegovateľná koncentrácia ATK pri použití *Premi*[®] *Testu* s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*

ATK	c (µg.ml ⁻¹)													
	50	25	10	7,5	5	2,5	1	0,5	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,0005
Amprólium	-	-	-		-		-	-	-					
Diklazuril	-	-	-		-		-	-						
Nikarbazín	±	-	-		-	-								
Robenidín	+	+	+	±	-		-	-	-					
Furazolidón							+	+		+			+	+
Lasalocid							+	+	±		-			
Maduramycín							+	+	+			-		
Monenzín							+	+	+	+		-		
Narazín							+	+	+	+		±	-	
Salinomycín							+	+	+			-		
Sulfadimidín							+	+	+			-		

(+) – pozitívny výsledok prezentovaný MIC sledovaných látok; (-) – negatívny výsledok, (±) – dubiózny výsledok; tučne zvýraznené koncentrácie predstavujú LOD *Premi*[®] *Testu* pre jednotlivé látky

Výsledky prezentované v Tabuľkách 1 a 2 poukazujú na skutočnosť, že detekčná citlivosť MIT na antikokcidiká bola rozdielna. Absencia citlivosti testovacích kmeňov v hladinách záujmu bola pozorovaná pri chemických antikokcidikách amprólium, diklazuril a nikarbazín. Vyššia citlivosť, ale stále nedostatočná bola pozorovaná pri robenidíne. MIT nie sú vhodné ako screeningová metóda pre vyššie uvedené antikokcidiká.

MIT sú však vhodné pre skupinu ionofórových antikokcidík, furazolidón a sulfadimidín. Uvedené látky vykazujú antibakteriálnu aktivitu a citlivosť testovacích kmeňov bola na ne preukázateľne vyššia. Príslušné testovacie kmene zachytávali uvedené látky v podstatne nižších koncentráciách, dokonca niektoré z testovacích kmeňov v koncentráciách MRL stanovených pre tieto látky príslušnou legislatívou.

Literatúra u autora

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom VEGA 1/3491/06.

ASPEKTY AKUMULÁCIE ŤAŽKÝCH KOVOV (PB) POZOROVANÝCH NA KUKURICI (ZEA MAYS L.)

ASPECT OF THE ACCUMULATION OF HEAVY METALS (PB) IN CORN PLANTS

Králová, J., Kuna, R.

Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre

Abstract

Heavy metals contamination in soils may cause a variety of environmental problems. One of the most hazardous heavy metal is lead (Pb). It is non-essential element in plants. Lead can be easily absorbed by plants and accumulated by tissues. Lead can cause the of reduction germination, root elongation and plant growth. Lead ions enter plants through roots, most of them are retained in the tissues of this organ.

The analyses we made at seedlings *Zea mays L.* cv. Valentína after 5 days incubation in 50 mg/l Pb²⁺ and 500 mg/l Pb²⁺ from Pb(NO₃)₂. We compared daily weight of seeds and increments length of primary seminal roots during experiment.

Histochemical methods of lead detection revealed significant accumulation of Pb in the surface tissues of the experimental plants roots. We also observed the differences in the cell wall of the endodermis.

Kľúčové slová: fytoremediácia, olovo, *Zea mays L.*

Úvod

Rozvoj priemyslu, dopravy, poľnohospodárstva i životný štýl negatívne pôsobia na jednotlivé zložky životného prostredia, a to vždy špecificky. I keď sú tieto vplyvy lokálne, v konečnom dôsledku významne prispievajú ku globálnym ekologickým problémom.

K najviac poškodzovaným a degradovaným zložkám patrí pôda, nakoľko sa v nej hromadia rôzne látky, schopné pretrvávajúť v nej aj niekoľko desiatok rokov po odstránení primárneho zdroja znečistenia. Medzi takéto látky zaraďujeme i ťažké kovy. Nakoľko nie sú biologicky degradovateľné, predstavujú pre rastlinné i živočíšne organizmy značné riziko. Je nevyhnutné venovať tejto problematike zvýšenú pozornosť, nakoľko všetky ťažké kovy pôsobia pri prekročení určitého množstva na organizmy toxicky.

Jedným z rizikových prvkov signalizujúcich znečistenie prostredia je samozrejme aj olovo. Je to všeobecne rozšírený kontaminant v pôdnom prostredí. Pri jeho odstraňovaní z pôdneho prostredia zostáva rad nezodpovedaných otázok. Je to ťažký kov, ktorý patrí medzi toxické kovy, a prostredníctvom kontaminovaných rastlín sa môže dostať do potravinového reťazca. Z hľadiska príjmu olova má najväčší význam ovocie, listová zelenina, cereálie, obličky, mäkkýše a víno (Kováčik et al., 2000). Olovo negatívne ovplyvňuje nervovo-psychický vývoj organizmu. Z tohto dôvodu je veľmi dôležité sledovanie obsahu ťažkých kovov v potravinách.

Ako progresívna metóda jeho odstraňovania z pôdy sa javí fytoremediácia. Pri tejto metóde je potrebné nájsť rastliny, ktoré majú mechanizmy umožňujúce z pôdy prijať významné množstvo Pb a následne ho translokovať do nadzemných častí.

Takéto hyperakumulátory predstavujú ekologicky bezpečný a relatívne lacný, i keď časovo náročný, spôsob dekontaminácie pôd. V súčasnosti je známych asi 400 hyperakumulátorov kovov, z ktorých sa niektoré úspešne používajú (Raskin and Ensley, 2000).

Princíp vstupu ťažkých kovov spočíva v ich absorpcii z pôdneho roztoku na povrch koreňov a následnom transporte z povrchu do vnútra koreňov odkiaľ sú transportované do

rastliny. Podľa Alexejeva (1987) prebieha pohyb iónov ťažkých kovov k vodivým pletivám dvoma cestami: apoplastickou a symplastickou. Apoplastickou cestou vstupujú do rastlín afunkčné ťažké kovy, ktorých vstup súvisí s ich obsahom v pôdnom roztoku. Hlavný prúd vedie cez primárnu bunkovú stenu (Marenčík, 1999). Po prijímaní ťažkých kovov do symplastu sú tieto ďalej transportované cez korene do výhonkov xylémom (Dunbar et al., 2003).

Vplyv olova sa prejavuje hlavne na klíčení a raste koreňa, na nadzemnej časti nie sú tieto prejavy až také zreteľné. Preto je dôležité sledovať aspekty ukladania olova v koreni. Na sledovanie oblasti koreňových meristémov sa zamerali Eun et al. (2000), ktorí s použitím AAS a fluorescencie s X lúčmi poukázali na akumuláciu v symplaste aj apoplaste buniek. Olovo zostávalo väčšinou v bunkách primárnej kôry, jeho akumulácia v bunkových stenách rástla s postupným dozrievaním buniek. Seregin et al. (2004) poukázal na to, že Casparyho pásik bol dostatočnou bariérou rozhodujúceho apoplastického transportu olova v koreňoch.

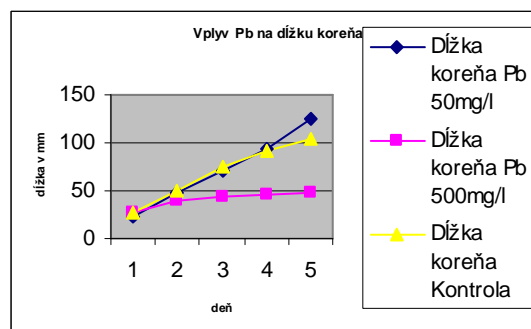
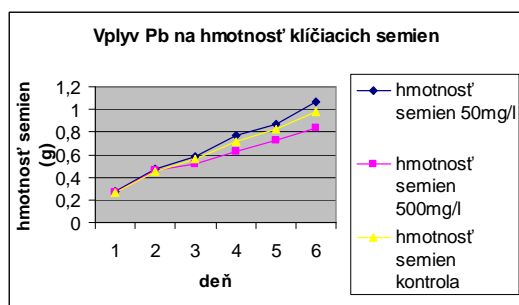
Materiál a metodika

Testovanou plodinou bola kukurica siata – *Zea mays L.* – odroda Valentína. Rastliny boli kultivované v termostate s teplotou 22°C vo veľkých Petriho miskách vystlaných 2 vrstvami filtračného papiera. Počas 24 hod. boli kultivované v destilovanej vode. Po 24 hod. boli ovplyvnené roztokmi Pb(NO₃)₂ s koncentraciami olova 50 a 500 mg.l⁻¹. Merali sme dĺžku primárnych koreňov klíčiacych rastlín kukurice v 24 hodinových intervaloch počas 5 dní od ovplyvnenia roztokom Pb. Zároveň sme z rastlín odoberali korene od 3. dňa kultivácie, na ktorých sme hodnotili niektoré anatomicko – morfológické charakteristiky. Z pripraveného rastlinného materiálu sme zhotovovali ručné rezy, farbili sme ich v 0,5% vodnom roztoku toluidínovej modrej. Preparáty sme vyhodnocovali pomocou svetelného mikroskopu Leica DM 4000 B/M s použitím fluorescencie.

Výsledky a diskusia

Dĺžku primárnych koreňov kukurice sme merali počas 5 dní v 24 hodinových intervaloch. Sledovali sme rozdiely v dynamike klíčenia rastlín, zmeny v hmotnosti klíčiacych rastlín a zmeny v dĺžke koreňov rastlín ovplyvnených roztokmi olova a kontrolných rastlín. Zároveň sme hodnotili anatomické charakteristiky s čiastočným využitím histochemických postupov. Pre tento experiment sme využili naklíčené rastliny po 4 a 5 dňovej expozícii nitrátu olova.

Pri hodnotení hmotnosti klíčiacych zŕn možno konštatovať, že do 2. dňa od ovplyvnenia olovom bola bez výraznejších rozdielov. Od 3. dňa nastali rozdiely v hmotnosti – v prospech koncentrácie Pb 50mg v porovnaní s kontrolou (nárast hmotnosti o 3,76% - 3. deň, 8,77% - 4. deň, 5. deň o 9,61%). Dávka Pb 500mg/l od 3. dňa inhibuje hmotnosť klíčiacych zŕn v porovnaní s kontrolou - 3. deň o 7,73%, 11,38% - 4. deň, 5. deň - o 14,67%). (graf.č.1)



Graf č.1 Vplyv Pb na hmotnosť klíčiacych zŕn kukurice

Graf č. 2: Vplyv Pb na dĺžku koreňa

Pri hodnotení dĺžok seminálneho koreňa javili známky väčšieho stresu rastliny ovplyvnené koncentráciou 500 mg/l, rast seminálneho koreňa bol pri koncentrácii Pb 500 mg/l inhibovaný o 62,05% v porovnaní s kontrolným variantom. Dĺžka seminálneho koreňa bola stimulovaná dávkou olova 50 mg/l podielom 112,40%. Koncentrácia Pb 50mg/l stimulovala klíčenie o 12,8%. Koncentrácia Pb 500 mg/l inhibovala klíčenie podielom 84,87% (graf č.2).



Pb 500mg/l

Kontrola

Pri hodnotení primárnych koreňov klíčnych rastlín kukurice sme s využitím histochemických postupov hodnotili anatomické charakteristiky. Zistili sme, že koncentrácia Pb v dávke 50mg/l výraznejšie neovplyvňuje rast ani reakcie klíčiacych rastlín. Výraznejšie reakcie v raste sme zaznamenali pri koncentrácii Pb 500mg/l a to medzi 3. až 5. dňom kultivácie. Podobné výsledky dosiahla aj Baranowska – Morek (2004), ktorá zistila výrazný pokles tolerancie ku kovu pri klinčekoch medzi 2.- 5. dňom kultivácie v roztoku olova.

Pri hodnotení ručných natívných rezov, zhotovených vo vzdialenosti 1cm od bázy koreňa sme očakávali významnejšie zmeny vplyvom pôsobenia nitrátu olova. Zamerali sme sa na hodnotenie endodermu, nakoľko jej hrubá stena môže byť transportnou bariérou pre ďalší transport olova do stredného valca a následný vstup do vodivých pletív. Zároveň môže byť miestom pre netoxickú akumuláciu olova. Na túto časť koreňov sme sa zamerali pri mikroskopovaní s použitím farbenia pre zvýraznenie pletív. Najvýraznejšia farebná reakcia sa potvrdila v bunkových stenách endodermu, ale aj v parenchýme okolo širokých ciev metaxylému. Najvýraznejšiu farebnú reakciu sme zaznamenali pri koncentrácii Pb 50mg/l, slabšiu pri 500mg/l a najslabšiu pri kontrolných rastlinách.

Pri hodnotení ďalších anatomických charakteristík sme zaznamenali rozdiely v hrúbke primárnej kôry, vo veľkosti priemeru stredného valca i v celkovej hrúbke koreňa v prospech kontrolných rastlín (rozdiely medzi Pb50 a Pb500 boli malé). Predbežne sme pozorovali, že pri rastlinách s prídavkom Pb50 sa v niektorých ukazovateľoch prejavuje skôr stimulačný účinok, resp. schopnosť tolerovať takéto zaťaženie rastlinami. Prejavom takéhoto nepotlačeného rastu je tvorba rexigénnych dutín v primárnej kôre pri Pb50, ktorú sme pozorovali aj pri kontrolných rastlinách.

Záver

V našej práci sme sa zamerali na hodnotenie anatomických a histologických charakteristík primárnych koreňov mladých rastlín *Zea mays L.* ovplyvnených olovom. Vplyv a stresové účinky testovaného kovu sa prejavili v rozdieloch pri sledovaní hmotnosti klíčiacych rastlín, v raste primárneho koreňa. Významný vplyv tohto ťažkého kovu sme zaznamenali aj pri diferenciacii jednotlivých pletív primárneho koreňa.

Literatúra

1. Alexejev, J.V. (1987): Tiažolye metally v počvach i rasteniach. VO- agropromizdat, Leningrad
 2. Baranowska – Morek,A., Wierzbicka, M. (2004): Localization of lead in root tip of *Dianthus Carthusianorum*. Acta Biol Cracov. Vol 46., pp. 46-56
 3. Dunbar, K.R., McLaughlin, M., Reid, R.J.(2003): The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum L.*)- J.Exp. Bot., 54: 349-354
 4. Eun S.O., Youn, H.S., Lee Y. (2000): Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. Physiol Plant. Vol.110, No. 3, pp. 357-365
 5. Kováčik, J.- Duscay, L.- Toman, R.(2000): Rizikové faktory potravného reťazca človeka, In: Ťažké kovy v pôdach a rastlinách, Nitra, SPU, s. 17
 6. Marenčík, A.(1999): Fyziológia rastlín, Edícia Prírodovedec, s. 85-90
 7. Raskin, I., Ensley, B.D. (2000): Phytoremediation of toxic metals using plants to clean the environment. New York, John Willey&Sons, s.53-65
- Seregin, I.V, Shpigun, L.K., Ivanov, V.B.(2004): Distribution and toxic effect of cadmium and lead on maize roots.: Russ.J.Plant Physiol. Vol.51, No.4, pp.525-533

ENTEROKOKY IZOLOVANÉ Z BRAVČOVÉHO MÄSA A ICH REZISTENCIA NA ANTIBIOTIKÄ

ENTROCOCCI ISOLATED FROM PORK AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Kročko, M., Čanigová, M., Ducková, V.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstract

The aim of this study was to isolate species of genus *Enterococcus* from surface of pork (*musculus semimembranosus*) and to find out their antibiotic resistance to: Vancomycin (VAN), Gentamicin (GEN), Erythromycin (ERY), Tetracycline (TET), Ampicillin (AMP). The samples of pork (n=68) were collected from three different slaughterhouses. The samples were cultured on selective Slanetz – Bartley agar. Suspect colonies of *Enterococcus* spp. were identified by EN – COCCUS test. The susceptibility to antibiotics was tested by the agar disk diffusion method. *E. faecium* (84,2 %) was most frequently isolated among enterococci that contaminated cooled pork samples. Most isolates of species were resistant to TET and ERY (52.63 %), GEN (31.58 %) and VAN (26.31 %). Only a few of the isolates were resistant to AMP (5.27 %). Many supports studies suggesting that the food chain could be a source of Vancomycin-resistant enterococci (VRE) colonization in humans and thus a source of VRE infections.

Úvod

Pojem „enterocoque“ sa prvýkrát použil v roku 1899 Thiercelinom pre grampozitívne diplokoky izolované z gastrointestinálneho traktu. Thiercelin a Jouhand už v roku 1903 navrhli vytvoriť pre grampozitívne diplokoky tráviaceho traktu samostatný rod *Enterococcus*. Ako samostatná taxonomická jednotka sa enterokoky prvýkrát popísali v roku 1984. S použitím metód DNA:DNA a DNA:RNA hybridizácie sa dokázalo, že druhy *Streptococcus faecalis* a *Streptococcus faecium* sú dostatočne odlišné od streptokokov, aby sa zaradili do samostatného rodu (Müller et al., 2001).

Rod *Enterococcus* zahrňuje grampozitívne väčšinou kataláza-negatívne baktérie. Vyskytujú sa jednotlivo, vo dvojici alebo v krátkych reťazkách. Nesporujú a netvorí kapsulu. Z fyziologického hľadiska sú to fakultatívne anaeróbne chemo-organoheterotrofné organizmy s fermentačným typom metabolizmu. Enterokoky sú schopné prežívať vo veľmi nepriaznivých podmienkach. Väčšina druhov rodu *Enterococcus* je schopná rasti v prostredí s koncentráciou 6,5 % NaCl, pri hodnotách pH 9,6 a má schopnosť prežiť teplotu 60 °C po dobu 30 minút (Motlová, 2003).

Podľa fylogenetických kritérií enterokoky spolu s ďalšími rodmi mliečnych baktérií, ako *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* sú zaradené do klostrídiového pododdelenia grampozitívnych baktérií, kde sú najbližšími príbuznými enterokokov rody *Vagococcus*, *Tetragenococcus* a *Carnobacterium*. V aktuálnej Bergeyho klasifikácii patrí rod *Enterococcus* do týchto hierarchických taxonómov: Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; *Enterococcaceae* (Seman a Nogová, 2004).

Taxonómia rodu *Enterococcus* je stále otvorená. Žiadny fenotypový znak baktérie tohto rodu jednoznačne neodlišuje od iných grampozitívnych, kataláza-negatívnych kokovitých baktérií. Systematika enterokokov nie je dokončená a v blízkej budúcnosti zrejme dôjde k ďalším reklasifikáciám a popisom nových druhov (Müller et al., 2001).

Enterokoky sú tradične klasifikované ako málo závažné patogény, ale za ostatné desaťročie sa obraz na ne radikálne zmenil. Hoci nevlastnia potentné virulénne faktory, k patogenite prispieva ich vrodená odolnosť prežiť takmer všetky nepriaznivé vplyvy. U zdravého človeka nevyvolávajú ochorenie, ale majú vzrastajúcu úlohu v nozokomiálnych infekciách, zvlášť pod selekčným tlakom antibiotík. Vďaka vrodenej a získanej multirezistencii voči antiinfekčným terapeutikám a faktorom virulencie, enterokoky nazývame aj ako patogény 90-tych rokov 20. storočia (Seman a Nogová, 2004). Enterokoky sa v Európe zaradili na tretie miesto bakteriálnych patogénov spojených s nozokomiálnymi infekciami za stafylokokmi a druhmi *Escherichia coli* (Peters et al., 2003).

Enterokoky sa nenachádzajú len u teplotných živočíchov, ale často sa vyskytujú v pôde, vo vode, na rastlinách a zelenine ako aj v silážach. Taktiež môžu kontaminovať a rozmnožovať sa v potravinárskych produktoch počas ich výroby (Giraffa, 2002). K dôležitým celospoločenským problémom súčasnej doby patrí vzostup bakteriálnej rezistencie k antibiotikám. Extrémne vysoká úroveň antibiotickej rezistencie zistená u enterokokov a ich široké rozšírenie v surovinách potravinárskeho priemyslu sú dva kľúčové faktory prispievajúce k zisteniam rezistentných enterokokov v nefermentovaných, ale aj vo fermentovaných výrobkoch. Taktiež sa zistili v mäsových a mliečnych produktoch a v potravinách, ktoré sa vyrobili na priamy konzum ako aj v probiotikách obsahujúcich kmene enterokokov (Giraffa et al., 2000, Baumgartner et al., 2001).

Veľa štúdií poukazuje na to, že zvieratá ako suroviny sú možným rezervoárom rezistentných enterokokov, ktoré môžu byť prenášané na ľudí cez potravinový reťazec a tým reprezentujú potenciálne riziko pre konzumentov (Grosso et al., 2000).

Štúdie zaoberajúce sa skúšaním rezistentných druhov *E. faecium* a *E. faecalis* v mäsových produktoch poukazujú na rôznu stupeň rezistencie voči antibiotikám. Sedemdesiattri percent izolovaných enterokokov z hydiny predávajúcej sa vo Švédsku bolo rezistentných na jeden alebo viac rôznych antibiotík ako napr. na tetracyklín, erytromycín. Korešpondujúce hodnoty pre švédske bravčové mäso, dánsku hydinu a dánske bravčové mäso boli 9 %, 55 % a 14 %. Enterokoky rezistentné na jedno alebo viac antibiotík vrátane bacitracínu, chloramfenicolu, erytromycínu, gentamicínu, penicilínu, rifampicínu, streptomycínu a tetracyklínu sa izolovali z mletého mäsa, surových mäsových párkov, šunky a hovädzej sviečkovej (Son et al., 1999).

Celkové údaje o antibiotickej rezistencii spojenej s enterokokmi v potravinách otvárajú vážnu otázku ich vstupu do potravinového reťazca. Existuje silná epidemiologická závislosť medzi používaním antibiotík v humánnej medicíne, hospodárskymi zvieratami, výskytom, rozšírením a odolnosťou rezistentných kmeňov v živočíšnych produktoch (Witte, 2000).

Je známe, že rezistentné baktérie, ktoré sa izolovali zo zažívacieho traktu zvierat môžu kontaminovať mäso pochádzajúce z týchto zvierat. Najviac štúdií potravinového reťazca ignoruje už známy fakt, že potencionálnym zdrojom rezistencie, okrem baktérií rodu *Enterococcus* a čeľade *Enterobacteriaceae*, je podávanie antibiotík zvieratám. Samotní ľudia môžu byť zdrojom rezistentných baktérií ich získaním zo živočíšnej potravy. Ako často tieto baktérie osídľujú ľudské črevo a prenášajú rezistentné gény nie je známe (Phillips et al., 2004).

Rozvoj antibiotickej rezistencie v baktériách zapríčiňujúcich zoonózy predstavuje zdravotné riziko pre populáciu. Toto je spôsobené chybnou liečbou a šírením antimikrobiálnej rezistencie na ľudí. Zoonóza je infekčné ochorenie prenosné zo zvierat na ľudí. Zoonózy, ktoré sa najčastejšie vyskytujú, sú infekcie alimentárneho pôvodu zapríčinené rodmi *Campylobacter*, enterohemoragickou (verotoxinogénnou) *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella* a *Yersinia*. Gastrointestinálny trakt živočíchov môže byť primárnou zásobárňou mikroorganizmov spôsobujúcich zoonózy. Veľa alimentárnych infekcií je výsledkom fekálnej kontaminácie počas porážky zvierat alebo fekálnym znečistením počas ďalšieho spracovania (Aarestrup and Wegener, 1999).

Na možné zdravotné následky sa poukázalo vypuknutím quinolonovej rezistencie *Salmonella typhimurium* DT104 a fluoroquinolonovej rezistencie *Campylobacter jejuni*, čo sa vysvetlilo ako výsledok chybného liečby pacientov (Molbak et al., 1999). Gastrointestinálny trakt je excelentným prostredím pre zmenu genetickej informácie (Van den Bogaard, 1997).

E.coli a *Salmonella*, izolované z ľudí, boli rezistentné na ampramycín. Poukázalo to na ďalšie rezistentné mikroorganizmy, ktoré môžu prechádzať zo zvierat na ľudí. Treba dodať, že spomenuté antibiotikum sa nepoužíva pri liečbe ľudí (Hunter et al., 1993).

Následným zavedením enrofloxacinu u hydiny sa v Európe izolovali kmene *Campylobacter jejuni* rezistentné na fluoroquinolon u skupiny ľudí po konzumácii tejto hydiny (Velazquez et al., 1995). V USA ochorelo 18 obyvateľov, ktorí sa infikovali multirezistentnou baktériou druhu *Salmonella newport* pochádzajúcou z mäsa hovädzieho dobytku v Južnej Dakote (Holmberg et al., 1984). Podobný prípad sa zaznamenal aj v Kalifornii, kde sa vyskytlo 45 pacientov s rezistentnou baktériou druhu *Salmonella newport*, ktorej spojitosť sa viazala na hovädzie mäso (Spika et al., 1987).

Martel a Coundert (1993) zistili, že výskyt rezistentných mikroorganizmov na antibiotiká je obrovský u mladých teliat v porovnaní so staršími jedincami. Dôvodom je použitie veľkého množstva liečiv vzhľadom k tomu, že mladé teľatá sú veľmi citlivé na bakteriálne ochorenia. Ďalej skúšali prenos antibiotickej rezistencie z kráv, ktorým sa podávali antibiotiká, na ošetrované teľatá. Rozvoj antibiotickej rezistencie sa preskúmala aj u kráv kŕmených mliekom od kráv liečených na mastitídu. U teliat, ktoré prijímali mlieko od kráv liečených antibiotikami na mastitídu sa vytvárali baktérie rezistentné na streptomycín, kým v skupine teliat s príjmom mlieka bez antibiotík sa rezistentné mikroorganizmy v prostredí nevyskytli (Wray et al., 1990).

Objavujú sa stále nové a nové bakteriálne kmene s nebezpečným rozsahom rezistencie, ku ktorým patria aj vankomycín – rezistentné enterokoky (Kolář et al., 2003).

Nárast zistení o rezistencii enterokokov na antibiotiká a výskyt aktívnych mechanizmov génového prenosu dali podnet znovu skúmať enterokoky ako závažné nozokomiálne patogény (Giraffa, 2002).

Cieľom práce bolo izolovať zástupcov rodu *Enterococcus* z povrchu bravčového mäsa (*musculus semimembranosus*) a zistiť u nich rezistenciu na antibiotiká: vankomycín, gentamicín, erytromycín, tetracyklín a ampicilín.

Materiál a metódy

Vzorky bravčového mäsa sa odoberali zo zvierat pochádzajúcich od viacerých chovateľov, ktoré sa opracovali na bitúnkoch I, II a III. Pri rozrábke jatočných tiel sa odobrili vzorky zo stehna (*musculus semimembranosus*), kde sa predpokladá zvýšená kontaminácia tejto časti tela mikroorganizmami z konečníka zvierat. Na vzorkách sa vykonal povrchový ster 24 h post mortem z plochy 25 cm² zotretím povrchu svaloviny sterilným tampónom, ktorý sa následne vytrepával 10 minút v 10 ml sterilného fyziologického roztoku s peptónom. Získané základné riedenie sa ďalej riedilo desiatkovým spôsobom a podľa predpokladu výsledku sa pripravila sada riedení (STN ISO 3110-2).

Identifikácia izolovaných kmeňov enterokokov

Enterokoky sa stanovili pri teplote 37 ± 1 °C na živnom médiu Slanetz – Bartley (*Biokar Diagnostic*, *Solabia*, Francúzsko) po dobu 48 hod (STN 560100). Príslušnosť k rodu *Enterococcus* sa u suspektných kolónií potvrdila na základe negatívnej katalázovej skúšky, preočkovaním na krvný agar a agar obsahujúci žlč a eskulín (*Biokar Diagnostic*). Pomocou natívneho preparátu sa určil tvar, pohyblivosť a čistota kultúry izolovaných baktérií. Rodová a druhová identifikácia, na základe produkcie enzýmu pyrrolidonylarylamidasy na PYR-teste

(Lachema Brno, Česká Republika), sa vykonala pomocou komerčných testov EN – COCCUS test (Lachema).

Testovanie citlivosti enterokokov na antibiotiká

Izolované 24 hodinové kultúry enterokokov sa pred testom naočkovali do sterilného fyziologického roztoku do vytvorenia zákalu 0,5 stupňa podľa McFarlanda čo zodpovedalo približnej hustote buniek $10^5 - 10^6$ KTJ.ml⁻¹. Testovanie rezistencie enterokokov na antibiotiká sa vykonalo diskovou metódou na Mueller – Hinton agare (HiMedia, India) naočkováním 1 ml suspenzie enterokokov. Na stanovenie rezistencie sa použili tieto antibiotické disky (HiMedia) a ich koncentrácie: Ampicilín (AMP) 10 µg/disk, Gentamicín (GEN) 10 µg/disk, Erytromycín (ERY) 15 µg/disk, Tetracyklín (TTC) 30 µg/disk, Vankomycín (VAN) 30 µg/disk. Na základe merania vytvorenej inhibičnej zóny sa kmene podľa kritérií NCCLS (1999) klasifikovali ako: citlivé, stredne rezistentné a rezistentné.

Výsledky a diskusia

Vzorky bravčového mäsa (n=68) pochádzali z troch rozličných bitúnkov. Vo všetkých odobratých vzorkách bravčového mäsa 24 h po jeho zabití sa zistila prítomnosť enterokokov. Priemerné počty enterokokov dosiahli rôzne hodnoty v závislosti od bitúnku, na ktorom sa zvieratá opracovávali (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Počty enterokokov v bravčovom mäse z rozličných bitúnkov 24 h post mortem

Ukazovateľ	Enterokoky (KTJ. cm ⁻²)		
	Bitúnok I (n=36)	Bitúnok II (n=18)	Bitúnok III (n=14)
\bar{x}	47,55	3558,97	210,14
s	570,39	665671,14	4969,66
s _x	95,06	156900,19	1328,19
min	4,00	20,00	4,00
max	3300	3000000,00	19000,00

Bitúnok I sa vyznačoval podmienkami veľmi dobrej hygienickej kvality opracovania zvierat. Zvieratá sa od chovateľov prepravovali na bitúnok krátku vzdialenosť (cca 10 km) a pri ustajnení sa sprchovali vlažnou vodou, čím sa potlačil výskyt PSE a DFD mäsa a tým aj možnej primárnej kontaminácie. Jatočné polovičky sa po rozrábke a opláchnutí vodou priamo presunuli do chladiacich boxov. Bitúnok II sa vyznačoval zhoršenou hygienickou kvalitou prevádzky a tým aj opracovania jatočných zvierat. Ošípané sa prepravovali zo vzdialenosti približne 50 km a ustajnenie sa vykonávalo bez sprchovania vlažnou vodou. Pravdepodobne k týmto okolnostiam sa vzorky bravčového mäsa z bitúnku II vyznačovali vysokým počtom enterokokov. Bitúnok III bol súčasťou zariadenia, v ktorom sa ošípané zároveň aj chovali s veľmi dobrou hygienickou kvalitou prevádzky. Vonkajšie prostredie mäso spracujúcich závodov je podľa Giraffa (2002) okrem tráviaceho traktu zvierat ďalším zdrojom kontaminácie surového mäsa enterokokmi. Kontamináciu surového mäsa enterokokmi popisujú rôzni autori (Son et al., 1999; Butaye et al., 2000). Napr. Šustáčková et al. (2004) zistili až 98,2 % vzoriek čerstvého mäsa kontaminovaného enterokokmi. Vyššie celkové počty enterokokov vo vzorkách bravčového mäsa uvádzajú Mayr et al. (2003). V analyzovaných vzorkách bravčového mäsa podľa týchto autorov sa počty enterokokov pohybovali na úrovni 3,29 log KTJ. g⁻¹.

Podiel enterokokov z celkového počtu mikroorganizmov (CPM) sa vo vzorkách bravčového mäsa 24 h post mortem z bitúnku II (12,15 %) a bitúnku III (12,30 %)

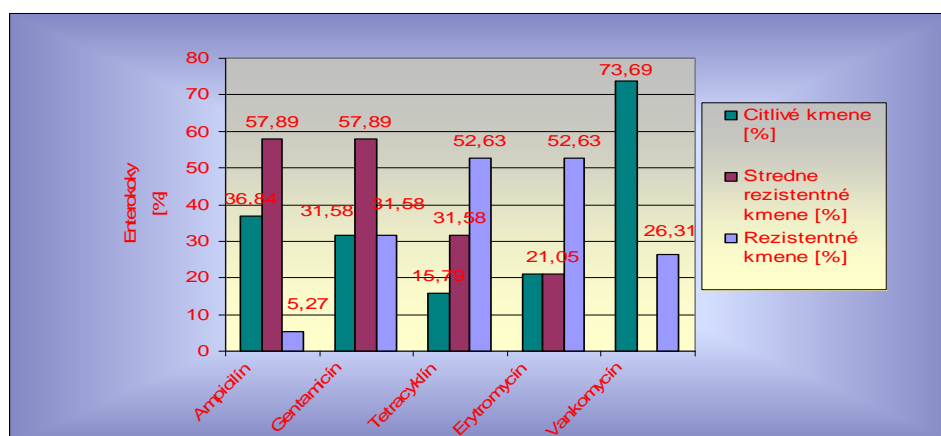
pohyboval približne na rovnakej úrovni. Výrazne nižší podiel enterokokov z CPM sa zaznamenal vo vzorkách mäsa z bitútku I (1,60 %).

U náhodne vybraných druhov enterokokov (pochádzajúcich z bravčového mäsa jedného chovu) po ich identifikácii sa zisťovala rezistencia na antibiotiká. Rezistencia sa zistila u väčšiny kmeňov na jedno alebo viac antibiotík (Tabuľka 2). Zistilo sa 26,31 % izolátov rezistentných na vankomycín, 31,58 % na gentamicín, na tetracyklín a erytromycín po 52,63 % a 5,27 % na ampicilín. Stredne rezistentných druhov enterokokov na ampicilín a gentamicín sa zistilo 57,89 %, na tetracyklín 31,58 % a na erytromycín 21,05 %. Rezistencia izolátov na jednotlivé druhy antibiotík je znázornená na obrázku 1.

Tabuľka 2 Antibiotická rezistencia izolovaných enterokokov

Antibiotikum	Priemer zóny pre citlivý kmeň [mm]	Obsah účinnej látky v disku [µg]	Citlivé kmene [%]	Stredne rezistentné kmene [%]	Rezistentné kmene [%]
Ampicilín	≥ 18	10	36,84	57,89	5,27
Gentamicín	≥ 12	10	31,58	57,89	31,58
Tetracyklín	≥ 18	30	15,79	31,58	52,63
Erytromycín	≥ 15	15	21,05	21,05	52,63
Vankomycín	≥ 17	30	73,69	-	26,31

Najčastejšie izolovaný druh medzi enterokokmi bol *Enterococcus faecium* (84,21 %). *E. faecium* tvoril 22,16 % podiel z celkových vankomycín rezistentných enterokokov, 44,32 % podiel rezistentných enterokokov na tetracyklín a erytromycín, 4,43 % na ampicilín a 26,59 % na gentamicín. Stredne rezistentné druhy *E. faecium* na tetracyklín, ampicilín, gentamicín a erytromycín tvorili podiel 31,58 %, 57,89 %, 57,89 % a 21,05 %. Na druhej strane sa nezistila rezistencia voči spomenutým antibiotikám u druhu *E. casseliflavus*. Nami získané výsledky v porovnaní s výsledkami nižšie uvedených autorov poukazujú na vyššie percentuálne zastúpenie kmeňov enterokokov rezistentných na antibiotiká. Predpokladáme, že to môže súvisieť s druhom vzoriek, z ktorých sa enterokoky pôvodne izolovali. Z poznatkov súvisiacich s prežívaním enterokokov vieme, že tieto v procese zrenia mäsa odumierajú a ich počty na surovom mäse sa znižujú. Väčšina autorov pri testovaní rezistencie enterokokov hodnotí kmene izolované z mäsových výrobkov a nie z mäsa po zabití zvierat.



Obrázok 1 Rezistencia enterokokov na rôzne druhy antibiotík

Šustáčková et al. (2004) zistili počet enterokokov v mrazenom hovädzom mäse do 10^4 KTJ. g^{-1} , avšak nezistili rezistentné kmene na vankomycín. Klein et al. (1998) zistili počet enterokokov v mletom hovädzom mäse v rozmedzí $0,5 \cdot 10^1$ až $7,1 \cdot 10^2$ KTJ. g^{-1} . Ďalej zistili, že 3 vzorky z 555 odobratých vzoriek bravčového a hovädzieho mäsa obsahovali enterokoky rezistentné na vankomycín. Hayes et al. (2003) identifikovali najčastejšie v hovädzom mäsa (65 %) a v kuracom mäse (79 %) *E. faecium*, avšak v bravčovom mäse identifikovali hlavne *E. faecalis* (54 %). Taktiež nezistili rezistenciu na vankomycín. Na druhej strane Chingwaru et al. (2003) zistili v hovädzom mäse 24,7 % a v kuracom 30,7 % kmeňov *E. faecium* rezistentných na vankomycín. Z výsledkov Herrero et al. (2000) vyplýva, že 43 z 240 vzoriek ošípaných v Španielsku obsahovali vo výkaloch vankomycín rezistentný *E. faecium*. Peters et al. (2003) izolovali zo 155 (83 mleté mäso, 19 šunky, 27 salámy, 26 syr) vzoriek voľne predávajúcich potravín v Nemecku 416 kmeňov enterokokov, u ktorých sa nezistila rezistencia na ampicilín a vankomycín, ale zistili rezistentné kmene enterokokov na erytromycín a tetracyklín.

Záver

Mikrobiologickým vyšetrením vzoriek bravčového mäsa odoberaného v našich bitúnkoch sa dokázala prítomnosť enterokokov v tomto type vzoriek. Kvantitu enterokokov, ako vyplýva z výsledkov, ovplyvnili predovšetkým hygienické podmienky na bitúnkoch. Ako najčastejší izolát sa potvrdil *E. faecium*. U izolovaných enterokokov sa zistila rezistencia na testované antibiotiká vrátane vankomycínu. Na základe poznatkov iných autorov je možné predpokladať, že enterokoky sa cez mäsové tepelne neopracované výrobky môžu dostať do potravinového reťazca a vzniká možnosť ich prežitia aj v zažívacom trakte človeka.

Literatúra u autorov

VPLYV PROBIOTÍK NA REPRODUKČNÉ UKAZOVATELE PRASNÍC

THE INFLUENCE OF PROBIOTIC PREPARATION ON REPRODUCTION PARAMETERS OF SOWS

Link, R., Novotný, J., Kováč, G.

University of veterinary medicine, Košice

Abstract

The trial lasted from about 2 weeks before farrowing until weaning at 4 weeks after farrowing. There were 32 sows included into the trial divided into the experimental group (n=16) and control group (n=16). From about 14 days before the anticipated farrowing date the sows were housed in conventional farrowing crates. The farm had a farrowing hall with 32 farrowing crates (16+16) with a walkway in the middle.

Although there were no significant differences between groups, as time to the first service was short in both groups, sows in experimental group had earlier first service compared with control group. Number of mated sows was approximately same in experimental and control group. Number of weaned piglets in control group was higher because the number of piglets born alive was higher in that group. Number of stillborn piglets was approximately the same in control and experimental group. No significant differences were revealed in number of piglets born alive, stillborn and number of weaned pigs between groups of sows.

The suckling piglets in experimental group reached better weight already on day 14 of the trial and this state persisted up to the end of the experiment.

The differences in weight of the experimental group and control group were highly significant at the end of the trial (P = 0.002).

Introduction

Despite some advantages related to the use of antibiotics as stimulators of growth some adverse effects related to such practice have also been noted, particularly development of resistant bacterial strains and presence of antibiotic residua in the food chain of humans. The use of antibiotic growth stimulators had been banned in Sweden and Finland before admittance of these countries to EU and a little later Denmark also joined in this effort. The states mentioned initiated gradual elimination of antibiotic stimulators throughout EU.

In relation to this it is clear that we should concentrate on finding other means of prevention of the diarrhoeic syndrome of young of the farm animals and subsequent improvement in animal growth. Great potential in this direction has been associated with probiotics. Probiotics were characterised as microbial cellular preparations or components of microbial cells which are beneficial to the health and well-being of the host (Salminen *et al.*, 1999).

Material and methods

The trial lasted from about 2 weeks before farrowing until weaning at 4 weeks after farrowing. There were 32 sows included into the trial divided into the experimental group (n=16) and control group (n=16). From about 14 days before the anticipated farrowing date the sows were housed in conventional farrowing crates. The farm had a farrowing hall with 32 farrowing crates (16+16) with a walkway in the middle.

Control group was fed with standard feed for lactating sows (12.76 MJ DE). BioPlus 2B group received standard feed (same as that of the control group) with 400 g BioPlus 2B/t feed which equals 1.28×10^6 spores/g feed.

In both groups the piglets received the same creep feed without additives until weaning. All delivered feed batches was analysed for crude protein, total fat, crude fibre, dry matter and DE was calculated at laboratory of Department of Nutrition, University of Veterinary Medicine.

During the experiment parameters concerning piglets were investigated: number born alive, number stillborn, number weaned (about 4 weeks), individual weight at birth, individual weight at 14 days, individual weight at weaning.

Reproduction parameters - number of sows mated, days to first service were also determined in experiment.

Results

Sows in experimental group had earlier oestrus after weaning, consequently control group needed more time to the first service. Although there were no significant differences between groups, as time to the first service was short in both groups, sows in experimental group had earlier first service compared with control group. Number of mated sows was approximately same in experimental and control group (Table 1).

Table 1 Reproduction parameters of sows and diarrhoea score

	Days to first service	Mate sows
Exp. group	5.69±2.18	0.85±0.38
Control group	5.93±2.31	0.87±0.35

Number of weaned piglets in control group was higher because the number of piglets born alive was higher in that group. As only one suckling piglet died in average in each experimental and control sow, the number of born alive piglets seems to be the only reason better number of weaned pigs in control group. Number of stillborn piglets was approximately the same in control and experimental group.

No significant differences were revealed in number of piglets born alive, stillborn and number of weaned pigs between groups of sows (Table 2).

Table 2 Numbers of born and weaned piglets

	Number of live born pigs	Number of still born pigs	Number of weaned pigs
Exp. group	9.88±2.28	0.63±0.81	8.88±1.89
Control group	10.25±3.51	0.50±0.73	9.56±3.22

The suckling piglets in experimental group reached better weight already on day 14 of the trial and this state persisted up to the end of the experiment.

The differences in weight of the experimental group and control group were highly significant at the end of the trial (P = 0.002) (Table 3).

Table 3 Weight of pigs

	0th day	14th day	28th day
Weight – exp. group, kg	1.50±0.36	4.10±0.85	7.46±1.61*
Weight – control group, kg	1.57±0.39	3.97±0.91	6.88±1.67*

* P < 0.01

Discussion

The last weighing showed that the mean weight of pigs from the experimental group was significantly higher than that in the control. Ahrens *et al.* (1992) conducted an experiment on

weanlings and observed that supplementation of their rations with BioPlus 2B, at a dose of 1.2×10^6 /g feed, resulted in higher weight gains (by 10%) and better conversion of feed in the first three weeks of the experiment and significantly higher weight gains in the experimental group (679 g/day) during the subsequent two weeks in comparison with the control (570 g/day). Digestion of proteins in the small intestine of experimental pigs was significantly better (76%) in comparison with that in the control (68%). In another experiment Ahrens *et al.* (1992) recorded higher weight gains (by 13%) in the experimental group supplemented with BioPlus 2B in comparison with the control, however, the differences were insignificant. Samanya and Yamauchi (2002) revealed, that chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto* for 28 days, had decreased blood ammonia concentration in the experimental group ($P < 0.05$). These results suggest that *B. subtilis natto* was responsible for decreased ammonia concentration. That means better utilisation of proteins and in our experiment higher weight in experimental group..

References

1. Ahrens F., Schmitz M., Warlies B.: Mikrobieller Zusatzstoff in der Ferkelfütterung. Kraftfutter, 1992, **75**, 418 – 420.
2. Salminen S., Ouwehand A., Benno Y., Lee Y.: Probiotics: how should they be defined? Trends in Food Science and Technology, 1999, **10**, 107 – 110.
3. Samanya M., Yamauchi K. E.: Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2002, **133**, 95-104.

ZLOŽENIE MLIEKA PRASNÍC PO PODÁVANÍ PRÍPRAVKU BIOPLUS 2B

COMPOSITION OF SOW'S MILK AFTER ADMINISTRATION OF PREPARATION BIOPLUS 2B

Link, R., Kováč, G.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

There were 2 x 16 hybrid sows - all with the same genetic background (Landrace, and cross-bred, Landrace x Slovak White) included into the trial. Control and BioPlus 2B groups was balanced according to the sows parity number. The trial lasted from 2 weeks before farrowing until weaning at 4 weeks after farrowing.

Control group was fed with standard feed for lactating sows, experimental one was fed with control feed (same as that of the control group) with 400 g BioPlus 2B/t feed which equals 1.28×10^6 CFU/g feed. Probiotic preparation BioPlus 2B consisted of equal proportion probiotic bacteria *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*, i.e. 1.6×10^9 /g of preparation. In both groups the piglets received the same creep feed without additives until weaning.

Milk-samples of all sows were collected on the 3rd and 14th day of lactation from teats two to six between 9.00 and 11.00 hrs. Milk-samples were analyzed for cholesterol, total lipids, protein, lactose and total solids.

The experimental group had higher content of lipids and cholesterol in milk compared with control group on day 3 and also on day 14 of lactation. The concentration of cholesterol and total proteins had slightly decreasing tendency in both groups, e.g. cholesterol decreased from 1.54%, 1.42% resp., to 1.2% or 0.91%. On the other hand, concentration of lactose increased on day 14 of lactation in both groups. No significant differences between groups were observed in total solids and lactose concentration in sow's milk.

Results of our experiment indicate that the probiotics based on representatives of the genus *Bacillus* are able to affect the nutrient composition, e.g. total lipids and cholesterol, of sow's milk and consequently improve performance and average daily gains of suckling piglets.

Introduction

Recently, in addition to conventional probiotics based on genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, preparations based on representatives of the genus *Bacillus* come into the foreground. At present, we recognise 77 species belonging to the genus *Bacillus*, of which the following are used most frequently: *coagulans*, *subtilis*, *clausii*, *cereus*, *toyoi* (Sanders *et al.*, 2003). In the agricultural sector, *Bacillus licheniformis* has also been used to improve the health status of pigs and increase their weight gains. The advantage of spores as probiotics was proved recently by La Ragione *et al.* (2001) who, after oral administration of *Bacillus subtilis* to one-day-old chicks at a dose of 2.5×10^8 , observed that all symptoms of infection induced by previous inoculation of *E. coli* 078:K80 were suppressed. Germination of spores of *Bacillus cereus* var. *toyoi* in the intestinal samples from broiler chicks was also confirmed by other authors. It seems that germination of spores in the digestive tract is a precondition of the potential probiotic effect resulting in improvement of health and increased weight gains in farm animals (Jadamus *et al.*, 2001).

Material and methods

There were 2 x 16 hybrid sows - all with the same genetic background (Landrace, and cross-bred, Landrace x Slovak White) included into the trial. Control and BioPlus 2B groups

was balanced according to the sows parity number. Both groups consisted of 8 uniparae and 8 multiparae.

From about 14 days before the anticipated farrowing date the sows were housed in conventional farrowing crates. The trial lasted from 2 weeks before farrowing until weaning at 4 weeks after farrowing. The weaning will take place from about 28 days depending on the realised farrowing date.

Control group was fed with standard feed for lactating sows, experimental one was fed with control feed (same as that of the control group) with 400 g BioPlus 2B/t feed which equals 1.28×10^6 CFU/g feed.

In both groups the piglets received the same creep feed without additives until weaning.

Milk-samples of all sows were collected on the 3rd and 14th day of lactation from teats two to six between 9.00 and 11.00 hrs. Milk-samples were analyzed for cholesterol, total lipids, protein, lactose and total solids.

Total solids in milk were determined by drying after weighting to constant weight.

Content of lipids, total proteins and lactose was determined with analyser MilkoScan FT 120 according to producer FOSS Electric Denmark after calibration by norm. Milk samples were diluted with distilled water in ratio 1:3.

Content of cholesterol was analysed by spectrophotometric method with analyser Helios Beta, fy Thermo Spectronic England, length of waves 500 nm, by diagnostic test BIO-LA-TEST Cholesterol Liquid 400 using calibration according to standard solution Solunorm cholesterol (PLIVA-Lachema Ltd., Czech Republic) after curdling and centrifugating of mixture.

Results

In spite of the fact that no significant differences were noticed in concentration of total lipids and cholesterol in milk, the experimental group had higher content of lipids and cholesterol compared with control group on day 3 and also on day 14 of lactation. The concentration of cholesterol and total proteins had slightly decreasing tendency in both groups, e.g. cholesterol decreased from 1.54%, 1.42% resp., to 1.2% or 0.91%. On the other hand, concentration of lactose increased on day 14 of lactation in both groups. No significant differences between group were observed in total solids and lactose concentration in sow's milk (Table 1).

Table 1 Level of nutrients in sow's milk

	3rd day	14th day
TL - exp. group, g/100g	10.41±3.64	10.9±4.2
TL - control group, g/100g	9.14±3.80	9.31±2.31
TCh - exp. group, mmol.l ⁻¹	1.54±1.48	1.2±0.6
TCh - control group, mmol.l ⁻¹	1.42±0.85	0.91±0.35
TP - exp. group, g/100g	6.01±1.02	4.9±0.62
TP - control group, g/100g	6.16±1.55	4.69±0.49
TS - exp. group, g/100g	22.29±3.84	22.3±3.97
TS - control group, g/100g	21.26±4.32	20.54±2.09
Lactose - exp. group, g/100g	4.95±0.99	5.64±0.53
Lactose - control group, g/100g	5.06±0.99	5.77±0.35

TL – total lipids, TCh – total cholesterol, TP – total proteins, TS – total solids

Discussion

Bacillus licheniformis and *Bacillus subtilis* produce proteases, amylase, and catalases, which may explain the influence on composition of milk in the experimental group. About half of all industrially produced proteases and amylases originate from bacteria of the genus *Bacillus*.

These enzymes support digestion of feed which is particularly important for the young of farm animals.

Results of our experiment indicate that the probiotics based on representatives of the genus *Bacillus* are able to affect the nutrient composition of sow's milk and consequently performance and average daily gains of suckling piglets.

References

1. Jadamus A., Vahjen W., Simon O.: Growth behaviour of a spore-forming probiotic in the gastrontestinal tract of broiler chicken and piglets. Arch. Tierernahr., 2001, **54**, 1 – 17.
2. La Ragione R.M., Casua G., Cutting S.M., Woodward M.J.: *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *E. coli* 078:K80 in poultry. Veterinary Microbiology, 2001, **79**, 133 – 142.
3. Sanders M.E., Morelli L., Tompkins T.A.: Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. Comprehensive reviews in food science and food safety, 2003, **2**, 101 – 110.

POUŽITIE BIOLUMINISCENČNEJ METÓDY PRI MONITOROVANÍ HYGIENY PROSTREDIA VYBRANÝCH POTRAVINÁRSKÝCH PREVÁDZOK

UTILIZATION METHOD OF BIOLUMINESCENCE AT THE MONITORING AT SOME FOOD PROCESSING FACILITIES

Lopašovský, E., Pavličová S, Šiška B.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstract

The classic method of microbiological control in the food industry is not competent, because it is time-consuming and the results are asquired after finishing production process. Then the sanitation of production cannot be affected product should be contaminated. This is the reason why are the modern rapid methods are more often use. Method based of bioluminescence reaction is one of these methods. We can know the results till two minults. It's usable in all phases of production food products. We wanted to test this method to we tried it to controll sanitation in factory of noodles, factory of meat products and butchery.

Key words: bioluminescence reaction, control of sanitation, rapid modern method

Úvod

Pre zabezpečenie kvality výrobkov v potravinárskych prevádzkach podľa požiadaviek HACCP je rozhodujúcim faktorom kontrola hygieny a kvality čistenia priestorov i kvalita finálnych výrobkov. Vyšetrenia klasickými mikrobiologickými metódami z hľadiska rýchlosti poskytnutia výsledkov nespĺňajú požiadavky praxe, ktorá požaduje čo najrýchlejšie vyhodnotenie účinnosti sanitácie, stavu hygieny výroby alebo kvality hotového výrobku (Vojtaššák, 2003).

Pre výrobu je optimálne spojenie permanentného monitoringu hygienickej úrovne s poskytnutím výsledkov laboratórneho vyšetrenia ešte v čase, kedy sa dá v prípade nepriaznivých zistení vykonať náprava tak, aby sa predišlo znehodnoteniu výrobku a kontaminácii výrobných priestorov, čo by mohlo zabrániť rozsiahlejším ekonomickým škodám a predovšetkým ohrozeniu zdravia konzumentov, prípadne vzniku alimentárnych ochorení.

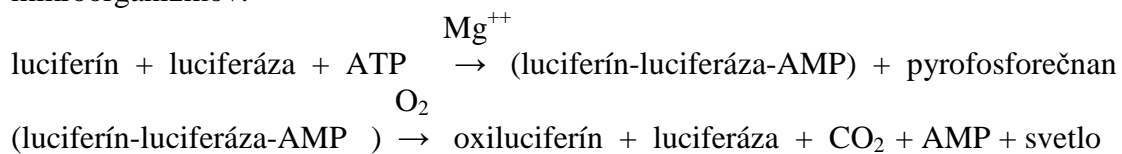
Medzi najzávažnejšie nedostatky pri použití klasických vyšetrovacích metód patria predovšetkým ekonomicky nákladné vybavenie laboratória, potreba odborného zaškolenia personálu, časová náročnosť vyšetrení a ich veľká pracnosť, ktorá spočíva v príprave živných pôd a sterilného laboratórneho skla, v odbere vzoriek, v príprave riedení, v inokulácii, v inkubácii a v interpretácii výsledkov, ďalej je to riziko sekundárnej kontaminácie vedúce k falošne pozitívnym výsledkom. Okrem toho výsledok laboratórneho vyšetrenia je známy najskôr o dva dni, v celom rade prípadov je to však i o viac dní, teda až vtedy, keď je výroba ukončená a produkt môže byť kontaminovaný (Petříková, 2001).

Všetky tieto nedostatky odstraňujú nové moderné metódy, ktorých prednosťami sú predovšetkým rýchlosť, jednoduchosť, časová i personálna nenáročnosť, ľahká manipulácia, zistenie prítomnosti nečistôt a predovšetkým možnosť okamžitej nápravy.

Zvýšený počet mikroorganizmov, prípadne výskyt nežiaducej mikroflóry, sú zvyčajne až konečným dôsledkom nesprávne vykonaného čistenia a dezinfekcie, primárny problém spočíva v nedokonalom odstránení organických zvyškov pri výrobe potravín z technologických zariadení, prípadne z pracovného prostredia. Neodstránené organické látky sú vhodnou živnou pôdou pre pomnožovanie mikroorganizmov, čo vedie ku vzniku nežiaducej kontaminácie.

Výsledky kontroly účinnosti vykonanej sanitácie, ktoré sú k dispozícii o relatívne krátky čas, majú ten význam, že na ich základe možno v prípade nepriaznivých zistení okamžite opakovať celý sanitačný proces, prípadne podľa potreby upraviť niektorú jeho etapu. Môže to byť napríklad dlhšie pôsobenie detergentu, zmena čistiaceho prípravku alebo zmena jeho koncentrácie a i.

V súčasnosti sa čoraz v širšom meradle začínajú používať metódy na báze bioluminiscencie (Suková, 2002). Bioluminiscenčná reakcia je luminiscenčná reakcia katalyzovaná enzymaticky, pri ktorej vzniká z energeticky bohatých molekúl svetlo. Uplatnenie bioluminiscencie pri kontrole hygieny je založené na meraní množstva ATP nachádzajúceho sa vo všetkých živých bunkách alebo v ich partikulách a taktiež v mikroorganizmoch, v ktorých slúži ako zdroj energie. Množstvo svetla uvoľnené pri bioluminiscenčnej reakcii ATP (adenozíntrifosfatázy) so špecifickými chemickými činidlami je priamo úmerné množstvu ATP, a teda aj množstvu mikroorganizmov:



Priebeh reakcie je veľmi rýchly (niekoľko sekúnd), množstvo vzniknutého svetla sa dá objektívne kvantifikovať pomocou citlivého prístroja – luminometra – ktorý je schopný zachytiť a zmerať i veľmi malé množstvo vznikajúceho svetla. Na základe dosiahnutých výsledkov je možné ihneď urobiť závery, či je alebo nie je analyzovaná vzorka kontaminovaná. Veľkou výhodou tejto metódy je vysoká citlivosť, nezávislosť na skúsenostiach personálu a reprodukovateľné výsledky do 2 minút.

Materiál a metodika

Vzorky sterov sme odoberali vo výrobní cestovín pred začatím výroby, vo výrobní mäsových výrobkov počas výroby a na bitútku pred zabíjaním ošípaných, z viacerých častí technologických zariadení. Odberové miesta sú uvedené v tabuľke 1 – 3, ktoré obsahujú dosiahnuté výsledky i grafy.

Na meranie bioluminiscencie sme použili prístroj UNI-LITE XCEL, pri práci s ktorým sme museli podľa pokynov výrobcu vykonať tieto pracovné úkony:

- vybrať Cleantrace sterovku z ochrannej tuby
- otáčaním sterovacej tyčinky urobiť ster z plochy 10 cm²
- po vykonaní steru vrátiť sterovku do ochrannej tuby, až kým sa neuskutoční meranie na prístroji
- meranie uskutočniť do 4 hodín od odobratia steru
- nepretláčať sterovku do uskutočnenia merania
- pred začatím merania skontrolovať pozadie prístroja (najviac 10 RLU)
- pri vyššom pozadí skontrolovať meraciu komoru prístroja
- aktivovať Cleantrace sterovku stlačením modrého vrchu sterovky dovnútra ochrannej tuby
- obsah sterovky pretrepaním homogenizovať po dobu asi 5 sekúnd (zabezpečenie dobrého zmiešania reagentov v sterovke)
- pretlačenú sterovku vložiť do komory prístroja Uni – Lite a zatvoriť veko
- po zapnutí zeleného meracieho gombíka počkať asi 15 sekúnd a na displeji prístroja sa objaví výsledok.

Je to metóda CLEANTRACE sterovaním a vyhodnotením hygieny prostredia prístrojom BIOTRACE Uni-Lite.

Výsledky

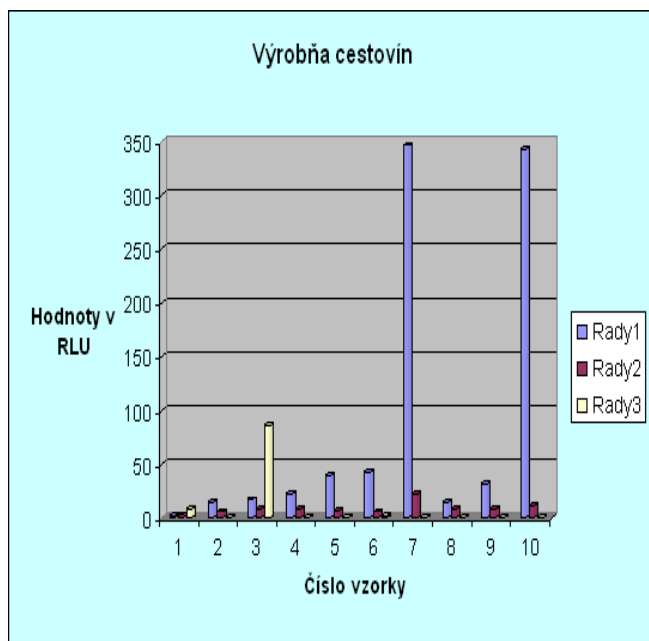
Výrobňa cestovín (tab.1)

Miesto odberu	Odber 1 (Rad 1)	Odber 2 (Rad 2)	Odber 3 (Rad 3)
väčší stroj	2	3	8
miešačka	15	6	1
malý stroj	17	8	86
stroj na mrvenicu	23	8	1
stôl pohyblivý	40	7	0
stôl pri váhe	43	6	2
matrica veľká	347	22	1
matrica malá	15	9	1
sito	32	9	1
stena sušičky	343	11	1

Doporučené limity:
Hraničné (medzné)
201-399

Vyhovujúce: < 200

Nevyhovujúce: > 400



Podľa doporučených limitov pre rôzne druhy potravín vyjadrené v RLU (Relative Light Units - relatívne svetelné jednotky)

Výrobňa mäsových výrobkov (tab. 2)

Miesto odberu

koreniny - lopatka	22
stôl na mäso	12
vozík	8
koleso - kúter	606
rezačka - vonkajšia strana	3
sušiareň č.3 - palica	646
debňa	637
etiketa	521
baliareň - stôl	501
fólia na balenie	401

Doporučené limity:

Vyhovujúce: < 500

Hraničné (medzné): 501-909

Nevyhovujúce: > 1 000

Hodnoty
(Rad 1)



Bitúnok (tab. 3)

Miesto odberu a namerané hodnoty

(Rad 1)

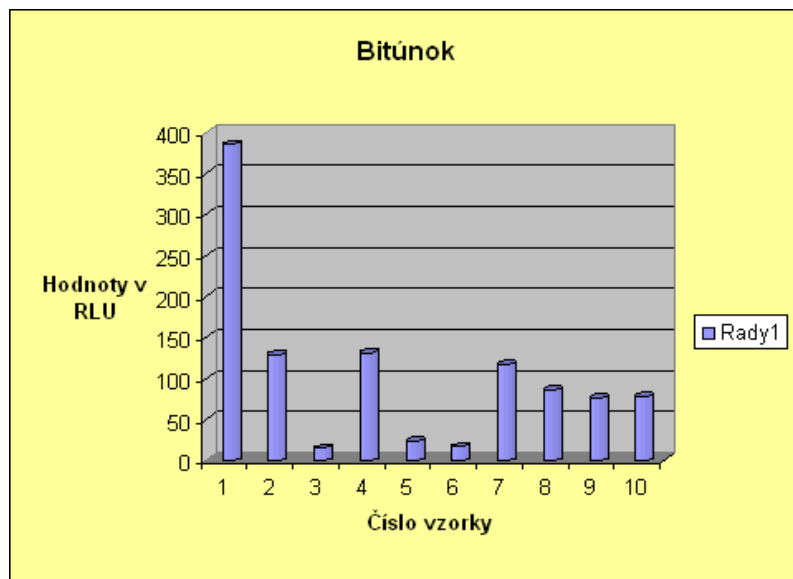
pracovný stôl č. 1	385
pracovný stôl č. 2	129
stena pred chladiarňou č. 1	23
červená prepravka	131
stromček	23
stena pred chladiarňou č. 2	17
nôž	117
pariaca vaňa	86
háč na vešanie JOT	76
umývadlo	78

Doporučené limity:

Vhovujúce : < 1 000

Hraničné (medzné): 1 001 – 1 999

Nevyhovujúce: > 1 000



Diskusia

Celkovo sme odobrali a vyšetrili 50 vzoriek z troch potravinárskych prevádzok. Po odčítaní a interpretovaní dosiahnutých výsledkov sme konštatovali, že všetky výsledky boli v numerickej tolerancii, ktorú uvádza výrobca s doporučenými limitmi pre rôzne druhy výroby potravín.

Zistenie ATP poukazuje na prítomnosť akejkoľvek organickej nečistoty, ktorá je substrátom pre pomnoženie mikroorganizmov a jej vyššie hodnoty znamenajú buď prítomnosť mikroorganizmov alebo ich potenciálnej živnej pôdy.

Pri použití prístroja UNI-LITE XCEL s príslušenstvom sme výsledok dosiahli už do dvoch minút a všetky údaje boli prístrojom vytlačené na papieri. Vzhľadom na rýchlosť a presnosť uvedenej metódy možno skonštatovať, že pri monitorovaní hygieny pracovného prostredia pri väčšom počte odobratých vzoriek je výhodné používať bioluminiscenčné metódy, lebo vyššie investičné náklady sa v krátkom čase ekonomicky zhodnotia.

Literatúra

1. Nariadenie komisie (ES) č. 2073/2005 z 15.11.2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny
2. Nariadenie vlády SR č. 281/2003 Z.z., príloha č. 7, v znení neskorších predpisov
3. Petříková, D. 2001. Rýchle mikrobiologické metódy pri monitorovaní hygieny. www.skatec.cz
4. Suková, I. 2002. Rychlá metoda hodnocení hygieny provozu. Kvalita potravin, 2002, č. 1, s. 18.

Vojtaššák, J. 2003: Kontrola hygieny pomocou detektoru Lightning MVP. Maso, roč. 14, 2003, 5, s. 33-35.

VPLYV GAMA ŽIARENIA NA CELKOVÚ ANTIOXIDAČNÚ KAPACITU PLAZMY U KURČIAT

THE EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON THE PLASMA TOTAL ANTIOXIDANT STATUS IN CHICKENS

Lovásová, E., Škardová I.1, Sesztáková E. 1, Rácz O.

Ústav patologickej fyziológie LF UPJŠ Košice, 1I. Interná klinika UVL Košice

Abstract

Aim: The effect of gamma irradiation on the plasma total antioxidant status in chickens was studied in this work. **Methods:** 40 broiler chickens (age 31 days) were irradiated by gamma rays (^{60}Co source) at a dose 3 Gy (dose rate 0,08 Gy/min), using whole body irradiation. The plasma total antioxidant status (TAS) was determined 1, 3, 14 and 25 days after irradiation. 20 chickens were used as a control. **Results:** TAS was significantly elevated 1 hour after irradiation ($1,11 \pm 0,16$ mmol/l, $p < 0,05$ vs. control: $0,88 \pm 0,16$ mmol/l). 3, 14 and 25 days after irradiation, TAS had decreased highly significantly, when compared with group 1 hour after irradiation ($0,76 \pm 0,08$ mmol/l, $p < 0,0001$; $0,80 \pm 0,10$ mmol/l, $p < 0,0005$; $0,86 \pm 0,20$ mmol/l, $p < 0,01$). **Conclusions:** The results show that gamma irradiation led to stimulation of extracellular antioxidants in the first day after irradiation. The decrease of TAS in the next days might be a result of exhaustion of plasma antioxidants as a part of antioxidant defence. 25 days after irradiation the TAS recovered to control values.

Supported by the grant VEGA 1/3503/06 of the Ministry of Education of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences.

Úvod

Mnoho experimentálnych prác v posledných rokoch dokázalo, že ionizujúce žiarenie v rôznych typoch buniek indukuje produkciu tzv. reaktívnych foriem kyslíka (RFK), ktoré spôsobujú oxidačné poškodenie životne dôležitých molekúl, vrátane DNA, bielkovín a lipidov (Sun a spol., 1998). Produkcia RFK je v bunkách, ale aj v extracelulárnom priestore prísne kontrolovaná sieťou antioxidantov, ktoré buď priamo odstraňujú RFK, alebo nepriamo regulujú ich produkciu (Han a spol., 2005).

Vplyv gama žiarenia na aktivitu intracelulárnych antioxidantov (najmä antioxidačných enzýmov a glutatiónu) bol sledovaný viacerými autormi (Kojima a spol., 1997, 1999; Nomura a Yamaoka, 1999). Cieľom našej práce bolo sledovať zmeny extracelulárnych antioxidantov vyvolaných gama žiarením, prostredníctvom stanovenia súhrnného ukazovateľa spoločného účinku všetkých extracelulárnych antioxidantov, tzv. celkovej antioxidačnej kapacity plazmy (TAS - total antioxidant status) v rôznych časových intervaloch po ožiarení.

Práca bola riešená v rámci úlohy Vedeckej grantovej agentúry MŠ SR VEGA 1/3503/06.

Materiál a metodika

Do experimentu bolo zaradených 60 brojlerových kurčiat vo veku 31 dní. 40 kurčiat bolo jednorázovo celotelovo ožiarených dávkou 3 Gy (0,08 Gy/min). Po ožiarení boli rozdelené do štyroch skupín po 10 jedincoch. V štvrtej skupine jedno zviera po ožiarení uhynulo. Jednotlivé skupiny boli po 1 dni (skupina 1d), 3 dňoch (skupina 3d), 14 dňoch (skupina 14d) a 25 dňoch (skupina 25d) po ožiarení usmrtené dekapitáciou a bola im odobratá krv na analýzu. Kontrolnú skupinu (skupina K) tvorilo 20 kurčiat.

Krv sme odoberali do heparinizovaných skúmaviek a po centrifugácii sme plazmu použili na stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity (TAS). TAS sme merali metódou podľa Millera a

spol. (1993) s našou modifikáciou metódy (Lovásová a Rácz, 1998) s použitím meracej súpravy TOTAL ANTIOXIDANT STATUS (Randox Laboratories, Veľká Británia).

Pre porovnanie významnosti rozdielov medzi jednotlivými skupinami sme použili Turkey-Kramerov test (viacfaktorová analýza ANOVA). Za štatisticky významnú sme považovali hladinu významnosti 5 % ($p < 0,05$).

Výsledky

Výsledky experimentu sú zhrnuté v tabuľke 1 a na obrázku 1.

Tab. 1 Vplyv gama žiarenia na TAS

Skupina	n	TAS [mmol/l]
K	20	$0,88 \pm 0,16$
1d	10	$1,11 \pm 0,15$ #
3d	10	$0,76 \pm 0,08$ ****
14d	10	$0,80 \pm 0,10$ ***
25d	9	$0,86 \pm 0,20$ **

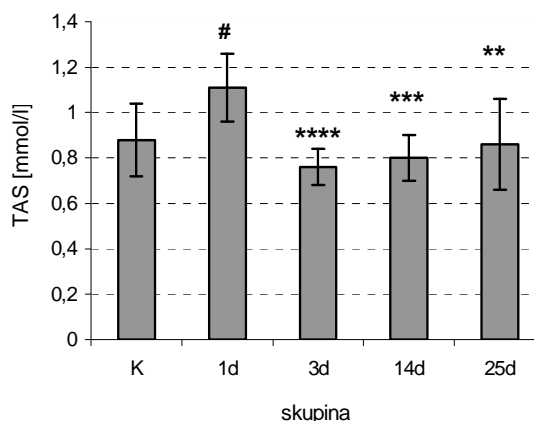
- $p < 0,05$ v porovnaní s kontrolnou skupinou

** - $p < 0,01$ v porovnaní so skupinou 1d

*** - $p < 0,0005$ v porovnaní so skupinou 1d

**** - $p < 0,0001$ v porovnaní so skupinou 1d

Obr. 1 Zmeny TAS plazmy v závislosti od doby po ožiarení



Prvý deň po ožiarení sa TAS u experimentálnych zvierat v porovnaní s kontrolnou skupinou signifikantne zvýšila. V ďalších dňoch (3. – 25. deň) klesla až pod hodnotu kontrolnej skupiny. Oproti kontrolnej skupine tento pokles nebol signifikantný, bol ale výrazne signifikantný oproti hodnote TAS v prvý deň po ožiarení. Na 25. deň sa hodnota TAS vrátila ku kontrolným hladinám.

Diskusia

Antioxidačná aktivita plazmy nie je daná len účinkom jedného antioxidantu, ale je tvorená súhrnným účinkom celej siete antioxidantov, najmä neenzýmových (vitamín E, vitamín C, kyselina močová, albumín a iné SH antioxidanty, bilirubín a iné). Pre posúdenie antioxidačného statusu plazmy je nutné brať do úvahy nie len ich samostatný antioxidačný účinok, ale aj ich možné interakcie. Preto bolo vytvorených niekoľko metód pre posúdenie súhrnného účinku všetkých extracelulárnych antioxidantov (Cao a Prior, 1998). Jednou z nich je metóda na stanovenie TAS.

V našej práci sme sa zamerali na sledovanie zmien celkovej antioxidačnej kapacity plazmy u kurčiat po jednorázovej celotelovej expozícii gama žiarením (^{60}Co) v celkovej dávke 3 Gy, ako aj závislosti zmien na dobe, ktorá uplynula od ožiarenia. Prvý deň po ožiarení sa hodnota TAS výrazne zvýšila oproti kontrolnej skupine. Vplyvu gama žiarenia na aktivitu extracelulárnych antioxidantov je venovaným pomerne málo prác, avšak indukciu intracelulárnych antioxidantov (superoxiddismutáza, glutatiónpoxidáza, kataláza, glutatión) gama žiarením pozorovali viacerí autori (Kojima a spol., 1997, 1999; Nomura a Yamaoka, 1999). Domnievajú sa, že zvýšenie aktivity týchto antioxidantov je súčasťou komplexnej odpovede organizmu, ktorou sa chráni pred oxidačným poškodením, ktoré spôsobilo žiarenie. V našom prípade však zvýšenie TAS bolo spôsobené pravdepodobnejšie uvoľnením intracelulárnych antioxidantov z poškodených buniek do extracelulárneho priestoru. Tretí deň po ožiarení hladina TAS prudko poklesla, pričom nasledujúce dni pomaly stúpala až po hladinu veľmi blízku kontrolnej skupine, ktorú dosiahla na 25. deň. Pokles TAS bol podľa nášho názoru spôsobený vyčerpaním

antioxidantov z extracelulárneho priestoru ako súčasť obrany organizmu pred oxidačným poškodením.

Literatúra

1. CAO G., PRIOR R.L.: Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem*, 44, 1998, 1309 – 1315.
2. HAN Y., SON S.J., AKHALAIA M., PLATONOV A., SON H.J., LEE K.H., YUN Y.S., SONG J.Y.: Modulation of radiation-induced disturbances of antioxidant defese system by ginsan. *eCAM*, 2(4), 2005, 529 – 536.
3. KOJIMA S., MATSUKI O., KINOSHITA I., GONZALES T.V., SHIMURA N., KUBODERA A.: Does small-dose gamma-ray radiation induce endogenous antioxidant potential in vivo? *Biol Phar Bull*, 20, 1997, 601 – 604.
4. KOJIMA S., MATSUKI O., NIMURA O., YAMAOKA K., TAKAHASHI M., NIKI E: Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by low-dose gamma-ray irradiation and its effect on the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced brain damage. *Free Radic Biol Med*, 26, 1999, 388 – 395.
5. LOVÁSOVÁ E., RÁČZ O.: Modifikácia metódy na stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity krvnej plazmy a séra. *Laboratórna diagnostika*, 2/98, 1998, 131.
6. MILLER N.J., RICE-EVANS C., DAVIES M.J., GOPINATHAN V., MILNER A.: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, 84, 1993, 407 – 412.
7. NOMURA T., YAMAOKA K.: Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl₄ in mouse liver. *Free Radic Biol Med*, 27, 1999, 1324 – 1333.
8. SUN J., CHEN Y., KI M., GE Z.: Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance. *Free Radic Biol Med*, 24, 1998, 586 – 593.

VPLYV STOPOVÝCH PRVKOV NA IMUNITNÝ SYSTÉM

INFLUENCE OF TRACE ELEMENTS TO THE IMMUNE SYSTEM

Lukáč, N., Massányi, P., Capcarová, M., Kolesárová, A., ¹Zajíc, J., Zemanová, J., Kalafová, A.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, ¹Klinika chorob prežvýkavcov, VaFU – Brno
Česká republika

Abstract

Several trace elements are essential micronutrients and are required for various body functions and well being of the immune system. The deficiencies of trace elements and infectious diseases often coexist and exhibit complex interactions. Main trace elements such as selenium, zinc, copper, manganese, etc. have immunomodulatory functions and thus influence the susceptibility to the course and the outcome of a variety of viral infections. Some trace elements inhibit virus replication in the host cells, thus showing antiviral activity. Many trace elements act as antioxidants or help such functions that not only regulate immune responses of the host, but also may alter the genome of the viruses. The grave consequences of this may be the emergence of new infections. The trace elements and immune system interactions have been briefly reviewed in this article.

Key words: trace elements, immune system, enzymes

Úvod

Väčšina stopových kovov sú esenciálne výživové prvky pre človeka ale aj pre zvieratá, patria sem selén, zinok, meď, kobalt, mangán, molybdén, chróm, nikel a železo. Medzi významné funkcie stopových prvkov patrí determinácia, mobilizácia a konštantná väzba na biologické ligandy. Niektoré sú využité pri elektrických impulzoch pozdĺž nervových vlákien iné sú stabilnou súčasťou komplexov s enzýmami alebo nukleovými kyselinami prípadne ligandmi. V biologických procesoch sa uplatňujú ako spúšťače, aktivátori ako aj kontrolóri celej škály reakcií. Iná skupina stopový prvkov vytvára pevný statický komplex a stávajú sa integrálnou časťou proteínov a enzýmov. Množstvo biologických systémov sú závislé na dennom príjme stopových prvkov (meď, zinok, mangán).

Oxidatívny stres je významným faktorom v infekčnom procese ak sú v deficite mikroprvky (1). Stopové prvky a niektoré ich zlúčeniny majú antivírusovú aktivitu prostredníctvom inaktivácie celulárnych proteínov. Teda stopové prvky zohrávajú významnú úlohu pri chorobách vyvolanými vírusmi (2-5).

Imunitný systém predstavuje významnú zložku organizmu integritujúci fyziologické funkcie eliminujúce cudzorodé zložky, infekčné mikróby ako aj odumreté vlastné bunky. Tieto mechanizmy sú zabezpečené prostredníctvom nešpecifickej (vrodenej) alebo špecifickej (získanej) imunity so zložitými procesmi, ktoré sú koordinované celou radou buniek (lymfocyty, makrofágy, antigén prezentujúce bunky a pod.) a molekulárnych látok (cytokínov, imunoglobulínov, imunohormónov). Makrofágy predstavujú bunky prvej línie pri obranných procesoch vyznačujúce sa fagocytárnou, cytotoxickou a sekretorickou aktivitou. Mikroelementy ako zinok, selén, železo, meď a iné významne ovplyvňujú jednotlivé zložky nešpecifickej imunity. Vybrané mikroelementy zohrávajú významnú úlohu v ochrane buniek pred poškodením vyvolané oxidantmi. Fagocyty produkujúce reaktívne oxidanty sa zúčastňujú v ochrane proti infekčnými agens. Nedostatok zinku znižuje funkciu NK buniek, pričom prídavok tohto prvku výrazne zlepšuje aktivitu NK buniek. Poznatky o špecifickom účinku mikroelementov na funkciu neutrofilov sú nejasné (6).

T- a B-lymfocyty sú efektorové bunky imunitného systému. B-lymfocyty produkujú špecifické protilátky ako odpoveď na antigén. T-lymfocyty napomáhajú B-lymfocytom v produkcii protilátok, a môžu aj cytotoxicky odpovedať na prítomnosť cudzích korpuskulárnych štruktúr. Cytokíny sú solubilné glykoproteíny uvoľňované bunkami imunitného systému, ktoré neenzymaticky prostredníctvom špecifických receptorov regulujú imunitné odpovede. Patrí sem celá škála proteínov z malou molekulovou hmotnosťou, farmakologicky aktívne, produkované bunkami pričom pôsobia parakrinne resp. autokrinne. Sekrečný profil cytokínov významne koreluje s charakteristickou funkciou pomocných T-lymfocytov –Th1 a Th2, ktorá je významnou podskupinou Th buniek rozlišujúcou membránovým znakom CD4+. Th1 sekredujú interferón γ (IFN- γ), interleukín (IL) 2 a tumor nekrotizujúci faktor (TNF- β) ktoré sú zodpovedné za bunkami sprostredkované zápalové procesy, oneskorený typ hypersenzitivity a v poškodení tkaniva pri infekčných a autoimunitných ochoreniach. Th2 uvoľňujú IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, a IL-13 a spolupodieľajú na aktivácii B-lymfocytov a tým na produkcii protilátok. TNF- α a IL-10 sa navzájom a autoregulečne ovplyvňujú. (7,8).

Existuje celá škála biologicky aktívnych zlúčenín, ktoré majú priamy primárny alebo sekundárny účinok na imunitný systém. Vplyv chemikálií prostredníctvom liekov, pesticídov, uhlíkov, ťažkých a stopových prvkov zahrňujúce anorganické resp. organické látky významne ovplyvňujú imunitný systém a tým ovplyvňujú patológiu, imunológiu a toxikológiu ochorenia. Najväčší význam pre správnu funkčnosť imunitného systému majú zinok, železo, meď a selén.

Predkladaná štúdia prináša nové poznatky ohľadom vplyvu vybraných stopových prvkov na imunologické vlastnosti organizmu.

Selén

Selén je esenciálny stopový prvok výrazne ovplyvňujúci funkčnosť imunitného systému. Nedostatok selénu je spojený s vznikom Keshanovej choroby prejavujúcou sa zväčšením srdca a oslabenou srdečnou funkciou (9,10).

Selén je nenahraditeľnou zložkou bielkovín obsahujúcich selenocysteín. Tento výrazne ovplyvňuje biochemické procesy v bunkách a ovplyvňuje aj imunitný systém. Je to najhlavnejšia časť antioxidantných enzýmov, ktoré chránia bunku pred agresívnym účinkom voľných radikálov a sú produkované počas fyziologického oxidatívneho metabolizmu. Antioxidant glutationperoxidáza (GPx) chráni neutrofile pred kyslíkovými radikálmi, ktoré sú produkované fagocytovými a indigestovanými cudzími mikróbmi (11). Selén ako súčasť selenoproteínov výrazne ovplyvňuje funkciu aj makrofágov, NK buniek a T lymfocytov. Prítomnosť selénu vysoko redukuje apoptotické procesy v in vitro podmienkach. Zvýšený prísun selénu znižuje riziko vzniku rakoviny a zmierňuje priebeh aj iných patologických procesov spôsobujúcich oxidatívny stres a zápal (12).

Zinok

Zinok sa nachádza v rôznych formách. Stimuluje a aktivizuje približne 100 enzýmov. Zinok je nenahraditeľným prvkom nachádzajúci sa v každej bunke (13,14). Uplatňuje sa nielen pri syntéze DNA ako súčasť zinkových slučiek ale aj pri činnosti imunitného systému a zmyslových procesoch a to hlavne pri vnímaní chuti a vône.

Požadovaná hladina zinku je nevyhnutná pre delenie T lymfocytov (maturáciu a diferenciáciu), pre účinnú mitogénnu odpoveď lymfocytov ako aj v procesoch programovanej bunkovej smrti myeloidného a lymfoidného pôvodu, pre transkripciu génov a správnu funkčnosť biomembrán (15). Sú stavy keď nedostatok zinku vyvolá zníženie imunitných funkcií. Nedostatok zinku spôsobí poklesu primárnej aj sekundárnej imunitnej odpovedi a zníženie tvorby cytotoxických T lymfocytov po imunizácii (16).

Po doplnení zníženej hladiny zinku dochádza k zvýšeniu cirkulujúcich T lymfocytov a zvyšuje sa likvidačná schopnosť lymfocytov. Vysoké dávky zinku evokujú negatívny účinok na bunky imunitného systému a no takéto stavy sú zriedkavé skôr sa vyskytuje deficit zinku. Po in vitro

inkubácii periférnych krvných mononukleárov so zinkom dochádza k výraznému uvoľňovaniu cytokínov ako IL-1, IL-6, TNF- α , k stimulácii IFN- γ a rozpustných IL-2 receptorov (IL-2R). Nedostatok zinku mení prednanciu imunitnej odpovedi Th1 na Th2 (16). Zinok je štruktúrnou zložkou celej škály proteínov, neuropeptidov, polynukleodidov a hormonálnych receptorov. medzi najznámejšie enzýmy obsahujúce zinok patrí superoxid dizmutáza, tymulín esenciálny pre správnu diferenciáciu T-lymfocytov v týmusu. Je produkovaný epiteliálnymi bunkami týmusu. Zinok tiež inhibuje produkciu TNF čo sa prejaví patofyziologicky kachexiou a vyčerpanosťou (napr. AIDS).

Zinok ako súčasť metaloproteínu, ktorý je známy ako špecifický vírusový (v) a bunkový (c) proteín s motívom Zn-prstu (zinc finger proteins – ZFP) zohráva kľúčovú úlohu v procesoch aktivácie transkripcie, proliferácie buniek, neovaskularizácie, apoptóze, vírusovej infekcii. Je známe, že nedostatok zinku v bunkových kultúrach indukuje apoptózu v bunkách transformovaných vírusom, bunky s príjmom zinku zostávajú neovplyvnené infektom. Zinkové metaloproteíny sú užitočné preventíva pri prenosných vírusových ochoreniach (17).

Meď

Meď je nevyhnutný a kľúčový prvok mnohých biochemických procesov a rozhodujúci pre správnu funkčnosť enzýmov organizmu. Jeho účinok je spojený so správnu funkciou nervového systému, ako aj v udržiavaní rovnováhy hladín zinku a molybdénu. Hoci sa viaže hlavne na proteíny, môže byť uvoľnený a zúčastňovať sa na katalýze veľmi reaktívnych hydroxylových radikálov (*OH), ktoré vyvolávajú oxidatívne poškodenie bunky. Zinok má schopnosť presunúť meď z väzbového miesta kde môže vyvolať pôsobenie voľných radikálov (19). Arthington et al. (1996), dokázal, že nedostatok medi vplýva na hladiny proteínov akútnej fázy, aktivitu superoxid-dizmutázy, počet leukocytov a proliferáciu lymfocytov u zvierat infikovaných HSV (herpes simplex vírus) -1. Sérové koncentrácie medi výrazne ovplyvňujú hladiny imunoglobulínov pri pečenej dysfunkciách.

Kobalt

Kobalt je esenciálny prvok pre živočíchy. Zúčastňuje sa na syntéze vitamínu B12 kobalamínu. Ovplyvňuje krvotvorbu v kostnej dreni, počet erytrocytov v pozitívnom smere. Chelatóny obsahujúce kobalt majú protivírusový účinok. Z výsledkov účinku kobaltu na imunitnej odpovedi sa nezistili preukazné vplyvy. Nedochádza k zmenám počtu leukocytov ako aj hladín albumínov, globulínov a protilátok po výraznom dotovaní kobaltu (20). Ani perorálne podávanie kobaltu vo forme síranu kobaltnatého nepôsobí ako protektívum voči vírusovým chorobám.(21).

Molybdén

Molybdén má rozhodujúci význam hlavne v metabolických procesoch rastlín. V živočíšnych bunkách sa uplatňuje ako súčasť enzýmov: pečenej sulfidoxidázy, aldehydoxidázy a xantínoxidázy. Molybdén formuje oxid a je podstatnou zložkou pterín koenzýmu, ktorý je nevyhnutný pre aktiváciu xantínoxidázy, sulfidoxidázy a aldehydoxidázy. Je dokázaný účinok výživového doplnku molybdénu a medi na hladiny TNF a iných cytokínov pri herpes vírusových ochoreniach teliat a ovplyvňovaní telesnej teploty pri vírusovej rinotracheitíde (20).

Nikel

Nikel je esenciálny prvok pre živočíchy. Nikel je prítomný v krvi vo forme nízkomolekulového komplexu pevne viazaného na sérový albumín a v tkanivách v konštantných množstvách. Taktiež je asociovaný s DNA a RNA v takých množstvách, ktoré podnecujú celý rad fyziologických procesov. Pri nedostatku niku dochádza napučaniu mitochondrií a perinukleárneho priestoru čo naznačuje jeho funkciu v membránach. Predpokladá sa, že rôzne enzýmy deaminujúce glutamín majú v aktívnom centre ión niklu. Nikel je potrebný pre normálny rast a reprodukciu zvierat a taktiež človeka. Javí sa ako prvok, ktorý zohráva významnú úlohu v modulácii imunitného systému a vývoji mozgu. Nikel vplýva na zvýšenie aktivity B a T- lymfocytov sleziny no neovplyvňuje tymocyty. Následkom zvýšeného príjmu

niklu ale dochádza k poklesu cytotoxických T lymfocytov, Th lymfocytov a makrofágov (22). Potenciálne toxický kov ako je nikel sa výrazne uplatňuje počas zápalových procesoch srdca následkom CBV (Coxsackie B vírus) infekcie (23).

Železo

Železo je nevyhnutné pre transport kyslíka a ako nenahraditeľná súčasť významných bielkovín (hemoglobín, myoglobín). Taktiež zohráva kľúčovú úlohu v oxidatívnych procesoch bunky ako aj na raste buniek. Železo veľmi ľahko prijíma ale aj uvoľňuje elektrón a preto zohráva významnú úlohu v metabolizme ale aj ako potencionálny toxikant. Množstvo absorbované železo a železo z makrofágov musí byť v rovnováhe s potrebami a výdajom železa. Ak berieme do úvahy malé množstvo absorbovaného železa z potravy a porovnáme ho s celkovo potrebným množstvom železa, ktoré sa musí denne vymeniť medzi jednotlivými časťami organizmu (asi 36 mg), ľahko si vieme predstaviť, že už malá porucha rovnováhy medzi príjmom a výdajom železa môže vyvolať deficienciu alebo nadbytok tohto prvku. Výrazne zmeny vyvolávajúce pokles železa akcelerujú erythropoézu. Hypoxia si vyžaduje zvýšenie intestinálnej absorpcie železa a intenzívne uvoľnenie železa z makrofágov. Takže železo sa považuje sa jeden z regulátorov hemopoézy. Je známe, že nadbytok železa stimulačne ovplyvňuje tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (ROS) ako aj hydroxylových radikálov (*OH) z peroxidu vodíka (H₂O₂) prostredníctvom Fentonovej reakcie (24). V tomto zmysle je antagonistom selénu.

Kadmium

Kadmium patrí, podobne ako aj iné ťažké kovy, medzi imunosupresívne látky, čo súvisí s väzbou kadmia na γ – globulíny. Lymfocyty akumulujú kadmium v ďaleko väčšej miere ako erytrocyty. Môže to byť jedno z vysvetlení pre zmeny imunitnej reakcie živočíchov, ktoré prijímajú kadmium, nakoľko lymfocyty sú kľúčovými celulárnymi komponentami imunitných reakcií. Kapacita buniek syntetizovať metalothioneín po expozícii kadmia je dôležitým bunkovým adaptačným mechanizmom voči toxicite kadmia, avšak nie je to nutne jediný mechanizmus a taktiež ďalšie prídavné faktory môžu zohrať významnú úlohu. Druhou dôležitou látkou, ktorá viaže kadmium je všadeprítomný tripeptid glutatión. Je dokázané v in vitro experimentoch, že nízke koncentrácie kadmia výrazne inhibujú produkciu IgE pričom nedochádza k zmenám sekrécie IgM. (25).

Záver

Aj keď všeobecné vlastnosti esenciálnych stopových prvkov sú odlišné v aktivácii a v ovplyvňovaní početných funkcií buniek imunitného systému, no špecifické vlastnosti týchto stopových prvkov ostanú do značnej miery nedefinované. Nové poznatky o interakčných účinkoch zinku, selénu, železa a medi v maturácii a včasnej aktivácii buniek imunitného systému sú využiteľné v praxi. Rozvážne použitie dosiahnutých poznatkov je možné účinne využiť v bunkovej biológii, molekulárnej genetike a iných biotechnologických oblastiach. Tieto výsledky inšpirujú k využitiu výživových doplnkov obsahujúcich stopové prvky ako efektívneho prostriedku na redukciiu rizika vzniku infekčných ochorení. Je potrebné zvážiť prípadné využitie niektorých stopových prvkov proti vírusovým agens, keďže majú imunomodulačný efekt. Sú stopové kovy, ktoré majú protivírusovú aktivitu iné môžu zmeniť genetickú informáciu vírusov a tak zvýšiť virulenciu.

Pod'akovanie

Výskumné súčasti príspevku boli spracované za finančnej podpory projektu MŠ SR VEGA 1/2417/05.

Literatúra

1. Evans, P. and Halliwell, B., Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br. J. Nutr. (Suppl.)*, 2001, 85, 67–74.
2. van der Strate, B. W., Beljaars, L., Molema, G., Harmsen, M. C. and Meijer, D. K., Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res.*, 2001, 52, 225–239.
3. Sherrington, C. A. and Olynyk, J. K., Iron as a cofactor in chronic hepatitis C infection. *Liver*, 2002, 22, 187–189.
4. Semba, R. D., Iron-deficiency anemia and the cycle of poverty among human immunodeficiency virus-infected women in the inner city. *Clin. Infect. Dis. (Suppl.)*, 2003, 37, 105–111.
5. Bhaskaram, P., Micronutrient malnutrition, infection and immunity: An overview. *Nutr. Rev.*, 2002, 60, 40–45.
6. Erickson, K. L., Medina, E. A. and Hubbard, N. E., Micronutrients and innate immunity. *J. Infect. Dis. (Suppl.)*, 2000, 182, 5–10.
7. Mosmann, T. R. and Sad, S., The expanding universe of T cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol. Today*, 1996, 17, 138–146.
8. Chaturvedi, U. C., Dhawan, R. and Mukerjee, R., Immunosuppression and cytotoxicity of dengue infection in the mouse model. In *Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever* (eds Gubler, D. J. and Kuno, G.), CAB International Press, Wallingford, UK, 1997, pp. 289–309.
9. National Research Council, Food and Nutrition Board, Recommended Dietary Allowances. National Academy Press, Washington DC, 1989, 10th edn, pp. 1–15.
10. Combs, G. F. Jr. and Gray, W. P., Chemopreventive agents: Selenium. *Pharmacol. Ther.*, 1998, 79, 179–192.
11. Arthur, J. R., McKenzie, R. C. and Beckett, G. J., Selenium in the immune system. *J. Nutr. (Suppl.)*, 2003, 133, 1457S–1459S.
12. Ferencik, M., Ebringer, L., Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system. *Folia Microbiol. (Praha)*, 2003, 48, 417–426.
13. Sandstead, H. H., Understanding zinc: recent observations and interpretations. *J. Lab. Clin. Med.*, 1994, 124, 322–327.
14. Solomons, N. W., Mild human zinc deficiency produces an imbalance between cell-mediated and humoral immunity. *Nutr. Rev.*, 1998, 56, 27–28.
15. Beck, F. W., Prasad, A. S., Kaplan, J., Fitzgerald, J. T. and Brewer, G. J., Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272, 1002–1007.
16. Baum, M. K., Shor-Posner, G. and Campa, A., Zinc status in human immunodeficiency virus infection. *J. Nutr.*, 2000, 130, 1421–1423.
17. Fernandez-Pol, J. A., Hamilton, P. D. and Klos, D. J., Essential viral and cellular and iron containing metalloproteins as targets for novel antiviral and anticancer agents: implications for prevention and therapy of viral diseases and cancer. *Anti. Cancer Res.*, 2001, 21, 931–957.
18. Funseth, E., Lindh, U., Friman, G. and Ilback, N. G., Relation between trace element levels in plasma and myocardium during coxsackievirus B3 myocarditis in the mouse. *Biometals*, 2000, 13, 361–367.
19. Gaetke, L. M. and Chow, C. K., Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 2003, 189, 147–163.
20. Gengelbach, G. P., Ward, J. D., Spears, J. W. and Brown, T. T. Jr., Effect of copper deficiency and copper deficiency coupled with high dietary iron or molybdenum on phagocytic cell function and response of calves to a respiratory disease challenge. *J. Anim. Sci.*, 1997, 75, 1112–1118.

21. Greig, A., Macleod, N. S. and Allison, C. J., Tick borne fever in association with nurusol disease and cobalt deficiency in calves. *Vet. Rec.*, 1977, 100, 562–564.
22. Ilback, N. G., Fohlman, J. and Friman, G., Changed distribution and immune effects of nickel augment viral-induced inflammatory heart lesions in mice. *Toxicology*, 1994, 91, 203–219.
23. Ilback, N. G., Lindh, U., Fohlman, J. and Friman, G., New aspects of murine coxaschie B3-myocarditis-focus on heavy metals. *Eur. Heart. J.*, 1995, 16, 20–24.
24. Antal M., Iron turnover in the human body. In: *Trace Elements In the Food Chain. Proceeding. International Symposium on Trace Elements in the Food Chain, Budapest, Hungary, May, 2006*, pp. 350-356
25. Jelovcan S, Gutschi A, Kleinhappl B, Sedlmayr P, Barth S, Marth E.: Effects of low concentrations of cadmium on immunoglobulin E production by human B lymphocytes in vitro. *Toxicology*. 2003 Jun 3;188(1):35-48.

ZMENY V ŠTRUKTÚRE KOSTI RYŠAVKY ŽLTOHRDLEJ (APODEMUS FLAVICOLLIS) Z ROZDIELNYCH BIOTOPOV

CHANGES IN BONE STRUCTURE OF YELLOW-NECKED MOUSE (APODEMUS FLAVICOLLIS) FROM DIFFERENT BIOTOPES

Martiniaková, M.¹, Omelka, R.², Grosskopf, B.³, Jančová, A.¹

¹Department of Zoology and Anthropology, ²Department of Botany and Genetics, Constantine the Philosopher University, Nitra, Slovak Republic; ³Institute of Zoology and Anthropology, Georg – August University, Göttingen, Germany

Abstract

In this study a structure of long bones of yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) living in different biotopes of hillock level (relatively clean region - Nitra and polluted region - Nováky) was investigated. Altogether 30 *femora* were analysed. We compared bone length, bone weight and histological structure of the bones between investigated animals from different biotopes. Our results indicate that measured values for bone length and bone weight were higher in small terrestrial mammals living in polluted biotope. The differences were statistically significant ($P < 0.01$; $P < 0.001$). Histological observation of thin sections through a shaft of *femora* from *Apodemus flavicollis* revealed an outer and inner essentially non-vascular lamellar layer around a poorly developed reticular layer, containing unorganized vascular canals. We did not identify changes in qualitative histological characteristics of the bones between animals from different biotopes. Therefore, we suppose that environmental factors (including chemical elements in the environment) influence the macroscopic structure of the *femora* in *Apodemus flavicollis*; however, genetics plays a substantial role in the variability of bone microstructure.

Introduction

Bone structure is generally influenced by both biological and environmental factors. In rodents, compact bone tissue forms the shafts of long bones, the surfaces of their extremities, short bones, and the outer and inner layer (*lamina externa et interna*) of the skull vault. Basic constituents of its structural organization are primary osteons and secondary osteons. While primary osteons are not surrounded by a reversal (cement) line and lamellae round them merge smoothly with the surrounding bone, the secondary osteons consist of a central (Haversian) channel, which is surrounded by concentric rings (lamellae) of matrix (Currey, 2002; Martiniaková et al., 2006).

According to Enlow and Brown (1958) the outer compacta of rodents is made of circumferential lamellae containing a few vessels, but it is essentially non-vascular in structure. In the middle of reticular compacta, secondary activity is evident, but Haversian bone tissue is not always formed. An absence of Haversian bone tissue was also identified in the study by Martiniaková et al. (2005) for adult rats. On the other hand, Rajtová and Globočník (1978) mention an occurrence of secondary osteons in compact bone tissue of adult mice.

The yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) is slightly larger and more brightly coloured than the wood mouse. It eats mainly seeds, especially acorns, beech mast, and hazel nuts, but also takes some insects and other invertebrate food (Jančová et al., 2002).

In the present study a structure of long bones of yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) living in different biotopes (relatively clean region – Nitra and polluted region – Nováky with high accumulation of As, Cd, Cu and Pb) was investigated.

Material and Methods

Our research focused on 30 *femora* from adult animals of the species *Apodemus flavicollis*. The bone length, bone weight and histological structure of the *femora* between investigated animals from different biotopes were investigated. Values for macroscopical analysis were expressed as mean \pm standard deviation. The T-test was used to distinguish possible changes in bone length and bone weight between examined rodents.

For histological analysis, each of the bones was sectioned at the mid-shaft of its diaphysis. In total, 30 transversal sections of the *femur* diaphysis were cut. The obtained segments were macerated and degreased (Martiniaková et al., 2005). Later the samples were embedded in epoxy resin Biodur (Herrmann et al., 1990). Transverse thin sections (70-100 μ m) were prepared with a sawing microtome (Leitz 1600) and mounted on glass slides with Eukitt (Merck). The qualitative characteristics of analysed microstructure were determined according to Enlow and Brown's (1956) classification systems in anterior, posterior, medial, and lateral views of thin sections.

Results and Discussion

Our results indicate that measured values for bone length and bone weight were higher in *Apodemus flavicollis* living in polluted biotope (Nováky). The differences were statistically significant (Table 1). It could indicate a stimulation effect of heavy metals (As, Cd, Cu and Pb) on these quantities. It has been demonstrated that body weight and weight of liver and kidney is higher in some animals after administration of cadmium. Toman et al. (1999) mention a significantly higher body weight in rabbits after 3 weeks of Cd application. The same fact was identified in rats from 4 weeks of Cd intake (Toman et al., 2002). In addition, the authors also found a significantly higher weight of liver after 6 weeks of experiment ($P < 0.01$), as well as for left kidney after 10 weeks of Cd application ($P < 0.05$). Moreover, Osweiler et al. (1985) report a positive effect of the lead on bone growth. Their results indicate that Pb affects the metabolically active growth centres of long bones in young animals.

Table 1 Results of macroscopical analysis of investigated *femora*.

rodents	locality	n	bone weight (g)	bone length (cm)
<i>A. flavicollis</i>	Nitra	18	0.072 \pm 0.011	1.870 \pm 0.106
	Nováky	12	0.089 \pm 0.021 ⁺⁺	2.025 \pm 0.092 ⁺⁺⁺

$P < 0.01$ (++) , $P < 0.001$ (+++)

In general, there is a significant relationship between the amount of metal residue in soil, water also in food and in the organs of mammals and representatives of remaining classes of vertebrates, firstly of all in liver and kidneys (Komarnicki, 2000). The results by Jančová et al. (2006) suggest that a concentration of copper, iron and cadmium in selected organs of *Apodemus flavicollis* (*kidney*, *testis* and *uterus*) from the area of Nováky was in all cases significantly higher in comparison with the one from the area of Mochovce (part of Nitra region, relatively clean region), respectively. It signalizes a negative effect of power station Nováky on environmental (mainly soil) pollution resulting from mine work and/or from road traffic. We suppose that significantly higher concentration of these elements will also be detected in the bones of small terrestrial mammals living in the region Nováky. In order to obtain more reliable results in this direction, concentration of heavy metals in the *femora* is assessed now.

Histological observation of thin sections through a shaft of *femora* from investigated rodents revealed an outer and inner essentially non-vascular lamellar layer around a poorly developed reticular layer, containing unorganized vascular canals. No secondary osteons were found in the microstructure, showing that the remodeling process is absent in investigated bones. Similar results were also reported in the studies by Enlow and Brown (1958) and

Martiniaková et al. (2005). We did not identify changes in qualitative histological characteristics of the *femora* between *Apodemus flavicollis* from different biotopes. Therefore, we suppose that environmental factors (including chemical elements in the environment) could influence only macroscopic structure of the bones in rodents examined. According to Havill (2003) bone microstructural morphology is, in addition, genetically mediated and provides a direction for further exploration into this phenomenon. Beamer et al. (2001) report that environmental factors are important contributors to variability in bone microstructure, but genetics plays a substantial role, with estimates of heritability ranging from 40-93%. For obtaining more reliable results, quantitative histological analysis of the bone tissue will be necessary. It is the subject of current research.

Our study seems to be the first report about changes in long bone structure of *Apodemus flavicollis* from different biotopes. Further research in this direction will need to extend the number of analysed skeletal elements and to verify the results that were obtained from our skeletal samples.

Acknowledgment

This study was supported by the grants VEGA 1/2364/05 (Ministry of Education, Slovak Republic) and CGA VI/6/2004.

References

1. Beamer W.G., Shultz K.L., Donahue L.R., Churchill G.A., Sen S., Wergedal J.R., Bayling D.J. and Rosen C.J.: J. Bone Miner. Res, 2001, 16, 1195-1206.
2. Currey J.D.: Bones: structure and mechanics. Princeton University Press: New Jersey, 2002, 14-21.
3. Enlow D.H. and Brown S.O.: The Texas Journal of Science, 1956, 8, 405-412.
4. Enlow D.H. and Brown S.O.: The Texas Journal of Science, 1958, 10, 187-230.
5. Havill L.M.: Calcif. Tissue Int, 2003, 74, 95-102.
6. Herrmann B., Grupe G., Hummel S., Piepenbrink H. and Schutkowski H.: Prähistorische Anthropologie. Leitfaden der Feld- und Labormethoden. Springer Verlag: Heidelberg, 1990
7. Jančová A., Massányi P. and Gálová J.: Folia Veterinaria, 2002, 46, 65-67.
8. Jančová A., Massányi P., Nad' P., Koréneková B., Skalická M., Drábková J. and Baláž I.: Ekológia (Bratislava), 2006, 25, 19-26.
9. Komarnicki G.J.K.: Chemosphere, 2000, 41, 1593-1602.
10. Martiniaková M., Grosskopf B., Vondráková M., Omelka R. and Fabiš M.: Scripta Medica (Brno), 2005, 78, 45-50.
11. Martiniaková M., Grosskopf B., Omelka R., Dammers K., Vondráková M. and Bauerová M.: Int. J. Osteoarchaeol, 2006, 16: in press
12. Osweiler G.D., Carson T.L., Buck W.B. and Van Gelder G.A.: Clinical and diagnostic veterinary toxicology. Kendall/Hunt Publishing Company: Iowa, 1985
13. Rajtová V. and Globočnik E.: Gegenbaurs. Morphol. Jahb. 1978, 124, 649-662.
14. Toman R., Massányi P. and Kováčik J.: Folia Veterinaria, 1999, 43, 182-185.
15. Toman R., Massányi P., Čupka P., Lukáč N., Ducsay L., Kolenkáš M., Turčan J. and Haščík P.: Risk factors of the food chain: proceeding book, SPU Nitra, 2002, 154-157.

VPLYV OXIDAČNÝCH PRODUKTOV MASTNÝCH KYSELÍN NA DNA HODNOTENÝ DNA/SPE BIOSENZOROM

INFLUENCE OF FATTY ACID OXIDATIVE PRODUCTS ON DNA EVALUATED BY DNA/SPE BIOSENSOR

Matulová, M., Sirotová, L., Ondrejovič, M., Kiss, E.

Výskumný ústav potravinársky, Modra

Abstract

The aim: Electrochemical DNA/screen-printed electrode (DNA/SPE) biosensor was used for evaluation of DNA damage caused by oxidized fatty acids.

Methods: A computerized voltammetric analyzer fitted with a screen-printed carbon paste electrode was used. The working electrode without any chemical preconditioning was modified by covering with sample mixture containing DNA influenced by oxidized fatty acids and their oxidative products.

Results: Tested secondary products of oxidized fatty acids were shown to interact with DNA in vitro as measured by electrochemical DNA/SPE biosensor. All tested fatty acids showed a damaging effect on DNA following their oxidation, whether being or not oxidized in the presence of metal ions, hydrogen peroxide and ascorbic acid.

Conclusions: The measuring system of electrochemical DNA/SPE biosensor with $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ as marker may be used for detection of DNA damage caused by oxidized fatty acids, but needs to be further elaborated and additional analytic methods would be useful, as using the DNA/SPE biosensor is not able to determine the way, by which fatty acids and their oxidative products interact with DNA.

Úvod

Nenasýtené mastné kyseliny majú mnoho biologicky významných vlastností. Medzi inými plnia úlohu zdroja energie pre bunku a sú štruktúrnymi a funkčnými stavebnými jednotkami bunkových a organelových membrán (Nicolson a kol. 1977, Subczynski a Wisniewska 2000). V prírode patria medzi molekuly, ktoré sú najcitlivejšie na pôsobenie kyslíka.

Zvyšky mastných kyselín v membránových fosfolipidoch sú extrémne náchylné na oxidáciu a môžu sa zúčastňovať dlhých reťazových radikálových reakcií za vzniku primárnych produktov peroxidácie lipidov s relatívne krátkou dobou životnosti, ktorými sú lipidový (L), lipoperoxylový (LOO), lipid-alkoxylový (LO) radikál a hydroperoxydy lipidov. Vznikajúce sekundárne produkty, ako sú nereaktívne alkoholy mastných kyselín a reaktívne prostaglandíny, aldehydy, alkány, ketóny a epoxidy lipidov sa vyznačujú dlhšou životnosťou a sú schopné difundovať na miesta vzdialené od membrán. Tu môžu poškodzovať rozličné dôležité molekuly, teda proteíny, lipidy a nukleové kyseliny (Spiteller 2003, Davies 2000, Vaca a kol. 1988).

Reakciou produktov oxidácie mastných kyselín s DNA bázami dochádza k tvorbe aduktov báz, čo sa prejavuje genotoxickým a mutagénnym účinkom. Takéto zmeny v DNA sa spájajú so starnutím (Harman, 1992, Shigenaga, Hagen and Ames, 1994) a dokonca aj rakovinou (Bartsch 1996, Loureiro, Di Mascio a Medeiros, 2002).

V našej štúdií sme skúmali použitie biosenzora, pozostávajúcho z tzv. screen-printed elektródy modifikovanej vrstvou DNA pre detekciu poškodenia DNA spôsobeného vybranými oxidovanými mastnými kyselinami a štandardami oxidačných produktov mastných kyselín s využitím diferenčnej pulzovej voltametrie ako elektrochemickej techniky a $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ ako elektrochemického indikátora interkalovaného do DNA.

Materiál a metodika

Štandardy oxidačných produktov mastných kyselín, menovite heptán, 1-heptén, 1-hexén, 1-decén, oktán, hexán, *t*-2-oktenal, γ -kaprolaktón, *t,t*-2,4-dekadialenal, *t*-2-oktén boli zakúpené od Sigma (Steinheim, Nemecko). Malondialdehyd (MDA) bol pripravený hydrolýzou tetraetoxypropánu. Arachidónová kyselina bola zakúpená od firmy Calbiochem (Darmstadt, Nemecko). Alfa-linolénová, gama-linolénová a dokosahexaénová kyselina boli zakúpené od firmy Larodan (Malmö, Švédsko). Zásobný roztok DNA (ctDNA) (Calbiochem, Darmstadt, Nemecko) s koncentráciou 1 mg/ml bol pripravený použitím 10 mM Tris-HCl s 1 mM EDTA, pH 8. Elektrochemický marker $[\text{Co}(\text{phen})_3]\text{ClO}_4$ bol dodaný FCHPT STU (Bratislava, Slovensko). Ostatné chemikálie boli analytickej čistoty.

DNA/SPE biosenzor

Použil sa počítačom riadený analyzátor EcaPol 110 (Istran, Bratislava, Slovensko) s pripojeným zariadením troch screen-printed elektród, pozostávajúcim z pracovnej uhlíkovej elektródy a argento/argentochloridovej referenčnej a pomocnej elektródy. Pracovná elektróda sa bez predchádzajúcej chemickej predúpravy modifikovala vrstvou roztoku vzorky a nechala sa do druhého dňa vysušiť. Vzorkou modifikovaná SPE sa ponorila do 5 mM fosforečnanového tlmivého roztoku s pH 7.0 a po 5 minútach za miešania sa opláchla vodou. Akumulácia markera $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ z 5 ml jeho 0.05 mM roztoku v 5 mM fosforečnanovom roztoku prebiehala počas 120 s za stáleho miešania pri otvorenom okruhu. Potom sa zaznamenal diferenčný pulzový voltamperogram v rozpätí od 400 do -400 mV pri amplitúde pulzu 100 mV, skenovacím kroku 2 mV pri skenovacej rýchlosti 25 mV/s. Následne sa SPE modifikovaná vzorkou regenerovala odstránením akumulovaných iónov $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ z DNA ponorením do 100 mM fosforečnanového tlmivého roztoku s pH 7.0 za miešania počas 120 s.

Pomer I/I_0 predstavuje stupeň poškodenia DNA a vypočítal sa ako pomer maximálneho prúdu markera vzorkou modifikovanej SPE (I) a maximálneho prúdu markera SPE modifikovanej DNA ($5 \cdot 10^{-7}$ g/ml) (I_0). Obe hodnoty boli upravené odrátaním priemerného maximálneho prúdu markera nameraného nemodifikovanou SPE za rovnakých podmienok. Maximálny prúd bol nameraný trikrát.

Poškodenie DNA

Modifikácia SPE roztokom DNA a štandardov oxidačných produktov mastných kyselín

ctDNA (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) bola inkubovaná s testovanými chemikáliami (1 mM alebo 10 mM) v 0.1 M KH_2PO_4 s pH 4.5 alebo 5 mM fosforečnanovom tlmivom roztoku s pH 7.0 počas 24 h pri 37°C. Po inkubácii sa 10 μl zmesi nanieslo na povrch uhlíkovej elektródy. Modifikovaná SPE sa nechala zaschnúť do druhého dňa. Prúdová odozva sa zmerala postupom popísaným vyššie.

Modifikácia SPE roztokom DNA a mastnej kyseliny s použitím 40% etanolu

ctDNA (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) bola inkubovaná s jednotlivými mastnými kyselinami v 0.1 M fosforečnanovom tlmivom roztoku s pH 7.0 s alebo bez obsahu Fe^{2+} alebo Cu^{2+} iónov, peroxidu vodíka a kyseliny askorbovej v koncentrácii 0.05 mM počas 24 h pri teplote 37°C. Pred samotnou inkubáciou masťná kyselina (0.1 M roztok mastnej kyseliny v 96% etanole) bola, resp. nebola oxidovaná počas 1 h pri 100°C. Definovaný objem roztoku sa pridal k reakčnej zmesi s výslednou koncentráciou mastnej kyseliny 1 mM. Po inkubácii sa 10 μl zmesi nanieslo na povrch uhlíkovej pracovnej elektródy. Modifikovaná SPE sa nechala zaschnúť do druhého dňa. Pred meraním prúdového signálu sa SPE ponorila do roztoku 40% etanolu v 5 mM fosforečnanovom tlmivom roztoku s pH 7.0 na 2 min za miešania. Potom sa modifikovaná SPE opláchla vodou a zmerala sa prúdová odozva postupom popísaným vyššie.

Modifikácia SPE s využitím extrakcie DNA etanolom

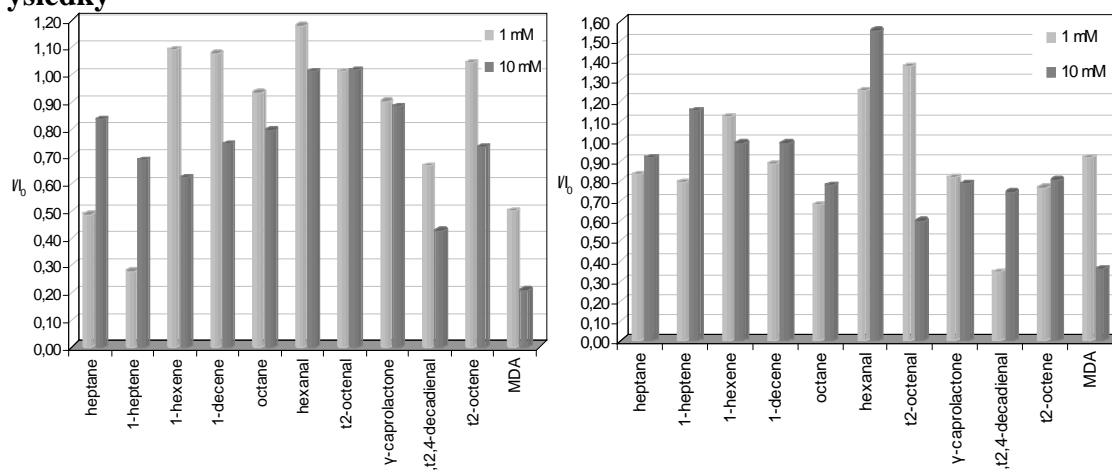
V tejto metóde sa pozušil etanol pre extrakciu DAN zo vzorky obsahujúcej masťnú kyselinu, namiesto nanášania vzorky obsahujúcej DNA spolu s masťnou kyselinou na povrch uhlíkovej elektródy. Po inkubácii vzorky sa k zmesi pridal dvojnásobný objem studeného etanolu azmes sa nechala stáť pri -20°C počas 2 h. Po centrifugácii pri 2000 g 20 min pri 5°C sa supernatant zliat a získaná DNA sa rozpustila v 0.1 M fosforečnanovom tlmivom roztoku s pH 7.0, aby sa dosiahol pôvodný objem vzorky. Po premiešaní na vortexe 10 μl DNA roztoku nanieslo na povrch uhlíkovej pracovnej elektródy. Modifikovaná SPE sa nechala zaschnúť do druhého dňa. Prúdová odozva sa zmerala postupom popísaným vyššie.

GC analýza

GC analýza produktov oxidovaných masťných kyselín po extrakcii vzorky dichlórmetánom sa uskutočnila použitím chromatografu HP 5890 Series II Plus (Hewlett-Packard, Agilent Technologies, USA) s FID detektorom. Kolóna: DB-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm), injektor: 280°C , 1 μl , split 20:1, detektor: 300°C . Teplotný program pece: 50°C (1min), $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ na 235°C (3 min), 10°C na 280°C (2 min).

Všetky analýzy boli vykonané v troch paralelných meraniach a uvedené výsledky sú ich priemernými hodnotami.

Výsledky



Graf 1. Vplyv štandardov oxidačných produktov masťných kyselín na DNA pri pH 4.5 a pH 7.0.

Tabuľka 1: Vplyv oxidovaných masťných kyselín v prítomnosti alebo neprítomnosti kovových iónov, peroxidu vodíka a kyseliny askorbovej na DNA.

I/I ₀	Arachidónová kyselina	Docosahexaénová kyselina	Alfa-linolénová kyselina	Gama-linolénová kyselina
Neoxidovaná	0.75 ± 0.00	0.36 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.11 ± 0.03
Oxidovaná 1 h 100°C	0.76 ± 0.12	0.57 ± 0.07	0.45 ± 0.09	0.25 ± 0.04
+ Fe^{2+} + H_2O_2 + k. askorbová	0.30 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.11 ± 0.01	0.25 ± 0.05
+ Cu^{2+} + H_2O_2 + k. askorbová	0.46 ± 0.05	0.08 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.14 ± 0.02

Tabuľka 2: Vplyv oxidovaných mastných kyselín v prítomnosti alebo neprítomnosti kovových iónov, peroxidu vodíka a kyseliny askorbovej na DNA pri použití extrakcie DNA etanolom.

I/I_0	Arachidónová kyselina	Docosahexaénová kyselina	Alfa-linolénová kyselina	Gama-linolénová kyselina
Neoxidovaná	1.12 ± 0.07	1.11 ± 0.00	0.72 ± 0.15	0.96 ± 0.00
Oxidovaná 1 h 100°C	1.05 ± 0.01	1.30 ± 0.14	0.67 ± 0.03	0.95 ± 0.06
+ Fe^{2+} + H_2O_2 + k. askorbová	0.59 ± 0.11	0.85 ± 0.18	0.76 ± 0.02	0.78 ± 0.03
+ Cu^{2+} + H_2O_2 + k. askorbová	0.25 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.26 ± 0.05	0.21 ± 0.03

Diskusia

Testované sekundárne produkty oxidovaných mastných kyselín interagovali s DNA *in vitro* pri použití elektrochemického DNA/SPE biosenzora (graf 1).

Vplyv použitého pH (pH 4.5 a pH 7.0) nebol rovnaký pre všetky testované látky, ale vo všeobecnosti sa poškodzujúce účinky týchto zlúčenín prejavovali vo väčšej miere pri pH 4.5. Vplyv koncentrácie testovaných zlúčenín na rozsah poškodenia DNA nebol v tomto meracom systéme jednoznačne preukázaný. Ako najviac poškodzujúce zlúčeniny sa ukázali heptán, 1-heptén, 2,4-dekadienal a MDA.

Všetky testované mastné kyseliny preukázali poškodzujúci účinok na DNA po ich oxidácii v prítomnosti alebo neprítomnosti kovových iónov, peroxidu vodíka a kyseliny askorbovej (tabuľka 1 a 2).

Pri použití SPE modifikovanej vzorkou v kombinácii s použitím 40% etanolu pre odstránenie zvyškov mastného charakteru z povrchu elektródy sa zistilo poškodenie DNA vplyvom mastných kyselín oxidovaných pri vysokých teplotách. Poškodenie DNA bolo väčšie v prípade použitia kovových iónov, v niektorých prípadoch dosahoval pomer I/I_0 hodnoty vyššie v prípade Fe^{2+} iónov, inokedy v prípade Cu^{2+} iónov (tabuľka 1).

Nižšie hodnoty pomeru I/I_0 namerané pre neoxidované mastné kyseliny sú pravdepodobne spôsobené vrstvou mastnej kyseliny pokrývajúcej povrch DNA-modifikovanej elektródy, čím dochádza k znemožneniu prístupu molekúl $[Co(phen)_3]^{3+}$ k DNA a nižšej prúdovej odozvy.

V prípade modifikácie SPE DNA extrahovanej etanolom zo vzorky obsahujúcej mastnú kyselinu sme dosiahli vo všeobecnosti vyššie hodnoty I/I_0 (tabuľka 2). Poškodenie DNA bolo najväčšie v prítomnosti Cu^{2+} iónov v reakčnej zmesi, ako to naznačujú hodnoty I/I_0 a vo všetkých prípadoch bolo relatívne podobné.

GC analýza potvrdila oxidáciu mastných kyselín a zväčša prítomnosť rôznych uhľovodíkových kyselín kratšieho a stredne dlhého reťazca, ako sú hexánová, pentánová a oktánová kyselina.

V niektorých prípadoch bol prúdový signál vzorkou modifikovanej SPE vyšší ako signál DNA-modifikovanej SPE, čo poukazuje na možnú afinitu oxidačných produktov mastných kyselín voči $[Co(phen)_3]^{3+}$ a môžu tiež podliehať takým interakciám s DNA, ktoré spôsobujú zvýšenie prúdovej odozvy. Tento jav bol pozorovaný aj v prípade modifikácie SPE vzorkou obsahujúcou štandardy oxidačných produktov mastných kyselín. Tieto interakcie však použitím DNA/SPE elektrochemického biosenzora nemožno vysvetliť, k tomu je potrebná iná metóda.

Merací systém elektrochemického DNA/SPE biosenzora s $[Co(phen)_3]^{3+}$ ako markerom môže byť použitý pre detekciu poškodenia DNA spôsobeného oxidačnými produktami mastných kyselín, ale jeho použiteľnosť je obmedzená na zlúčeniny, ktoré nemajú afinitu k použitému markeru a povrchu elektródy. Obe metódy modifikácie SPE DNA môžu byť použité pre detekciu vplyvu oxidačných produktov mastných kyselín na DNA, naďalej ich však treba

zdokonaľovať. Užitočné by boli ďalšie analytické metódy umožňujúce vysvetlenie spôsobu interakcie oxidačných produktov mastných kyselín s DNA, čo táto metóda neposkytuje.

Poďakovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVT-27-010304.

Literatúra

1. Bartsch H. (1996). DNA adducts in human carcinogenesis: etiological relevance and structure-activity relationship, *Mutat. Res.*, 340: 67-69.
2. Harman D. (1992). Free radical theory of aging, *Mutat. Res.*, 275: 257-266.
3. Loureiro APM, Di Mascio P, Medeiros MHG. (2002). Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagênese e carcinogênese, *Quim. Nova*, 25: 777-793.
4. Nicolson G.L., Poste G. and Ji T. (1977). Dynamic aspects of cell membrane organization, *Cell Surface Rev.*, 3: 1-73.
5. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 91: 10771-10778.
6. Spiteller G. (2003). The relationship between changes in the cell wall, lipid peroxidation, proliferation, senescence and cell death, *Phys. Plant.*, 119: 5-18.
7. Subczynski W.K. and Wisniewska A. (2000). Physical properties of lipid bilayer membranes: relevance to membrane biological functions, *Acta Biochim. Pol.*, 47: 613-625.
8. Vaca C.E., Wilhelm J. and Harms-Ringdahl M. (1988). Interaction of lipid peroxidation products with DNA, *Mutat. Res.*, 195: 137-149.

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN BIVALVIA ANODONTA CYGNEA AS INDEX OF THE WATER QUALITY IN THE FISHING RIVER

Mishchuk O., Stolyar O., Golongovska L.

Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine

Abstract.

The comparison of the parameters of antioxidant defence system in bivalvia, Unionidae from two sites of fishing river (near the buss station in the city and agricultural cite) and from laboratory was undertaken with the aim to investigate whether parameters are sensitive to differences in water quality. The superoxide dismutase (Cu,Zn- and Mn-SOD) and catalase (CAT) activity as well as the oxidative stress markers (lipid peroxidation, carbonyl protein, redox and oxidative forms of glutathione) were measured. The clams which were collected near the buss station were characterised by the depletion of Mn-SOD and CAT activity, oxidative changes in GSH state and elevation of the oxidative destruction of lipids. The activity of Cu,Zn-SOD was rather stable. The differences between clams from laboratory and agricultural site were less expressed except the level of protein carbonyls which was higher in the clams from laboratory than in field groups. Consequently the toxic effect of different pollutants contributing to a final overall adverse effect to native waters in a small river was shown concerning oxidative stress.

Introduction

The main attention in the investigations devoted to biomonitoring of freshwater quality is predominantly paying to observation of biota from water bodies with significant level of pollution from pointed sources. But very little is known about biological effects of low-level contaminants from road run off, drainage and groundwater, which are uncontrollable under field conditions. Western Ukraine is reported to be a relatively clean ecologic territory, which, unlike eastern and central regions of Ukraine did not host vast manufacture capacities. Negative changes in the ihtioph fauna were nevertheless monitored here during last years (Hudiy, 2002). The supplying of the effective control of small rivers pollution is especially difficult and no provide by official instances, nevertheless these rivers are actively explored for fishing. Yet no verification of biochemical parameters to display the quality of aquatic sphere was performed in biotesting of this area.

Bivalve molluscs have a number of properties, which make them useful sentinels for chemical pollution. By filtering large quantities of water, clams may be exposed to large quantities of pollutants even when their concentrations are quite small. They have a widespread geographical distribution, are stationary and represent, in most cases, an important element of water ecosystems. In addition, they represent the traditionally food resource for poultry. So their contamination may effect on the higher stages of food chain.

At the biochemical level, biomarkers include studies on oxidative stress as a general response on toxicity induced by many redox cycling chemicals, transition metals and many other compounds. Studies that have demonstrated potential for antioxidant defence responses and oxidative damage in aquatic invertebrates in field conditions were performed in last years (Doyotte et al., 1997; Livingstone, 2001). But they were mostly devoted to marine organisms in hardly polluted area.

The present study aimed to compare the antioxidant defence system response in the tissues of bivalve mollusc of the Unionidae family in native field conditions and transplanted to a laboratory. Since gills and digestive glands are main target organs for several pollutants, these tissues were utilised to study this influence on molluscs. It is the first occurrence to our

knowledge that oxidative stress-related parameters used to monitor the impact of the pollutant discharges have been measured in the freshwater bivalve on the territory of Ukraine.

Materials and methods

The experiments were carried out in October 2005. Individuals of bivalve molluscs *Anodonta cygnea*, Unionidae approximately 10-11 cm long were collected manually from the depth 0.5 m in a small river Gnizna (basin of Dnister, middle stream). Two exposure sites were selected. The first one is located near the bus station in city Terebovlia (50000 habitants) close to the mouth of river and the second site is situated in an agricultural zone upstream this city. Any sources of industrial pollution are situated in surrounding. The third group of clams was transplanted to laboratory where the clams were put in the aerated settle tap water for up 14 days. The tanks were refilled with new water three times per week

Tissues were homogenized in 0.1 M pH 7.4 phosphate buffer containing KCl and EDTA. For the inhibition of proteolysis a few crystals of phenylmethylsulfonyl fluoride were added. Homogenates were centrifuged at 10 000×g for 30 min. The resulting supernatant was immediately used for measurements. Superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) activity was measured in accordance with the method of Beauchamp and Fridovich (1971) In order to assess Mn-SOD activity, homogenate was preincubated for 60 min at 0 °C in the presence of 5 mM KCN. The latter activity was calculated as the difference between the activities in the absence and the presence of KCN. Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) activity was assayed by the method of Aebi (1974). Reduced glutathione (GSH) was determined in non-catalytic assays as the major acide soluble thiol in a protein free supernatant (Sedlak and Lindsey, 1968). Determination of GSH+GSSG was carrying out using sodium borohydride as reducing agent (Habeeb, 1973).

Lipid and protein oxidative destruction were observed in the same sample of 10 % (w/v) homogenate (Lushchak et al., 2004). KMnO₄ and FeSO₄ were added consequently to homogenate for better creation of oxidative products. Lipid peroxidation was determined in the supernatant by the production of TBA-reactive substances (TBARS) (Ohkawa et al., 1979). The proteins in pellet have been solubilized in 8 M urea and the protein carbonyl content, as an index of protein oxidation, was measured in the resulting supernatants by the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (Stadtman and Levine, 2000). The protein's content was determined by the method of Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin as the standard. All measurements were expressed as means ±S.D of 6 animals analysed. The comparative analysis was run by applying the Fisher's test.

Results

The comparison of the activity of SOD isoforms demonstrates the several times higher activity of Cu,Zn-SOD then Mn-SOD (Tabl 1). The last isoform was more sensitive to the conditions of being. The activity of Mn-SOD was oppressed in the tissues of clams collected near the buss station in comparison with other groups therefore the activity of Cu,Zn-SOD was similar in all groups in each tissue. CAT activity was decreased in both field groups, but especially in the group from buss station. The depletion of GSH and rose of GSSG level in tissues of clams from buss station was also observed. The measure of the oxidative damage (Tabl. 2) revealed the increased TBARS production in the tissues of clams from the buss station. On the other hand, diminished level of protein carbonyls in field conditions was reflected in comparison with that in laboratory.

Discussion

The traditional system of control of water pollution that is based on revealing by analytical methods of the certain substances is not effective. It caused by the absence of a plenty of analytical methods of revealing of all toxic combinations which can be the part of by-pass flow

waters, diverse character of interaction of separate components of a mix and so on. In recent years increasing emphasis has been placed on the use of biomarkers as a tool for monitoring both environmental quality and adaptation of organisms (Doyotte et al., 1997; Livingstone, 2001).

According to numerous reports, the depletion of antioxidant defence system compounds and activation of oxidative destruction in field conditions are demonstrated in transplanted into the wasted site clams or in the residents of polluted area (Doyotte et al., 1997; Regoli et al., 2002; Camus et al., 2004). Our data also suggest these observations. The higher sensitivity of Mn-SOD if to compare with Cu,Zn-SOD may be explained by its locality in mitochondria, where the main sources of reactive oxygen species are represented. The especially abrupt oppression was observed for CAT activity. As it known, CAT is a scavenger of hydrogen peroxide, therefore its low activity should indicate the incapability of clams in the transformation of H₂O₂ in the system and confirms the presence of pollutants in both field sites. But in the clams from buss station the inhibition of CAT was most significant.

Table 1. Activity of antioxidant defence system in tissues of *Anodonta cygnea*

Experimental groups	Mn-SOD, (units of SOD·mg ⁻¹ of proteins)	Cu,Zn-SOD, (units of SOD·mg ⁻¹ of proteins)	CAT (μmol·of H ₂ O ₂ mg ⁻¹ proteins·min ⁻¹)	GSSG, (μmol·g ⁻¹ of tissue)	GSH, (μmol·g ⁻¹ of tissue)
Gills					
Laboratory	2.49±0.01	4.72±0,15	98,75+9,71	0,03±0,00	0,68±0,04
Bus station	0.14±0.01*	6.04±0.93	5.65+1.69*	2.99±0.26*	0.37±0.07*
Agricultural site	2.69±0.03	6.07±0.34	29.06+0.32*	0.05±0.01	0.99±0.06
Digestive gland					
Laboratory	2.58±0.01	5.20±0.18	56.59+3.38	0.31±0.10	1.11±0.09
Bus station	0.81±0.07*	6.72±0.61	28.19+4.69*	2.17±0.17*	0.27±0.04*
Agricultural site	2.85±0.01	6.73±0.21	31.67+3.89*	0.05±0.00*	0.94±0.04

In tabl. 1, 2 data are shown as the mean ± SD. * Significantly different from laboratory group, p < 0.05, n=6.

The measuring of oxidative stress parameters in our study also reflects the preference of oxidative processes with a few exceptions in clams from buss station. As we can see, the depletion of GSH is accompanied by the elevation of its general content but mostly in the oxidative form. The most significant oppression of antioxidant defence was observed in the gills of animals in comparison with the digestive gland. The data may reflect higher level of contaminants in this tissue, which is able to initiate oxidative damage.

Table 2. Oxidative destruction in tissues of *Anodonta cygnea*

Experimental groups	TBARS, nmol·g ⁻¹ of tissue	Protein carbonyls, μmol·mg ⁻¹ of proteins
Gills		
Laboratory	14.9±0.7	151.7±21.0
Bus station	179.9±19.7*	112.2±15.5
Agricultural site	32.2±2.0*	54.4±7.4*
Digestive gland		
Laboratory	25.1±3.8	124.4±15.0
Bus station	77.9±9.7*	76.4±6.2*
Agricultural site	21.4±1.1	68.5±5,0*

The comparison of groups makes the effect of transplantation on clams evident. It concerns protein carbonyls level. Other authors also observed the effect of transplantation on bivalve parameters (Doyotte et al., 1997; Regoli et al., 2002) in control animals as well as in treated ones. On the other hand we confirm that the 14-days period was sufficient to demonstrate the difference between water quality in laboratory and field groups despite the effect of transplantation.

Therefore we may conclude that the impact of non-point pollutant discharges originating from anthropogenic activities or multiple chemical contaminants include the products of urban runoff and petrol may be of potential risk even to ecosystems of comparatively ecologically uncontaminated area and cannot be determined merely by mean of traditional chemical analysis. The analysis of the antioxidant defence parameters in tissues proved them to be useful as non-specific biomarkers to assess the sensitivity of organism to common stress and water condition.

Literature

1. Aebi H. 1974. Catalase. In: Bergmeyer, H. U. (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, London, 671 – 684.
2. Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44, 276–287.
3. Camus, L., Pampanin, D.M., Volpato, E. et al., 2004. Total oxyradical scavenging capacity responses in *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the Venice lagoon (Italy) to measure the biological impact of anthropogenic activities. Mar Pollut Bull. 49, 801 – 808.
4. Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., et al., 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. Aquat. Toxicol. 39, 93 – 110.
5. Habeeb A.F.S., 1973. A sensitive method for localization of disulfide containing peptides in column effluents. Anal. Biochem. 56, 60 – 65.
6. Hudiy, O.I., 2002. Changes in the ichthyofauna of different sites of Dnister under the effect of anthropogenic factors. Hidrobiol J. 38, 33 – 39.
7. Livingstone, D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Mar Pollut Bull. 42, 656 – 666.
8. Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265–275.
9. Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., Lushchak, O.V., 2004. Indices of oxidative stress. I. TBA-reactive substances and carbonylproteins. Ukr. Biochim. Zh. 76, 136 – 141.
10. Ohkawa, H., Ohishi, N., Tagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Chem. 95, 351–358.
11. Regoli, F., Gorbi, S., Frenzilli, G. et al., 2002. Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. Mar Environ Res. 54, 419 – 423.
12. Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein-bound and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellmans reagent. Anal. Biochem. 25, 192 – 205.
13. Stadtman, E.R., Levine, R.L. 2000. Protein oxidation. Ann. NY Acad. Sci. 899, 191 –208

ESTROGENY JAKO RIZIKOVÝ FAKTOR POTRAVNÍHO ŘETĚZCE

THE ESTROGENS – RISK FACTOR OF THE FOOD CHAIN

Nekvapil, T., Smutná, M., Svobodová, Z.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Abstract

The estrogens are hormones either males or females. The estrogens are generally considered to be endogenous disruptors. The receptors of estrogens generally take place in cytotblast along DNA. The estrogen substances can be determined by ELISA, HPLC, GC, GC-MS. Estrogens can be both – either useful or derogatory molecule. The most severe problem comes from their ability to stimulate cell proliferation of lacteal gland and uterus. Toxicity of the estrogens covers the whole line of factors and can be displayed by few mechanisms. This toxicity conducted the scientists to work on development of so-called antiestrogens. The antiestrogens bind to the estrogens receptors thereby lock estrogen's effects. The first antiestrogen was Tamoxifen that has some negative effects as well. Another possibility is Raloxifen. As long as the scientists would be able to demonstrate its protective effects against osteoporosis and breast and uterus cancer, Raloxifen becomes a significant element in the women's health.

Estrogeny jsou hormony samičího, ale i samčího pohlaví. Samičí pohlavní hormony jsou produkovány v ovariích a placentě, vznikají aromatizací androgenů v játrech, v tukové tkáni a v kůži. Jsou to steroidní molekuly, což znamená, že jsou odvozeny od molekulární kostry zahrnující 4 kruhy atomů uhlíku. Jakož to steroidní látky, pronikají estrogeny díky svým lipofilním vlastnostem přímo do buněk, kde se přímo v jádře váží na specifické receptory.

Estrogeny jsou obecně považované za endogenní disruptory. Můžeme je rozdělovat z různých hledisek do různých skupin. Dle výskytu se mohou dělit na estrogeny pocházející přímo z prostředí (přírodní, environmentální estrogeny) a estrogeny uměle vyrobené (syntetické, antropogenní estrogeny). Dle původu je můžeme také rozdělit na estrogeny endogenní a exogenní, případně na fytoestrogeny (rostlinného původu) a antropoestrogeny (produkovány člověkem do vnějšího prostředí). (HOLOUBEK a ČADOVÁ 2000).

Estrogenní receptory se za normálních podmínek nacházejí v buněčných jádrech podél DNA. Při absenci estrogenních molekul jsou tyto receptory inaktivní a nemají na DNA žádný vliv.

Když ale estrogenní molekula vstoupí do buňky a projde do jádra, naváže se na tyto své receptory, čímž dojde ke změně jejich struktury. Tento komplex estrogen-receptor se potom naváže na specifické místo DNA, označované jako ERE (estrogens response elements), které je lokalizované v blízkosti genů, které jsou kontrolovány estrogeny. Po vazbě na ERE se komplex estrogen-receptor naváže na koaktivátor proteinů a tím dojde k aktivaci genů. Tyto aktivované geny produkují molekuly mRNA, čímž odstartují cestu syntézy specifických proteinů, které následně mohou ovlivňovat různým způsobem buněčné chování, závisející na stupni vývoje příslušné buňky. (HOLOUBEK a ČADOVÁ 2000).

O výskytu estrogenních látek v životním prostředí nás informuje řada vědeckých prací. Některé studie se zabývaly i jejich stanovením v živočišných produktech. V Německu se stanovovalo celé spektrum steroidních látek od pregnenolonu počínaje a steroidními hormony konče (schéma viz dříve). Výsledkem tohoto stanovení bylo zjištění, že všechny steroidní látky jsou v živočišných produktech obsaženy a to v různém množství, nicméně jeden zástupce převyšoval všechny ostatní. Touto látkou byl 17 β -estradiol).

Estrogenní látky je možné stanovovat v různých biologických materiálech, včetně

živočišných produktů a to nejčastěji těmito metodami: ELISA, HPLC, GC, GC-MS.

Jedním ze způsobů, jak se mohou estrogenní látky dostat k člověku je jejich možný průnik přes čističky odpadních vod (ANDERSEN et al., 2003)..Další způsob, jak se k člověku tyto estrogenní látky dostanou je jejich kumulace ve vodním prostředí jako takovém, tzn. povrchové vody, odpadní vody → a odtud i řeky, potoky atd. Zde pak přecházejí do organismu ryb → významného článku potravního řetězce člověka.

Účinek estrogenních látek na ryby se projevuje nejčastěji jejich feminizací, prokazatelnou jak pitvou, tak stanovením množstvím vitellogeninu. (Jedná se o fosfolipoglykoprotein, sloužící jako hlavní prekurzor proteinů vaječného žloutku). Je tvořen v játrech pod kontrolou estrogenů zpravidla u dospělých samic. Pod vlivem většího množství estrogenů a po feminizaci samců je nalézán v krevním séru i u samců

Estrogen může být paradoxně obojí – jak prospěšná, tak i škodlivá molekula K fyziologickým účinkům estrogenů patří: stimulace vývoje sekundárních pohlavních znaků, navozování proliferační fáze menstruačního cyklu, zvyšování dráždivosti děložního svalstva, motility vejcovodů, stimulace vývoje mléčné žlázy (primárně estradiol, následovaný později progesteronem), stimulace proliferace buněk dělohy a mléčné žlázy.

K dalším účinkům patří: anabolické účinky estradiolu na kosti a chrupavky a tak podpora růstu, působení na periferní cévy estrogeny a vyvolávání vazodilatace a ztrát tepla, snižování koncentrace cholesterolu a LDL lipoproteinů v krevní plazmě(cholesterol vázaný v LDL je označován jako „špatný/aterogenní cholesterol“, jelikož se usazuje na vnitřní straně stěn artérií a zvyšuje tak riziko onemocnění srdce), podpora produkce HDL lipoproteinů (HDL u žen > než u mužů; tento cholesterol je označován jako “dobrý”, protože podporuje uvolňování cholesterolu z vnitřních stěn artérií a jeho transport zpět do jater), dále stimulace syntézy a ukládání tuků na predilekčních místech, stimulace produkce leptinu z tukové tkáně, potlačování ketogeneze, zvyšování retence vody a solí.

I přes tyto významné prospěšné účinky může být estrogen také škodlivý. Nejzávažnější problém vychází ze schopnosti estrogenu stimulovat proliferaci buněk mléčné žlázy a dělohy. Ačkoli tato schopnost stimulace buněčné proliferace patří mezi normální role estrogenu, může zároveň zvyšovat u žen pravděpodobnost vzniku rakoviny dělohy i prsu. K dalším negativním účinkům na zdraví a reprodukci lidského organismu patří schopnost procházet placentou nebo přestup do mateřského mléka a z něj do novorozence a být tak potenciálním rizikem vzniku různých abnormalit cílových tkání pro estrogeny a to u obou pohlaví. Tyto abnormality zahrnují rakovinu prsu, endometriosu, často také PCOS (Polycystic Ovarian Syndrome), adenokarcinom dělohy, nadváhu (v důsledku nadměrného přísunu estrogenů, ale i běžnými faktory jako je přejídání, účinek léčiv, hepatotoxických látek dojde k narušení a snížení funkce jater, jakožto orgánu eliminujícím estrogeny; ty potom zůstávají v organismu, stimulují zvýšenou tvorbu tukových buněk v oblasti hypogastria a v oblasti zvýšené koncentrace estrogenů a tím vyvolávají obezitu. Obezita je estrogeny ovlivněna také jejich schopností ovlivňovat zadržení sodíku v těle a tím i vody u samčího pohlaví).Estrogeny dále vyvolávají změny v pohlavní diferenciaci a u samčího pohlaví snížení počtu spermií, benigní hyperplasii prostaty, rakovinu prostaty a varlat a s tím spojené reprodukční problémy. Jako modelová látka se často používá diethylstilbestrol (DES), u kterého byly prokázány genové mutace a inhibice mitosy. Jako biologický materiál se používají nejčastěji myši z důvodu velice dobré korelace mezi získanými daty u myši a člověka.

Toxicita environmentálních estrogenů zahrnuje celou řadu faktorů a může se projevit několika mechanismy.První typ toxicity je dán vazbou environmentálních estrogenů na estrogenový receptor a následnou zvýšenou estrogenní odpovědí, která se projeví hyperestrogenismem - nadměrnými fyziologickými efekty estrogenních hormonů. Druhý typ toxicity zahrnuje spíše účinek chemický než účinek hormonální (např. tvorba DNA aduktů). Třetí typ toxicity je dán nerovnovážnou estrogenní odpovědí v cílové tkáni (kdy vazba

environmentálního estrogenu na receptor vyvolá odlišnou výslednou konformaci od konformace vzniklé s vnitřním estrogenem - tzn. že transkripce i výsledný efekt jsou odlišné.

Je dokázáno, že estrogeny negativně působí nejen na vnitřní prostředí člověka, ale také zvířat. Tento negativní účinek se projevuje změnou různých endokrinních systémů (nejlépe pozorováno u ryb - feminizace samců, výskyt vitellogeninu).

Během každého menstruačního cyklu estrogen spouští buněčnou proliferaci buněk mléčné žlázy. Když nedojde k oplodnění, hladiny estrogenu dramaticky klesnou na konci každého menstruačního cyklu. Při absenci vysokých hladin estrogenu buňky, které proliferovaly zaniknou, což se tak děje i následující měsíc menstruačního cyklu, jestliže nedojde k oplodnění. Pro průměrnou ženu to znamená stovky cyklů buněčné proliferace a zániku buněk, opakované v průběhu asi 40 let od puberty k menopauze.

Jak ale mohou tyto estrogenem indukované proliferace buněk mléčné žlázy zvyšovat riziko rozvoje rakoviny? Způsobem je poškození DNA (např. mutací) v genech, které regulují buněčný růst a diferenciaci. Některé mutace jsou dědičné, zatímco jiné jsou způsobeny vystavením radiace nebo účinky chemických látek, které jsou např. obsaženy v cigaretách. Mutace také mohou vznikat spontánně jako výsledek chyb, které vznikají při duplikaci DNA molekul.

Když buňky zmutují ve specifických genech, které ovlivňují (kontrolují) proliferaci, jako jsou proto – onkogeny nebo geny tlumící nádory – jsou tyto mutace kopírovány do každé nové generace buněk. Časem více mutací v těchto poškozených buňkách může vést k nekontrolované proliferaci a vzniku rakoviny.

Ačkoliv estrogen přímo nevyvolává mutace DNA, které vedou ke vzniku rakoviny u člověka, stimuluje jejich buněčnou proliferaci a to nejen buněk již zmutovaných, ale i buněk, které žádné mutace nemají (u těchto buněk může v procesu duplikace DNA dojít občas k chybám (např. mutacím), které jsou předávány dalším buňkám). Jak již bylo řečeno, jestliže se jedna z těchto spontánních mutací objeví u genu, který kontroluje buněčný růst a diferenciaci, může vyvolat nekontrolovanou proliferaci a možný vznik rakoviny.

Narozdíl od normálních prsních buněk, rakovinotvorné buňky v prsu nemají vždy receptory pro estrogen. Rakoviny prsu, které mají estrogení receptory jsou nazývány jako „Estrogení receptor-positivní“, zatímco ty, které tyto receptory nemají, jsou nazývány jako „Estrogení receptor-negativní“.

V děloze působí estrogeny stejným účinkem jako na buňky mléčné žlázy prsu a to ve dvou cestách: estrogen může jak stimulovat buňky, které již zmutované jsou, tak zvyšovat možnost vzniku spontánních mutací stimulací buněčné proliferace. Ať už jsou tyto mutace spontánní nebo dědičné povahy, estrogenem stimulovaná proliferace zvýší jejich počet, což nakonec může vést k vzniku a rozvoji rakoviny dělohy.

Protože estrogeny mohou pomáhat rozvoji rakoviny v prsu a děloze, je logické stanovit substance, které účinek estrogenů blokují a mohou být nápomocné v prevenci nebo léčbě těchto dvou typů rakoviny.

Tento princip vedl vědce k práci na vývoji tzv. antiestrogeních léků, které mohou blokovat účinek estrogenů a to zabráněním proliferace rakovinotvorných buněk dělohy nebo prsu. Antiestrogeny se váží na estrogení receptory, čímž brání estrogenům v jejich navázání a následně jejich účinku.

Některé léky, které blokují účinky estrogenů v některých tkáních, mohou napodobovat jejich účinky v jiných tkáních. Tato selektivita je možná tím, že se estrogení receptory rozličných cílových tkání liší v chemické struktuře. Tyto rozdíly umožňují lékům na bázi estrogenů interagovat rozdílným způsobem s estrogeními receptory v různých tkáních. Tyto léky jsou nazývány SERM (selective estrogen receptor modulator), protože jejich selektivita stimuluje nebo inhibuje estrogení receptory v rozdílných cílových tkáních. Např. SERM mohou inhibovat estrogení receptory v prsních buňkách, na druhou stranu ale mohou

aktivovat estrogenní receptory v buňkách endometria dělohy. Díky tomu mohou inhibovat proliferaci buněk mléčné žlázy, ale stimulovat proliferaci buněk endometria.

Prvním SERM lékem, který byl zkoumán pro své antikancerogenní účinky byl Tamoxifen. Tamoxifen blokuje účinek estrogenů v prsní tkáni a to vazbou na estrogenní receptor, čímž znemožní vazbu estrogenu na tento receptor. Ale narozdíl od navázání estrogenu, vazba Tamoxifenu nevyvolá konformační změnu tohoto receptoru, která je nutná pro navázání koaktivátorů. Výsledkem je, že nedojde k aktivaci genů, které stimulují proliferaci buněk. Tohoto efektu se využívá i při doplňkové léčbě rakoviny, kdy po vyoperování nádoru je ženám předepisována doplňková léčba založená na blokaci účinku estrogenů a tím i buněčné proliferace.

Léčba Tamoxifenem je úspěšná v případě rakoviny jako „Estrogenní receptor-positivní“, protože jak již bylo řečeno, jeho účinek je založen na blokování interakci mezi estrogenem a jeho receptorem.

Jakmile byl jednou Tamoxifen představen jako lék snižující riziko rakoviny po operaci rakoviny prsu, začalo se také zkoumat, jestli by jej bylo možné použít i v rovině prevence rakoviny prsu.

V roce 1992 Národní institut pro rakovinu zahájil studii, do které zahrnul více než 13,000 zdravých žen považovaných dle genetické predispozice nebo lékařských záznamů za vysoce rizikové z hlediska možného vzniku rakoviny prsu. Polovině žen byl podáván Tamoxifen, zatímco druhá polovina dostávala placebo. Po pěti letech měla skupina přijímající Tamoxifen nižší procento výskytu rakoviny.

Fakt, že Tamoxifen blokuje účinek estrogenů v prsní tkáni, zatímco napodobuje jejich účinek v děloze (což zahrnuje i zvyšování rizika vzniku rakoviny), znamená, že působí jako SERM selektivně blokující nebo stimuluje estrogenní receptory v odlišných cílových tkáních.

Díky jeho negativním účinkům se vědci snaží přijít na lék (SERM), který by v sobě zahrnoval prospěšné účinky Tamoxifenu, bez jeho potenciálně škodlivých účinků. Ideálním lékem by byl pak takový, který by zahrnoval pozitivní účinky estrogenů na kosti, srdce a krevní řečiště bez jejich potenciálně škodlivých účinků na prsa a dělohu.

Jeden z léků, které v sobě zahrnují některé tyto pozitivní vlastnosti je Raloxifen, schválený v roce 1997 k prevenci osteoporózy v období postmenopauzy u žen.

Raloxifen má v kostech podobný účinek jako estrogeny (zvyšuje jejich pevnost a hustotu), dále také snižuje LDL cholesterol (čím snižuje riziko srdečních chorob). Jedinou jeho nevýhodou je, že o jeho negativních účincích při dlouhodobém používání však narozdíl od Tamoxifenu není mnoho známo.

Raloxifen byl již jako lék k snížení výskytu rakoviny mléčné žlázy a dělohy použit u zvířat. V předběžných testech u lidí bylo zjištěno, že i zde snižuje riziko vzniku rakoviny prsu bez nežádoucí vedlejší stimulace proliferace buněk dělohy. Díky těmto výsledkům sponzoruje Národní institut pro rakovinu klinickou studii zaměřené na srovnání účinků Tamoxifenu a Raloxifenu u žen v období po menopauze. Tato studie s názvem STAR (Study of Tamoxifen And Raloxifen) začala v roce 1999 a v průběhu 10ti let zahrne více než 20,000 žen.

Dokonce i kdyby tato studie prokázala, že Raloxifen snižuje riziko vzniku rakoviny prsu i dělohy, Raloxifen se i tak nestane perfektním lékem, protože stejně tak jako Tamoxifen zvyšuje riziko krevních sraženin. Pokud by se ale prokázal jeho příznivý účinek jako protektora proti osteoporóze a rakovině prsu a dělohy, stane se z Raloxifenu významný prvek ve zdraví žen (INTERNET).

Literatura:

1. HOLOUBEK, I., ČADOVÁ, L. (2000): Estrogeny v životním prostředí. Klinická onkologie, Brno, 13, 1, s. 21-23. 2000.
2. ANDERSEN, H., SIEGRIST, H., HALLING-SORENSEN, B., TERNES, THOMAS

A.: The fate of the estrogens in a municipal sewage treatment plant, Environ. Sci. Techn. 37, 4021-4026 (2003).

3. <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>
4. <http://www.bio.cmu.edu/courses/biochemMols/ER/ErIntro.html>
5. <http://www.sensiblehealth.com/estrogen.html>

Poděkování:

Článek vznikl za podpory Výzkumného záměru MSM 6215712402.

MVDr. Tomáš Nekvapil
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav biochemie, chemie a biofyziky
Palackého 1-3, 612 42 Brno
e-mail: nekvapilt@vfu.cz

POROVNANIE AKÚTNEJ TOXICITY SALINOMYCÍNU SODNÉHO V PRÍPRAVKU SYNVERTAS U POTKANOV A KURČIAT

Neuschl, J., Šály, J., Váczi, P., Kremeň, J., Šutiak, V., Čonková, E.

Univerzita veterinárskeho lekárstva Košice

Abstract

The work presents median lethal dose (LD_{50}) of sodium salinomycin in the Slovak anticoccidial preparation plv. as us. vet. (Biotika, Slovenská Lupča) in 4-week-old chickens and adult rats after preceding preliminary experiment. LD_{50} has been determined of the same strain. Clinical symptoms of poisoning and patho-morphological changes in dead chickens and rats have been observed as well. LD_{50} value of sodium salinomycin in Synvertas preparation was determined at $29.44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ in rats and at $107.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of b.w. in chickens. The following signs were in chickens prominent: ataxia to movement, lying on the side or in sternal position with neck stretched forward and legs stretched backwards, dyspnoea, cyanosis, sharp CNS inhibition, loss of acoustic and touch responses. Hyperaemia of liver, pancreas, spleen and kidneys. Slight anaemia of thoracic musculature, slight banding of thigh and thoracic musculature were recorded in most dead chickens. In rats were detected: ataxia, hypodynamia, adynamia, sharp CNS inhibition, dyspnoea, cyanosis. Hyperemia of lung, GIT and trachea mucosa, lung oedema were recorded in most dead rats.

Úvod

Fyziologicko-anatomické odlišnosti u jednotlivých druhov zvierat môžu byť príčinou kvalitatívnych a kvantitatívnych rozdielov v procese adsorpcie, distribúcie, metabolizácie a eliminácie antikokcidiálnych látok. S uvedenou skutočnosťou je úzko spätá problematika možnej rozdielnej toxicity antikokcidiálnych látok u rôznych druhov zvierat. V súčasnom období používané iónoforové antikokcidiká majú malú terapeutickú šírku a niektoré z nich aj striktnú toxicitu nielen u určitých druhov zvierat, ale aj striktnú toxicitu v závislosti od vekových kategórií hydiny. S uvedenou problematikou je hlavne u hydiny úzko spätá problematika možných akútnych, resp. chronických intoxikácií. Preto závažná toxikologická testácia novozavádzaných antikokcidiálnych látok je opodstatnená nielen cieľených druhov hospodárskych, ale aj u laboratórnych zvierat.

V predloženej práci prezentujeme mieru akútnej orálnej toxicity novovyvinutého antikokcidiálneho prípravku Synvertas plv. a.u.v. (Biotika, Slovenská Lupča) obsahujúci 10 % salinomycínu sodného (fermentovaný uvedenou firmou) u dospelých potkanov a 4-týždňových kurčiat. Okrem stanovenia a porovnania miery akútnej orálnej toxicity salinomycínu sodného v testovaných prípravkoch sa sledovala klinická symptomatológia otravy po letálnych a subletálnych dávkach, ústup klinických prejavov intoxikácie a patologicko-morfologické zmeny u uhynutých jedincov.

Materiál a metódy

Stanovenie akútnej orálnej toxicity

Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. (Biotika, Slovenská Lupča) sa stanovovala po predchádzajúcom predpokuse. Predpokus s cieľom orientačného zistenia miery akútnej toxicity salinomycínu sodného v predmetnom prípravku bol realizovaný na pokusnom súbore 6 dospelých potkanov (hmotnosť 240-260 g) kmeňa Wistar, samičieho pohlavia a na pokusnom súbore 15 kurčiat mäsového hybridu Ross I, oboch pohlaví, veku 4 týždne, hmotnosť 1300-1820 g.

Pokusný súbor potkanov (6 jedinci) bol rozdelený do troch podskupín s rovnakým počtom jedincov (N=2). Prvej dvojici (hmotnosť 245-255 g) sa salinomycín sodný podal v dávke 20 mg na kg⁻¹ ž. hm. (200 mg prípravku), druhej (hmotnosť 240-260 g) 25 mg (250 mg prípravku) a tretej (hmotnosť 245-260 g) 26 mg (260 mg prípravku).

Pokusný súbor kurčiat (15 jedinci) bol rozdelený do piatich podskupín s rovnakým počtom jedincov (N=3). Prvej podskupine (hmotnosť 1270-1570 g) sa salinomycín sodný podal v dávke 20 mg (200 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm., druhej (hmotnosť (1340-1490 g) – 30 mg (300 mg prípravku), tretej (hmotnosť 1280-1470 g) – 40 mg (400 mg prípravku), štvrtej (hmotnosť 1400-1700 g) – 50 mg (500 mg prípravku) a piatej (hmotnosť 1300-1700 g) – 70 mg (700 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm.

Prípravok sa aplikovali vo forme suspenzie (vo vode v pomere 1:5) per os sondou jednorázovo v ranných hodinách. V priebehu predpokusu sa sledoval možný rozvoj a ústup klinických príznakov intoxikácie v časových intervaloch: 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 21 a 24 hodín a v ďalších troch dňoch 2 krát denne.

Po orientačnom zistení akútnej toxicity salinomycínu sodného v predmetnom prípravku v predpokuse, sa jeho stredná smrteľná dávka (LD₅₀) stanovovala na súbore 12 dospelých potkanov (hmotnosť 230-260 g) a na súbore 20 kurčiat vo veku 4 týždne (hmotnosť 1300-1820 g) toho istého plemena a pohlavia dvojdávkovou interpolačnou metódou (Roth a kol., 1962) na základe úhynu do 24 hodín. Pokusný súbor 12 potkanov bol rozdelený do dvoch podskupín s počtom 6 jedincov. Salinomycín sodný v predmetnom prípravku Synvertas sa jedincom prvej podskupiny podal v dávke 28 mg. kg⁻¹ ž. hm. (280 mg prípravku) a jedincom druhej podskupiny v dávke 30 mg. kg⁻¹ ž. hm. (300 mg prípravku). Pokusný súbor 20 kurčiat bol rozdelený do dvoch podskupín s počtom 10 jedincov. Salinomycín sodný v predmetnom prípravku Synvertas sa jedincom prvej podskupiny podal v dávke 100 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1000 mg prípravku) a jedincom druhej podskupiny v dávke 120 mg kg⁻¹ ž. hm. (1200 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm. Prípravky sa podávali v ranných hodinách jednorázovo per os sondou v uvedených dávkach v suspenzii (vo vode v pomere 1:5) po predchádzajúcej 12 hod. hladovke. Sledoval sa rozvoj klinických príznakov otravy a doba úhynu, resp. ústup príznakov intoxikácie u prežívajúcich jedincov. Zvieratá boli klinicky sledované od aplikácie prípravku prvých 30 minút, potom 12 hodín v intervale každú hodinu a po 24 hodinách 1 krát denne po dobu 3 dní. U exitovaných jedincov sa vykonalo patologicko-morfologické vyšetrenie. Potkany v predpokuse aj pri stanovení hodnoty LD₅₀ boli kŕmené kŕmnom zmesou HP ad libitum s voľným prístupom ku vode.

Výsledky a diskusia

LD₅₀ salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. bola u dospelých potkanov stanovená na 29,44 mg. kg⁻¹ ž. hm. (294,44 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 32,29 mg (320,29 mg prípravku) a dolnou 26,84 mg. kg⁻¹ ž. hm. (260,84 mg prípravku).

U 4 týždňových kurčiat bola LD₅₀ salinomycínu sodného v predmetnom prípravku stanovená na 107,5 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1075,0 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 116,2 mg (1162,0 mg prípravku) a dolnou 99,5 mg. kg⁻¹ ž. hm. (995,0 mg prípravku).

Po dávke 28 a 30 mg salinomycínu sodného na kg⁻¹ ž. hm. sa otrava u potkanov klinicky prejavovala: apatiou, somnolenciou, zrýchleným a sťaženým dýchaním, slabosťou končatín, nekoordinovaným pohybom, hypodynamiou až adynamiou, cyanózou labiek a ušnic. K úhynu dochádzalo za príznakov tremoru a slabých kŕčov (3-4) záškľbov. Doba latencie príznakov bola cca 30 minút, exitus do 7 hod. Pri jednorázových subletálnych dávkach (20 a 25 mg. kg⁻¹ ž. hm.) príznaky intoxikácie nastúpili po 0,5 – 1 hodine, boli miernejšie s ústupom po 4 hodinách. U väčšiny uhynutých potkanov bola zaznamenaná hyperémia sliznice trachey, pľúc a GIT, edém pľúc a žltý mezenterálny tuk hlienovitej konzistencie.

Po dávke 100 a 120 mg salinomycínu sodného na kg^{-1} ž. hm. sa príznaky otravy u kurčiat rozvinuli za 30 minút. Ku úhynu dochádzalo od 2 do 17 hodín po aplikácii. Z príznakov intoxikácie sa objavovali :neschopnosť pohybu, ležanie na boku, resp. v sternálnej polohe s dopredu natiahnutým krkom a behákmi natiahnutými dozadu, dyspnoe, cyanóza, silný útlm, strata hlasovej a dotykovej reakcie. K úhynu dochádzalo za príznakov slabých kľbových (3-4) záškľbov s natiahnutými končatinami dozadu. Pri dávke 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. salinomycínu sodného bol úhyn 5 z 10 a pri dávke 120 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. bol úhyn 8 z 10 jedincov. Pri jednorázových subletálnych dávkach (20 ,30,40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm.) príznaky intoxikácie nastúpili po 1,5-2 hodinách, po subletálnych dávkach 50 a 70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. za 45-60 minút. Príznaky otravy boli miernejšie s ústupom po 15 hodinách a po dávkach 50 a 70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. po 2-3 dňoch.

U väčšiny uhynutých kurčiat bola zaznamenaná hyperémia pečene, pankreasu, sleziny a obličiek, anémia sliznice GIT, difúzna akútna katarálna bronchopneumónia, u jedného jedinca edém pľúc, mierna anémia prsného svalstva, mierne pruhovanie stehenného a prsného svalstva.

Výsledky toxikologickej testácie salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. jednoznačne poukazujú na výraznú odlišnú druhovú citlivosť. Z výsledkov vyplýva, že salinomycín sodný je pre dospelé potkany výrazne viac toxický. U 4 týždňových kurčiat v porovnaní s dospelými potkanmi je stredná smrteľná dávka salinomycínu sodného 3,65 krát vyššiu.

Výrazný útlm CNS, slabosť končatín, hypodynamia, adynamia, zrýchlené a sťažené dýchanie, cyanóza labiek a ušnic po letálnych dávkach sa javia ako dominantné príznaky otravy u potkanov. Obdobne neschopnosť pohybu, ležanie na boku, resp. v sternálnej polohe s dopredu natiahnutým krkom a behákmi natiahnutými dozadu, dyspnoe, cyanóza, silný útlm, strata hlasovej a dotykovej reakcie sa javia ako dominantné príznaky otravy u kurčiat. Registrovaný pitevný nález u potkanov (hyperémia sliznice trachey, pľúc a edém pľúc) v podstate korešponduje s pat. - anatomickým nálezom u kurčiat.

Literatúra

1. Roth, Z., Josifko, M., Malý, V., Trčka, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Statní zdravotnicke nakladatelství, 1962, s. 295 – 299.

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom KEGA 3/3202/05.

POROVNANIE AKÚTNEJ TOXICITY SALINOMYCÍNU SODNÉHO V PRÍPRAVKU SACOX U POTKANOV A KURČIAT

Neuschl, J., Šály, J., Váczi, P., Šutiak, V., Čonková, E

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

Abstract

The work presents median lethal dose (LD_{50}) of sodium salinomycin in the Germany anticoccidial preparation Sacox 120 gran. as us. vet. (Hoechst, Roussel Vet.) in 4-week-old chickens and adult rats after preceding preliminary experiment. LD_{50} has been determined of the same strain. Clinical symptoms of poisoning and patho-morphological changes in dead chickens and rats have been observed as well. LD_{50} value of sodium salinomycin in Sacox preparation was determined at 26.97 mg.kg^{-1} in rats and at 100.0 mg.kg^{-1} of b.w. in chickens. The following signs were in chickens prominent: ataxia to movement, lying on the side or in sternal position with neck stretched forward and legs stretched backwards, dyspnoea, cyanosis, sharp CNS inhibition, loss of acoustic and touch responses. Hyperaemia of liver, pancreas, spleen and kidneys. Slight anaemia of thoracic musculature, slight banding of thigh and thoracic musculature were recorded in most dead chickens. In rats were detected: ataxia, hypodynamia, adynamia, sharp CNS inhibition, dyspnoea, cyanosis. Hyperemia of lung, GIT and trachea mucosa, lung oedema were recorded in most dead rats.

Úvod

Účinná prevencia kokcidiózy je jedna zo základných podmienok produkcie brojlerov vo veľkokapacitných prevádzkach. Popri dodržaní zoohygienických zásad prevencie, je sústavná aplikácia antikokcidík v krmive pri dodržaní zásad ich aplikácie rozhodujúcim a neodmysliteľným faktorom ochrany proti splanutiu kokcidiózy. Skutočnosť, že v súčasnom období používané ionoforové antikokcidiká majú malú terapeutickú šírku a niektoré z nich aj striktnú toxicitu u určitých druhov a vekových kategórii hydiny, je požiadavka vysokej náročnosti na bezpečnosť ich aplikácie najvyššie opodstatnená. Uvedená skutočnosť, druhové rozdiely v znášanlivosti antikokcidík a nutnosť ich preventívneho používania v praxi, umocňuje význam toxikologickej testácie novozavádzaných antikokcidík nielen u cielených druhov zvierat. Nami testovaný salinomycín patrí do skupiny ionoforových antikokcidík. V predloženej práci prezentujeme mieru akútnej orálnej toxicity salinomycínu sodného u 4 týždňových kurčiat a dospelých potkanov v prípravku Sacox 120 gran. ad us.vet. nemeckej výroby (Hoechst Roussel Vet.). Cieľom testácie salinomycínu sodného v predmetnom prípravku bolo zistiť a porovnať jeho akútnu orálnu toxicitu (LD_{50}) u potkanov a kurčiat, klinickú symptomatológiu otravy po subletálnych a letálnych dávkach, ústup klinických prejavov intoxikácie u prežívajúcich jedincov a patologicko-morfologické zmeny.

Fyziologicko-anatomické odlišnosti u jednotlivých druhov zvierat môžu byť príčinou kvalitatívnych a kvantitatívnych rozdielov v procese adsorpcie, distribúcie, metabolizácie a eliminácie antikokcidiálnych látok. S uvedenou skutočnosťou je úzko spätá problematika možnej rozdielnej toxicity antikokcidiálnych látok u rôznych druhov zvierat

Materiál a metódy

Stanovenie akútnej orálnej toxicity

Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) salinomycínu sodného v prípravku Sacox gran. a.u.v. (Hoechst Roussel Vet.) sa stanovovala po predchádzajúcom predpokuse. Predpokus s cieľom orientačného zistenia miery akútnej toxicity salinomycínu sodného v predmetnom prípravku

bol realizovaný na pokusnom súbore 6 dospelých potkanov (hmotnosť 240-260 g) kmeňa Wistar, samičieho pohlavia a na pokusnom súbore 15 kurčiat mäsového hybridu Ross I, oboch pohlaví, veku 4 týždne, hmotnosť 1480-1970 g.

Pokusný súbor potkanov (6 jedinci) bol rozdelený do troch podskupín s rovnakým počtom jedincov (N=2). Prvej dvojici sa salinomycín sodný podal v dávke 20 mg na kg⁻¹ ž. hm. (166,7 mg prípravku), druhej 25 mg (208,3 mg prípravku) a tretej 26 mg (216,67 mg prípravku).

Pokusný súbor kurčiat (15 jedinci) bol rozdelený do piatich podskupín s rovnakým počtom jedincov (N=3). Prvej podskupine sa salinomycín sodný podal v dávke 20 mg (166 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm., druhej 30 mg (250 mg prípravku), tretej 40 mg (333,3 mg prípravku), štvrtej 50 mg (416,6 mg prípravku) a piatej 70 mg (583,3 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm.

Prípravok sa aplikovali vo forme suspenzie (vo vode v pomere 1:5) per os sondou jednorázovo v ranných hodinách. V priebehu predpokusu sa sledoval možný rozvoj a ústup klinických príznakov intoxikácie v časových intervaloch: 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 21 a 24 hodín a v ďalších troch dňoch 2 krát denne.

Po orientačnom zistení akútnej toxicity salinomycínu sodného v predmetnom prípravku v predpokuse, sa jeho stredná smrteľná dávka (LD₅₀) stanovovala na súbore 12 dospelých potkanov (hmotnosť 240-270 g) a na súbore 20 kurčiat vo veku 4 týždne (hmotnosť 1300-1820 g) toho istého plemena a pohlavia dvojdávkovou interpolačnou metódou (Roth a kol., 1962) na základe úhynu do 24 hodín. Pokusný súbor 12 potkanov bol rozdelený do dvoch podskupín s počtom 6 jedincov. Salinomycín sodný v predmetnom prípravku Sacox sa jedincom prvej podskupiny podal v dávke 26 mg. kg⁻¹ ž. hm. (216,670 mg prípravku) a jedincom druhej podskupiny v dávke 30 mg. kg⁻¹ ž. hm. (250 mg prípravku). Pokusný súbor 20 kurčiat bol rozdelený do dvoch podskupín s počtom 10 jedincov. Salinomycín sodný v predmetnom prípravku Sacox sa jedincom prvej podskupiny podal v dávke 100 mg. kg⁻¹ ž. hm. (833,3 mg prípravku) a jedincom druhej podskupiny v dávke 120 mg kg⁻¹ ž. hm. (1000 mg prípravku) na kg⁻¹ ž. hm. Prípravky sa podávali v ranných hodinách jednorázovo per os sondou v uvedených dávkach v suspenzii (vo vode v pomere 1:5) po predchádzajúcej 12 hod. hladovke. Sledoval sa rozvoj klinických príznakov otravy a doba úhynu, resp. ústup príznakov intoxikácie u prežívajúcich jedincov. Zvieratá boli klinicky sledované od aplikácie prípravku prvých 30 minút, potom 12 hodín v intervale každú hodinu a po 24 hodinách 1 krát denne po dobu 3 dní. U exitovaných jedincov sa vykonalo patologicko-morfologické vyšetrenie. Potkany v predpokuse aj pri stanovení hodnoty LD₅₀ boli kŕmené kŕmnom zmesou HP *ad libitum* s voľným prístupom ku vode.

Výsledky a diskusia

LD₅₀ salinomycínu sodného v prípravku Sacox gran. a.u.v. bola u dospelých potkanov stanovená na 26,97 mg. kg⁻¹ ž. hm. (224,75 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 28,85 mg (240,41 mg prípravku) a dolnou 25,27 mg. kg⁻¹ ž. hm. (210,58 mg prípravku).

U 4 týždňových kurčiat bola LD₅₀ salinomycínu sodného v predmetnom prípravku stanovená na 100,0 mg. kg⁻¹ ž. hm. (833,33 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 122,4 mg (1020,0 mg prípravku) a dolnou 81,6 mg. kg⁻¹ ž. hm. (680 mg prípravku).

Po dávke 26 a 28 mg salinomycínu sodného na kg⁻¹ ž. hm. sa otrava u potkanov klinicky prejavovala: apatiou, somnolenciou, zrýchleným a sťaženým dýchaním, slabosťou končatín, nekoordinovaným pohybom, hypodynamiou až adynamiou, cyanózou labiek a ušnic. K úhynu dochádzalo za príznakov tremoru a slabých krčových (3-4) záškľbov. Doba latencie príznakov bola cca 30 minút, exitus do 7 hod. Pri jednorázových subletálnych dávkach (20 a 25 mg. kg⁻¹ ž. hm.) príznaky intoxikácie nastúpili po 0,5 – 1 hodine, boli miernejšie s ústupom po 4 hodinách.

U väčšiny uhynutých potkanov bola zaznamenaná hyperémia sliznice trachey, pľúc a GIT, edém pľúc a žltý mezenterálny tuk hlienovitej konzistencie.

Po dávke 100 a 120 mg salinomycínu sodného na kg^{-1} ž. hm. sa príznaky otravy u kurčiat rozvinuli za 30 minút. Ku úhynu dochádzalo od 2 do 17 hodín po aplikácii. Z príznakov intoxikácie sa objavovali :neschopnosť pohybu, ležanie na boku, resp. v sternálnej polohe s dopredu natiahnutým krkom a behákmi natiahnutými dozadu, dyspnoe, cyanóza, silný útlm, strata hlasovej a dotykovej reakcie. K úhynu dochádzalo za príznakov slabých kŕčových (3-4) záškľbov s natiahnutými končatinami dozadu. Pri dávke 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. salinomycínu sodného bol úhyn 5 z 10 a pri dávke 120 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. bol úhyn 8 z 10 jedincov. Pri jednorázových subletálnych dávkach (20 ,30,40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm.) príznaky intoxikácie nastúpili po 1,5-2 hodinách, po subletálnych dávkach 50 a 70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. za 45-60 minút. Príznaky otravy boli miernejšie s ústupom po 15 hodinách a po dávkach 50 a 70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. po 2-3 dňoch.

U väčšiny uhynutých kurčiat bola zaznamenaná hyperémia pečene, pankreasu, sleziny a obličiek, anémia sliznice GIT, difúzna akútna katarálna bronchopneumónia, u jedného jedinca edém pľúc, mierna anémia prsného svalstva, mierne pruhovanie stehenného a prsného svalstva.

Výsledky toxikologickej testácie salinomycínu sodného v prípravku Sacox gran. a.u.v. jednoznačne poukazujú na výraznú odlišnú druhovú citlivosť. Z výsledkov vyplýva, že salinomycín sodný je pre dospelé potkany výrazne viac toxický v porovnaní s kurčatami. U 4 týždňových kurčiat (LD_{50} - 100,0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm.) v porovnaní s dospelými potkanmi (LD_{50} -26,97 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm.) je hodnota strednej smrteľnej dávky salinomycínu sodného v predmetnom prípravku 3,70 krát vyššiu.

Výrazný útlm CNS, slabosť končatín, hypodynamia, adynamia, zrýchlené a sťažené dýchanie, cyanóza labiek a ušnic po letálnych dávkach sa javia ako dominantné príznaky otravy u potkanov. Obdobne neschopnosť pohybu, ležanie na boku, resp. v sternálnej polohe s dopredu natiahnutým krkom a behákmi natiahnutými dozadu, dyspnoe, cyanóza, silný útlm, strata hlasovej a dotykovej reakcie sa javia ako dominantné príznaky otravy u kurčiat. Registrovaný pitevný nález u potkanov (hyperémia sliznice trachey, pľúc a edém pľúc) v podstate korešponduje s pat. - anatomickým nálezom u kurčiat.

Literatúra

1. Roth, Z., Josifko, M., Malý, V., Trčka, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Statní zdravotnícke nakladatelství, 1962, s. 295 – 299.

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom KEGA 3/3202/05.

POROVNANIE LD₅₀ SALINOMYCÍNU SODNÉHO U KURČIAT DVOJDÁVKOVOU INTERPOLAČNOU METÓDOU A METÓDOU KONCEPCIE UP-AND-DOWN

Neuschl, J., Šály, J., Kremeň, J., Korének, M., Šutiak, V.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

Abstract

A median lethal dose (LD₅₀) of sodium salinomycin in Synvertas plv. ad us. vet. preparation (Biotika, Slovenská Ľupča, Slovak Republic) has been determined in 6-7 week – old (weighing 940-1120 g) chickens, both sexes, hybrid ISA Brown. LD₅₀ of sodium salinomycin has been determined by the Double dose interpolation method and Up-and-Down method on mortality within 24 h. LD₅₀ value of sodium salinomycin in Synvertas preparation was determined at 185.3 mg.kg⁻¹ (1853 mg of preparation) of b. w. by use Double dose interpolation method and at 180.3 mg.kg⁻¹ (1803 mg of preparation) of b. w. by use Up-and-Down method.

Úvod

Už v roku 1927 Trevan navrhol, aby sa za mieru akútnej toxicity látky považovala taká dávka, ktorá usmrtí 50 % jedincov pokusného súboru a vyznačil ju symbolom LD₅₀. Od uvedenej doby boli vypracované viaceré metodiky stanovenia strednej smrteľnej dávky, avšak v praxi i naďalej zotrúva určitá nejednotnosť v používaní metodík jej stanovenia.

Keďže u stredných a malých hospodárskych zvierat sa na stanovenie hodnoty LD₅₀ najčastejšie používa dvojdávková interpolačná metóda a v ostatných rokoch sa na stanovenie orálnej toxicity látok odporúča (OECD) metodika „UP-and-Down“, pristúpili sme ku porovnávacej štúdií stanovenia hodnoty LD₅₀ salinomycínu sodného u kurčiat za použitia dvojdávkovej interpolačnej metódy a metódy koncepcie Up-and –Down. Cieľom práce bolo zistiť relevantnosť hodnoty LD₅₀ salinomycínu sodného pri jej stanovení uvedenými metodikami.

Materiál a metódy

Stanovenie hodnoty (LD₅₀) salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. za použitia dvojdávkovej interpolačnej metódy

LD₅₀ salinomycínu sodného v predmetnom prípravku Synvertas plv. a. u. v. (Biotika, Slovenská Ľupča) sa stanovovala po predchádzajúcom predpokuse. Predpokus bol realizovaný na pokusnom súbore 12 kurčiat, vek 6-7 týždňov (priem. hmotnosť 1060 g) hybridu ISA Brown, obojakého pohlavia. Pokusný súbor bol rozdelený do štyroch podskupín s počtom 3 jedincov. Prvej trojici sa salinomycín sodný podal v dávke 120 mg . kg⁻¹ ž.hm. (1 200 mg prípravku), druhej 150 mg (1 500 mg prípravku) a tretej 170 mg (1 700 mg prípravku) a štvrtej 190 mg.kg⁻¹ ž.hm. (1 900 mg prípravku). Po orientačnom zistení akútnej toxicity salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. v predpokuse, sa jeho LD₅₀ stanovovala na 20 člennom pokusnom súbore kurčiat, za rovnakých podmienok, rovnakého plemena a veku o priemernej hmotnosti 1070 g, na základe úhynu do 24 hodín. 20 členný pokusný súbor bol rozdelený do dvoch podskupín. Jedincom prvej podskupiny sa salinomycín sodný podal v dávke 183 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1830 mg prípravku) a jedincom druhej podskupiny v dávke 188 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1880 mg prípravku). Prípravok sa v predpokuse aj pri stanovení LD₅₀ podával v ranných hodinách jednorázovo per os sondou v uvedených dávkach v suspenzii (vo vode v pomere 1: 5) po predchádzajúcej 12 hod. hladovke. Zvieratá mali neobmedzený prístup ku krmivu a vode. Stanovenie hodnoty LD₅₀ salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. za použitia metodiky koncepcie Up-and-Down.

LD₅₀ salinomycínu sodného v predmetnom prípravku Synvertas plv. a.u.v. metodikou Up-and-Down sa stanovovala súbežne s dvojdávkovou interpolačnou metódou. Pokus bol realizovaný na 12 člennom pokusnom súbore kurčiat, za rovnakých podmienok, rovnakého plemena a veku kurčiat o priemernej hmotnosti 990 g, na základe úhynu, resp. prežitia do 24 hodín. Hodnota LD₅₀ salinomycínu sodného bola stanovená na základe dvoch sérií pokusov. Prvá séria pokusu bola realizovaná na 6 jedincoch za použitia faktora 1,3 a druhá séria pokusu bola realizovaná na 6 jedincoch za použitia faktora 1,03.

Výsledky

LD₅₀ salinomycínu sodného v prípravku Synvertas bola u 6-7 týždňových kurčiat stanovená: Dvojdávkovou interpolačnou metódou na **185,3** mg. kg⁻¹ ž. hm. (1853 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 188,1 mg (1881 mg prípravku) a dolnou 182,6 mg (1826 mg prípravku). Metódou koncepcie Up-and-Down na **180,3** mg. kg⁻¹ ž. hm. (1803 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 184,5 mg (1845 mg prípravku) a dolnou 176,2 (1762 mg prípravku).

Diskusia

Hodnota LD₅₀ dopĺňa základné údaje každej novozavádzanej substancie. Existuje viacero metodických postupov stanovenia LD₅₀, avšak v praxi i naďalej zotrúva určitá nejednotnosť v používaní metodík jej stanovenia. Podľa Rotha a kol., (1962) sa všetky metódy odhadu LD₅₀ rozdeľujú do dvoch skupín. Do prvej skupiny patria metódy, ktoré vychádzajú priamo z experimentálnych dát a z nich sa viac-menej zložitým interpolačným spôsobom stanovuje odhad LD₅₀. Z interpolačných metodík sa u stredných a malých hospodárskych zvierat najčastejšie používa dvojdávková interpolačná metóda. Do druhej skupiny metodických postupov stanovenia LD₅₀ patria metódy, ktoré určujú odhad LD₅₀ ako odhad parametrov distribučnej funkcie tolerancie. K týmto patria probitové metódy a jednoduchšie grafické metódy, z ktorých najvýznamnejšia je Litchfield-Wilcoxonová metóda. Z nich hlavne Litchfield-Wilcoxonová sa používa hlavne u laboratórnych zvierat. Z uvedených dôvodov je trend zjednotenia metodík stanovenia nielen akútnej toxicity látok nanajvýš opodstatnený. Cieľom zjednotenia metodík stanovenia akútnej toxicity látok je minimalizovať subjektívne a objektívne faktory, a tak získať porovnateľné výsledky medzi jednotlivými pracoviskami. Uvedený trend zjednocovania metodík sa týka aj ďalších typov testov.

Keďže v ostatných rokoch sa na stanovenie akútnej orálnej toxicity látok odporúča (OECD) metodika „Up-and-Down“ (metóda koncepcie hore a dole) pristúpili sme ku porovnávacej štúdií stanovenia hodnoty LD₅₀ antikokcidika salinomycínu sodného v prípravku Synvertas plv. a.u.v. u kurčiat za použitia dvojdávkovej interpolačnej metódy a metódy koncepcie Up-and Down. Z porovnávacích štúdií vyplýva, že hodnota LD₅₀ salinomycínu sodného v prípravku Synvertas u 6-7 týždňových kurčiat bola dvojdávkovou interpolačnou metódou stanovená na 185,3 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1853 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 188,1 mg (1881 mg prípravku) a dolnou 182,6 mg (1826 mg prípravku).

Metódou koncepcie „Up-and-Down“ na 180,3 mg. kg⁻¹ ž. hm. (1803 mg prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 184,5 mg (1845 mg prípravku) a dolnou 176,2 (1762 mg prípravku).

Odhad hodnoty LD₅₀ salinomycínu sodného oboma metodikami je v podstate na rovnakej úrovni. Dvojdávková interpolačná metodika je časovo menej náročná, s potrebou väčšieho počtu zvierat a je finančne relatívne nákladnejšia. Metodika koncepcie „Up-and-Down“ je časovo náročnejšia, s redukciou počtu zvierat a je finančne relatívne menej nákladná.

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom Vega 1/7036/20.

Literatúra

1. Roth, Z. a kol.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Statní zdravotnícke nakladatelství, 1962, s. 296.

MIERA AKÚTNEJ TOXICITY CHLORIDU CHLÓRTETRACYKLÍNIA V PRÍPRAVKOCH FEED GRADE SLOVENSKEJ A ČÍNSKEJ VÝROBY U KURČIAT A POTKANOV

Neuschl, J., Šály, J., Kremeň, J., Korének, M., Šutiak, V.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

Abstract

A median lethal dose (LD_{50}) of chlortetracyclinium chloride in Feed Grade plv. ad us. vet. preparation (Biotika, Slovenská Ľupča, Slovak Republic) and in Feed Grade plv. ad us. vet. preparation (Fuzhion Antibiotic Group Corp., China) has been determined in adult rats (weighing 210 – 260 g) strain Wistar of female sexes and in 3 – week – old chickens (weighing 950 – 1100 g), both sexes, meat Ross I hybrid. Clinical symptoms of poisoning and patho-morphological changes in dead rats have been observed as well. LD_{50} value of chlortetracyclinium chloride in Feed Grade preparation (Biotika) was determined at 5 853.57 mg.kg⁻¹ of b. w. and in Feed Grade preparation (China) at 5 923.53 mg.kg⁻¹ of b. w. in rats. LD_{50} was not possible estimated in chickens. From clinical signs of intoxication in rats were detected: apatia, somnolentia, ataxia, hypodynamia, adynamia, dyspnoe.

Úvod

Keď v roku 1948 bolo objavené prvé tetracyklínové antibiotikum-chlortetracyklín (Aureomycin) používali sa v humánnej a veterinárnej medicíne len dve antibiotiká: penicilín G a streptomycín. Každé z nich malo obmedzené spektrum účinku a podávali sa len injekčne. Aj napriek tomu, že tetracyklínové antibiotiká stratili v priebehu času niektoré pôvodné prednosti, mnoho predností si zachovali dodnes a sú nepostrádateľné vo veterinárnej praxi. Liečebná a liečebno-ochranná aplikácia chlortetracyklínu vo forme medikovaných premixov pri gramnegatívnych a zmiešaných infekciách horných a dolných dychacích ciest a GIT má i naďalej zásadný význam. Na báze chlortetracyklínu sú dostupné viacero medikovaných premixov. Aj keď veľkou výhodou chlortetracyklínu je jeho relatívne malá toxicita, treba akceptovať aj fakt, že ekvivalentné prípravky na jeho báze nemusia byť aj rovnako účinné a znášané. Okrem radu endogénnych a exogénnych faktorov prispievajúcich k možnej odlišnej účinnosti a toxicite prípravkov obsahujúcich chlortetracyklín treba počítat' aj s významným faktorom možného odlišného zastúpenia jeho chemických izomerov, u ktorých je biologická aktivita a toxicita rozdielna.

V práci prezentujeme východiskové informácie o miere akútnej orálnej toxicity chloridu chlortetracyklína v medikovanom prípravku Feed Grade (Biotika, Slovenská Ľupča, s obsahom 24 % chloridu chlór-tetracyklína) a prípravku Feed Grade výrobcu Fuzhou Antibiotic Group Corp (FAGC), čínskej výroby s obsahom 19 % chloridu chlortetracyklína u dospelých potkanov a 21-dňových kurčiat.

Materiál a metódy

Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) chloridu chlortetracyklína v prípravku Feed Grade slovenskej proencencie (Biotika, Slovenská Ľupča) sa stanovovala na súbore 13 dospelých potkanov kmeňa Wistar, samičieho pohlavia, veku 3 mesiace a hmotnosti 210 – 260 g a na súbore 5-tých kurčiat mäsového hybridu Roos, veku 3 týždne a hmotnosti 950 – 1100 g.

Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) chloridu chlortetracyklína v prípravku Feed Grade čínskej výroby (Fuzhou Antibiotic Group Corp-FAGC) sa stanovovala na súbore 13 dospelých potkanov toho istého kmeňa, pohlavia a veku o hmotnosti 220 – 265 g a na súbore 5-tých kurčiat toho istého plemena, veku o hmotnosti 980 – 1120 g.

LD₅₀ sa stanovovala metódou Up-and Down za použitia faktora 1,3 a faktora 1,03 u potkanov a za použitia faktora 1,3 u kurčiat na základe úhynu, resp. prežitia do 24 hodín.

Obidva prípravky boli aplikované sondou per os vo forme suspenzie (vodou v pomere 1:4) po predchádzajúcej 12 hodinovej hladovke. Prípravky boli potkanom a kurčatám aplikované podľa hmotnosti individuálne v 24 hodinových intervaloch, medzi 8-10 hodinou. Po aplikácii prípravkov sa sledoval rozvoj klinických príznakov otravy a doba úhynu, resp. ústup príznakov intoxikácie u prežívajúcich jedincov. U exitovaných jedincov sa vykonalo patologicko-morfologické vyšetrenie.

Výsledky

Miera akútnej orálnej toxicity (LD₅₀) u potkanov

Stredná smrteľná dávka (LD₅₀) chloridu chlórtracyklína v prípravku Feed Grade slovenskej výroby bola u dospelých potkanov stanovená na 5853,57 mg. kg⁻¹ ž. hm. (24,38 g prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 6059,45 mg. kg⁻¹ (25,24 g prípravku) a dolnou 5790,65 mg. kg⁻¹ (24,12 g prípravku).

Stredná smrteľná dávka (LD₅₀) chloridu chlórtracyklína v prípravku Feed Grade čínskej výroby bola u dospelých potkanov stanovená na 5923,53 mg. kg⁻¹ ž. hm. (31,17 g prípravku) s hornou medzou spoľahlivosti 6050,45 mg. kg⁻¹ (31,84 g prípravku) a dolnou 5795,65 mg. kg⁻¹ (30,50 g prípravku).

Miera akútnej orálnej toxicity (LD₅₀) u kurčiat

Stredná smrteľná dávka chloridu chlórtracyklína v prípravkoch Feed Grade slovenskej a čínskej výroby nebola u kurčiat stanovená, vzhľadom na to, že dávka 7140 mg chloridu chlórtracyklína na kg⁻¹ ž. hm. nenavodila žiadne klinické príznaky intoxikácie a z hľadiska objemovej kapacity hrvoľa nie je možné vyššie dávky aplikovať.

Klinická symptomatológia otravy

U potkanov po jednorázových perorálnych letálnych dávkach chloridu chlórtracyklína (od 5877 mg. kg⁻¹ ž. hm.) v prípravkoch Feed Grade oboch výrobcov sa príznaky intoxikácie rozvinuli za 1 hodinu.

K úhynu dochádzalo medzi 6-22 hodinou po aplikácii. Z príznakov otravy sa objavovali: apatia, somnolencia, slabosť končatín, hypodynamia, adynamia, inkoordinácia pohybu, sťažené dýchanie, nechutenstvo. K úhynu dochádzalo za príznakov veľmi slabých (2-3) kľčových záškľbov. Najnižšia subletálna dávka chloridu chlórtracyklína v predmetných prípravkoch, ktorá u potkanov navodila príznaky intoxikácie činila 4 942 mg. kg⁻¹ ž. hm. Príznaky sa začali rozvíjať 1,5 hodiny po aplikácii, boli však miernejšie a stav sa upravil po 1,5 - 2 dňoch.

U kurčiat neboli registrované žiadne klinické prejavy otravy napriek tomu, že jednorázová perorálna dávka chloridu chlórtracyklína činila až 7 140 mg. kg⁻¹ ž. hm.

Patologicko-anatomický nález

U všetkých exitovaných potkanov neboli zistené viditeľné makroskopické zmeny.

Diskúzia

Na základe nami vykonaných pokusov v podmienkach akútnej intoxikácie u dospelých potkanov kmeňa Wistar vyplynulo, že testované prípravky Feed Grade slovenskej a čínskej výroby majú veľmi nízku mieru akútnej orálnej toxicity. Naše porovnávacie štúdie u potkanov napovedajú, že miera akútnej orálnej toxicity prípravku Feed Grade čínskej proveniencie sa javí ako relatívne výhodnejší v porovnaní s prípravkom Feed Grade slovenskej výroby.

Naše zistenia, že chlorid chlórtracyklína nenavodil u 21-dňových kurčiat žiadne klinické prejavy otravy i napriek tomu, že bol podaný v dávke až $7\ 140\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ž. hm. svedčia o tom, že uvedeným druhom zvierat je veľmi dobre tolerovaný. Uvedené zistenie tiež svedčí, že jeho LD_{50} pre kurčatá bude zjavne prekračovať hodnotu $7\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ž. hm. Naše výsledky toxikologickej testácie chloridu chlórtracyklína tiež poukazujú na rozdielnu druhovú citlivosť.

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom Vega 1/7036/20.

Literatúra u autorov

RIZIKOVÉ FAKTORY, RIZIKOVÉ FAKTORY V POTRAVOVOM REŤAZCI Z POHLADU VETERINÁRNEHO LEKÁRA VYUČUJÚCEHO PATOLOGICKÚ FYZIOLOGIU NA LEKÁRSKEJ FAKULTE

RISK FACTORS, RISK FACTORS IN THE FOOD CHAIN FROM THE VIEW OF A VETERINARIAN TEACHING PATHOPHYSIOLOGY AT THE MEDICAL SCHOOL

Riemerová, M., Dombrovský, P.

Ústav patologickej fyziológie Lekárskej fakulty Univerzity P. J. Šafárika, Košice

Abstract

This article shows the association between the roles of pathophysiology as an important preclinical subject and the existence of risk factors in the food chain – as they appear in the common life, in the teaching process as well as in science and research achievement.

We are convinced that by further comprehension that we will be enriched at this conference, we will contribute to the greater delivery of the knowledge to our students, soon to be the practicing specialists.

At the same time we will utilize many common areas between the human and veterinarian medicine especially in nutrigenomic.

Patologická fyziológia ako dôležitý predklinický odbor lekárskeho štúdia sa významnou mierou podieľa na získavaní poznatkov o podstate patologických procesov, o prevencii, diagnostike a liečbe rôznych ochorení.

Cieľom predmetu, ktorý má určujúce miesto v systéme prírodných a lekárskeho vied a ktorý je zároveň integrujúcim študijným odborom teoretickej medicíny je naučiť patogenetickému mysleniu, ktoré je nevyhnutné v systéme pregraduálnej a postgraduálnej výchovy.

Patologická fyziológia má multidisciplinárny charakter. Je experimentálnou vedou, ktorá zjednocuje molekulové, subcelulárne, bunkové a orgánové aspekty medicíny do jedného celku, čo je nevyhnutné pre holistické pochopenie podstaty chorôb [1].

Vývoj patologickej fyziológie sa spája priamo s rozvojom prírodných vied a medicíny vôbec. Dnes sa už nezaobídeme bez syntézy čiastkových poznatkov z jednotlivých disciplín, najmä z *biochémie, biofyziky, genetiky, imunológie, normálnej a patologickej anatómie, fyziológie, farmakológie, vnútorného lekárstva, molekulových základov chorobných procesov, geriatrickej, ale aj z mnohých ďalších (výživy, dietetiky, nutrigenetiky, environmentalistiky, etiky, atď.)*.

Tieto skutočnosti sme sa vždy snažili zohľadňovať aj vo vyučovacom procese (prednášky, semináre, praktické cvičenia, ročníkové seminárne práce) i v študentskej vedeckej činnosti.

Náš predmet vytvára základ pre rozhodovanie, terapiu i prevenciu v každom medicínskom odbore. Je nevyhnutnou bázou pre študentov tretieho ročníka odboru všeobecného lekárstva i zubného lekárstva študujúcich v slovenskom aj v anglickom jazyku [2].

V ostatných rokoch má výnimočné postavenie i v bakalárskom a magisterskom štúdiu zvlášť v odbore *verejné zdravotníctvo*. Od tohto školského roku zavádzame nový učebný predmet **ekotrofológia**. Týždenne počas šiestich hodín budeme podávať potrebné informácie o výžive a dietológii, o rizikových faktoroch potravného reťazca, o **nutrigenomike** [3], kde dominujú spoločné témy z humánnej a veterinárnej medicíny v oblasti verejného zdravia.

Viac-menej v každej kapitole a podkapitole všeobecnej a špeciálnej patofyziológie nachádzame v určitej forme významné poznatky o vplyve rizikových faktorov, potravných

a výživových alebo takých, ktoré s nimi súvisia. Tak je tomu aj v nozológii, v etiológii, v patogenéze a sanogenéze. Zvláštnu pozornosť venujeme chemickým látkam exogénneho pôvodu ako príčinám chorôb (jedy a xenobiotiká, kyanidy, toxické kovy v pôde, vzduchu vo vode a následné príčinné vzťahy) [4], úlohe exogénnych estrogénov v zdraví a v patogenéze chorôb z hľadiska genetiky a genomiky i z etického hľadiska.

Prechádzame od genotypu k fenotypu, poukazujeme na úlohu vonkajších faktorov, na genetické pozadie komplexných chorôb, na poruchy metabolizmu. Zaoberáme sa výživou v detskom veku, v starobe, v chorobe a v prevencii chorôb na základe všeobecných princípov. Sledujeme makro- a mikroelementy, mikronutrienty, antioxidanty, probiotiká a ich význam v prevencii [5]. V obsiahlej kapitole *chemické látky exogénneho pôvodu ako príčiny chorôb* sa zaoberáme z rôznych uhlov pohľadu návykovými látkami (fajčenie, alkohol, drogy) [6].

Hovoríme o imunite a výžive, o potravinovej alergii, o stravovaní pri alergózach i o alternatívnych spôsoboch výživy [7]. Venujeme niekoľko hodín i metabolizmu stopových prvkov, biogénnym prvkom, kovem a nekovom [8].

Na tieto základné kapitoly všeobecnej patologickej fyziológie nadväzuje kapitola o typických patologických pochodoch, kde je zaradená aj problematika porúch energetického metabolizmu (podvýživa, obezita) [7].

Naše pracovisko mnoho rokov sleduje i problematiku diabetu z hľadiska experimentálneho, výskumného i vo výučbe [9]. Diabetes predstavuje vhodný model na preukázanie vzájomných súvislostí medzi rizikovými faktormi, prostredím a **kvalitou života** [10]

Výskyt cukrovky má v celosvetovom meradle stúpajúci trend. V určitých oblastiach dosahuje až pandemický charakter. Zvlášť alarmujúci je zvýšený výskyt diabetu 2. typu u detí a adolescentov, výskyt obezity a metabolického syndrómu u detí, mladistvých ale i v dospeljej populácii. Na vzniku detskej obezity sa podieľa interakcia medzi genetickými faktormi a faktormi vonkajšieho prostredia. Významným rizikovým faktorom je rodinný výskyt obezity, príslušnosť k niektorým etnickým skupinám i zlé stravovacie návyky zvlášť v určitých kritických vývojových periódach života (dojčenský a pubertálny vek).

Rizikové faktory sú najlepšie preskúmané pri kardiovaskulárnych ochoreniach. Spolu s rizikovými faktormi nádorových ochorení sa niekedy nesprávne charakterizujú ako „civilizačné“. Prívlastok „civilizačný“ je však nepresný a scestný, pretože skôr ako o vplyv civilizácie ide o dôsledok neschopnosti v rámci civilizácie rozumne myslieť a žiť.

Rizikové faktory predstavujú širokú škálu od evidentných škodlivín až po také, ktorých rizikovosť je relatívne nízka a narastá iba za spoluúčasti ďalších.

Prítomnosť rizikových faktorov neznamená potvrdenie diagnózy choroby, len jej vyššiu pravdepodobnosť.

Zavedenie pojmu rizikový faktor úzko súvisí s rozvojom epidemiológie neinfekčných ochorení a zdôraznením významu preventívneho prístupu v medicíne [2].

Koncepcia rizikových faktorov má základ vo **Framinghamskej štúdií**, ktorá spočívala v 25-ročnom sledovaní výskytu kardiovaskulárnych ochorení u 5209 mužov a žien vo veku 30 až 62 rokov [2].

Základné poznatky, ktoré priniesla Framinghamská štúdia potvrdili, že koncepcia rizikových faktorov má najväčší význam práve u tých ochorení, ktoré vznikajú zložitou interakciou genetickej dispozície a vonkajších – environmentálnych faktorov, ale i životného štýlu.

V našej práci sme chceli poukázať na vzájomné súvislosti medzi poslaním patologickej fyziológie ako významnej predklinickej disciplíny a existenciou rizikových faktorov najmä v potravinovom reťazci – tak ako sa nám javia v bežnom živote, vyučovacom procese i vo vedecko-výskumnom snažení. Sme presvedčení, že ďalším poznaním, ktorým budeme obohatení i na konferencii, prispejeme k lepšiemu odovzdávaniu poznatkov našim študentom –

budúcim odborníkom v praxi. Budeme pokračovať v reťazci nadobudnutých vedomostí a zároveň využívať mnohé spoločné oblasti humánnej a veterinárnej medicíny.

Súhrn

V práci poukazujeme na vzájomné súvislosti medzi poslaním patologickej fyziológie ako významnej predklinickej disciplíny a existenciou rizikových faktorov v potravinovom reťazci – tak, ako sa nám javia v bežnom živote, vo vyučovacom procese i vo vedecko-výskumnom snažení.

Sme presvedčení, že ďalším poznaním, ktorým budeme obohatení na konferencii, prispejeme k lepšiemu odovzdávaniu poznatkov našim študentom, neskôr odborníkom v praxi.

Zároveň budeme využívať mnohé spoločné oblasti medzi humánou a veterinárnou medicínou zvlášť v nutrigenomike.

Literatúra

1. Rácz, O., Ništiar, F., Riemerová, M.: Experiments on animals and the alternatives in the curriculum of pathological physiology. European Commission, Joint Research Centre Enlargement Action: Workshop on alternatives to the use animals in higher education. Varšava, Poľsko, 18. – 20. 10. 2003. Abstracts, s. 21 – 22.
2. Rácz, O., Riemerová, M.: Úvod do patologickej fyziológie. In: Rácz, O. (Ed.): Základy patologickej fyziológie, I. diel. Študijný materiál pre študentov ošetrovateľstva. Doplnkový študijný materiál pre študentov všeobecného a zubného lekárstva. Amicus Košice, 2004, s. 6 – 19.
3. Ništiar, F., Beňačka, R., Lukačínová, A.: Nutrigenomika – spoločný odbor humánnej a veterinárnej medicíny? Slov. veter. Čas. 30, 2005, s. 231 – 234.
4. Ništiar, F., Ništiarová, A., Lukačínová, A.: Bioterorizmus a veterinárne zabezpečenie ochrany zvierat a požívateľín. Slov. veter. Čas. 28, 2003, s. 13 – 15.
5. Hijová, E., Kuchta, M., Ništiar, F.: Kadmium a zinok v ľudskom organizme. Slovenský lekár 27, 2003, s. 198 – 201.
6. Rácz, O., Ništiar, F., Tomori, Z., Kuchta, M., Lovásová, E.: Účinky fajčenia na ľudský organizmus. In: Kovářová, M. (Ed.): Aktuálne problémy zdravotného stavu populácie. Zborník vedeckých prác, Ústav sociálneho lekárstva LF UPJŠ v Košiciach. Roven Rožňava, 2003, s. 73 – 83.
7. Rácz, O., Kuzmová, D.: Nutrient requirements, undernutrition and eating disorders. In: Kovářová, M. (Ed.): Aktuálne problémy zdravotného stavu populácie. Zborník vedeckých prác, Ústav sociálneho lekárstva LF UPJŠ v Košiciach. Roven Rožňava, 2003, s. 62 – 67.
8. Ništiar, F.: Diabetes mellitus a oxidačný stres – význam niektorých mikronutrientov a stopových prvkov. Lekárske listy, 2001, č. 14, s. 4 – 8.
9. Rácz, O., Ništiar, F., Riemerová, M., Kuzmová, D.: Stručná história diabetes mellitus. In: Kovářová, M. (Ed.): Aktuálne problémy zdravotného stavu populácie. Zborník vedeckých prác, Ústav sociálneho lekárstva LF UPJŠ v Košiciach. Roven Rožňava, 2003, s. 57 – 61.
10. Riemerová, M., Dombrovský, P., Linková, M., Kovářová, M., Rácz, O.: Súvislosti medzi glykemickou kompenzáciou a kvalitou života u chorých s diabetom. XLIII. Východoslovenské lekárske dni. Košice, 27. – 28. 5. 2004.

HODNOTENIE METABOLICKÉHO PROFILOVÉHO TESTU DOJNÍC

EVALUATION OF METABOLIC PROFILE TEST OF DAIRY CATTLE

Schneidgenová, M., Kováčik, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KFŽ

Abstract

Metabolic profile test is realized in order to evaluating of internal milieu, metabolism and nutritional condition of animals. Good health status of animals is important condition for achievement and keeping of high utility. It is necessary, as a prevention of loss in dairy breeding, to elaborate suitable progress of early diagnostics of metabolic or production diseases. The aim of this work was to analyze some metabolic parameters dairy cattle's blood. The parameters of mineral profile which we analyzed respond to physiological interval in all farms. The higher concentration of glucose was measured. The changes of glycaemia are important diagnostic parameters. It can signalize the beginning of energetic negative balance in organism and gluconeogenesis.

Úvod

Vyvážené vnútorné prostredie je dynamický rovnovážny stav metabolických pochodov, ktorému zodpovedá určité látkové zloženie telesných tekutín. Zameranie na vysokú úžitkovosť trvalo vychýľuje parametre vnútorného prostredia mimo optimálnu normu. Predpokladá sa, že to môže výrazne suprimovať imunitné funkcie (Pospíšilová a Černek, 2003). Zavádzaním industrializačných prvkov do technológie chovu hovädzieho dobytku, najmä dojníc, sa zvyšuje efektívnosť živočíšnej výroby. V tomto procese však vzniká nekompromisná požiadavka dôsledne rešpektovať biologické potreby organizmu v záujme udržania jeho vysokej produkcie. V opačnom prípade dochádza k metabolickým poruchám alebo k tzv. produkčným chorobám (Beseda, 1990).

Novák (2003) uvádza, že v praxi sa dosť často stretávame s metabolickými poruchami, hlavne pri vysokoúžitkových dojniciach. Tieto poruchy sú zapríčinené viacerými faktormi, ako napr. skrmovaním závadných (plesnivých, kyslých) objemových krmív, nesprávnym zložením krmnej dávky, vysokým podielom jadrových krmív, čo má za následok vytvorenie nestability bachorového prostredia. Tým dochádza k zníženému rozmnožovaniu mikroorganizmov, ktoré v bachore produkujú mikrobiálnu bielkovinu, sacharidy premieňajú na kyselinu octovú, propiónovú, maslovú, enzýmy a vitamíny.

Metabolický profilový test (MPT) je významná diagnostická metóda na odhaľovanie predklinických štádií metabolických porúch, a to najmä v chovoch dojníc (Kantíková a Balážik, 2003). Metabolický profilový test umožňuje kontrolu zdravia a včasné odhalenie porúch metabolizmu (Slanina a Beseda 1992), odhalenie rôznych endogénnych záťaží organizmu ešte pred klinickým prejavom ochorenia (Novanská, 1990), odhalenie príčin neadekvátnej úžitkovosti, poruchy vo výžive a utilizácii živín ako aj niektoré toxické vplyvy, najmä na parenchymatózne orgány (Slanina et al., 1985). MPT je založený na analytickom stanovení koncentrácie diagnosticky významných metabolitov telových tekutín (ľahko dostupné krv a moč) (Beseda, 1990). Slanina a Beseda (1992) udávajú, že komplexný metabolický profilový test u hovädzieho dobytku pozostáva z 13 profilov a medzi najdôležitejšie vyhodnocované v rámci MPT patria: dusíkový, energetický a minerálny profil.

Materiál a metodika

Dojnice sme sledovali v troch poľnohospodárskych podnikoch a to: Agrocoop a. s. Imeľ, Agrostaar Kráľov Brod a Nové Sady farma Čáb. Vybrané dojnice boli klinicky zdravé, na 3- 4 laktácii a rozdelené do troch skupín podľa fyziologického stavu. V každej skupine bolo po päť kusov dojnic.

- I. skupina- zasušené (4 týždne pred otelením)
- II. skupina- postpartálne obdobie (4 týždne po pôrode)
- III. skupina- v strede laktácie (4 mesiace po pôrode)

Krv pre laboratórne spracovanie krvného séra sme získali punkciou *vena jugularis* do troch hodín po rannom kŕmení. Zachytávala sa priamo do označených centrifugačných skúmaviek. Centrifugáciou zrazenej krvi pri 3500 ot.min⁻¹ po dvoch hodinách po odbere sme získali krvné sérum, v ktorom sme stanovili jednotlivé biochemické ukazovatele: sodík, draslík, glukóza a cholesterol využitím biochemického analyzára Microlab 300.

Výsledky a diskusia

Výsledky biochemických parametrov sú spracované v tabuľkách 1, 2 a 3. V prvom podniku Agrocoop a. s. Imeľ sa hodnoty sodíka a draslíka v krvnom sére vo všetkých skupinách pohybovali v referenčnom rozmedzí, ako uvádzajú Slanina et al. (1992). Referenčné rozpätie u sodíka v krvnom sére je 135- 150 mmol.l⁻¹ a u draslíka je 4,0- 5,8 mmol.l⁻¹. Množstvo glukózy v krvnom sére bolo vyššie ako udáva norma vo všetkých troch skupinách. Pohybovalo sa v rozmedzí 3,94- 5,64 mmol.l⁻¹. Referenčné rozmedzie glukózy podľa Slaninu et al.(1992) je 2,2- 4,1 mmol.l⁻¹. Hladina cholesterolu bola mierne zvýšená v tretej skupine, pričom referenčné rozmedzie cholesterolu je 1,5- 5,2 mmol.l⁻¹.

Tabuľka 1 Biochemické parametre podniku Agrocoop a. s. Imeľ

skupina	Na	K	Gluk.	Chol.
	145	4,15	5,16	3,73
	144	3,95	4,50	3,88
I	147	4,45	5,41	3,79
	146	4,25	5,28	2,93
	148	4,05	5,64	4,45
	148	4,40	4,41	5,74
	147	4,20	4,44	4,60
II	146	4,05	4,08	4,31
	145	4,65	4,39	3,88
	146	4,10	4,25	3,93
	145	4,45	4,75	5,51
	148	4,20	3,94	5,69
III	147	4,40	4,08	5,46
	149	4,15	4,03	5,46
	147	4,05	3,86	5,40

Tabuľka 2 Biochemické parametre podniku Agrostaar Kráľov Brod

skupina	Na	K	Gluk.	Chol.
	146	5,20	4,69	2,41
	143	5,30	4,72	2,61
I	147	5,05	4,11	1,92
	147	5,00	4,99	2,97
	144	5,10	8,91	2,15
	145	4,65	3,50	2,18
	146	4,50	3,80	1,89
II	144	5,05	4,39	1,97
	147	4,95	4,61	1,56
	145	4,95	6,97	1,89
	146	5,15	5,69	3,40
	148	4,95	4,53	5,07
III	145	5,20	5,03	3,38
	144	4,95	4,66	2,12
	147	5,20	4,30	2,94

V podniku Agrostaar Kráľov Brod boli sledované hodnoty sodíka, draslíka aj cholesterolu vo všetkých troch skupinách v referenčných rozmedziach, v súlade s tým, ako udávajú Slanina et al.(1992). Vo všetkých troch skupinách bola zistená zvýšená hladina glukózy v krvnom sére a pohybovala sa od 3,50 do 8,91 mmol.l⁻¹.

V treťom sledovanom podniku V Nových Sadoch na farme Čáb bola zistená zvýšená hladina cholesterolu u dvoch dojníc v prvej skupine, u dvoch dojníc v druhej skupine a u jednej dojnice v tretej skupine. Ostatné sledované parametre, teda parametre sodíka, draslíka glukózy v krvnom sére sa pohybovali v referenčných rozmedziach podľa Slaninu et al. (1992).

Tabuľka 3 Biochemické parametre podniku v Nových Sadoch na farme Čáb

skupina	Na	K	Glu	Chol
	150	4,75	3,70	3,58
	150	4,60	3,40	4,24
I	151	4,35	4,00	7,69
	147	4,40	3,30	6,69
	148	4,85	3,60	5,14
	148	4,35	2,90	7,06
	151	4,30	3,50	4,44
II	150	4,25	3,20	6,66
	147	4,50	3,30	4,90
	148	4,70	3,60	4,71
	148	4,65	3,90	4,90
	149	4,90	3,80	6,13
III	147	4,95	4,60	3,98
	146	4,35	4,00	3,38
	145	4,30	3,60	4,21

Záver

Metabolický profilový test uskutočňujeme za účelom posúdenia vnútorného prostredia, látkového metabolizmu a nutričného stavu zvierat. Dobrý zdravotný stav hospodárskych zvierat je dôležitou podmienkou pre dosiahnutie a udržanie ich vysokej úžitkovosti. Je dôležité v záujme prevencie priamych i nepriamych strát v chovoch dojníc rozpracovať vhodné postupy včasnej diagnostiky vyvíjajúcich sa metabolických resp. produkčných chorôb stáda. Sledované parametre minerálneho profilu (sodík a draslík) vo všetkých podnikoch zodpovedali fyziologickému rozpätiu. Zaznamenali sme zvýšenú koncentráciu glukózy v krvnom sére dojníc vo všetkých sledovaných podnikoch.. Zmena glykémie je dôležitým diagnostickým ukazovateľom najmä preto, že môže signalizovať začiatok energetickej negatívnej bilancie a glukoneogézu.

Literatúra

1. BESEDA, I. 1990. *Nové aspekty štúdia metabolických porúch hovädzieho dobytku profilovými testami*. Bratislava : SAV, 1990. s. 13. ISBN 80-224-0146-3.
2. KANTÍKOVÁ, M. – BALÁŽIK, T. 2003. Diagnostika metabolických porúch alebo prevencia je vždy lacnejšia. In *Slovenský chov*, roč. 8, 2003, č. 7, s. 39-40.
3. NOVANSKÁ, M. 1990. *Dynamika zmien ukazovateľov metabolických testov dojníc a ich príčiny*. Dizertačná práca. Nitra : VŠP. 1990. 115 s.

4. NOVÁK, M. 2003. Aplikácia nových prípravkov firmy Medipharm Slovakia pri metabolických poruchách dojníc v praxi. In *Slovenský chov*, roč. 8, 2003, č. 5, s. 20.
5. POSPIŠILOVÁ, D. – ČERNEK, Ľ. 2003. Zdravé mláďatá – základ úspešného chovu. In *Slovenský chov*, roč. 8, 2003, č. 11, s. 37-38.
6. SLANINA, Ľ. et al. 1985. *Klinická diagnostika vnútorných chorôb hospodárskych zvierat*. 3. vyd. Bratislava : Príroda. 1985. 493 s.
7. SLANINA, Ľ. – BESEDA, I. 1992. *Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a produkcii*. 2 vyd. Bratislava : ŠVS SR. 1992, ISBN 80-71-48-001-0.

EFEKT ELIMINÁCIE KADMIA VPLYVOM ZINKU Z ORGANIZMU HYDINY

EFFECT OF CADMIUM ELIMINATION BY ZINC FROM THE ORGANISM OF POULTRY

Skalická, M., Koréneková, B., Nad', P.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

The effect of Zn on Cd elimination from tissues of Japanese quails was investigated. Birds (n=80) were divided into 3 groups. Group 1 was the control group. In experimental group G2, combination of Cd and Zn, in dose 0.12mg of Cd and 12 mg of Zn was administered daily in form of water solution. In group G3, Cd in dose 0.12 mg of Cd for one quail was added. After 110. day of experiment addition of Cd in group G2 (CdZn) was stopped and group G3(Cd) was divided into 2 parts A with addition of Cd and parts B with addition of Zn. The levels of Cd in tissues were evaluated with method AAS. It was observed positive effect ($P \leq 0,001$) of Zn on Cd elimination from the tissues of Japanese quails after long-term application these elements.

Key words: cadmium, zinc, tissue, Japanese quail

Prudký rozvoj vedy a techniky prináša na jednej strane zvyšovanie životnej úrovne, na strane druhej má však aj záporné sprievodné javy, výsledkom ktorých je narušenie ekologických, biologických a prírodných podmienok života emisiami v oblastiach priemyselných centier (Beneš, 1999, Venglovský a kol., 2005). Je nevyhnutné hľadať spôsoby na zmiernenie toxického vplyvu xenobiotík na živé organizmy, napríklad využitím rôznych benefičných prvkov, je nutné v tejto oblasti získať spresňujúce poznatky (Kováčik a kol., 2000).

Kadmium patrí medzi vysoko toxické a kumulatívne prvky. Chemicky je veľmi podobné zinku, a preto ho môže v jeho zlúčeninách nahrádzať, tiež veľmi ľahko reaguje s množstvom biologicky aktívnych molekúl. Toxicita závisí od druhu zvierat, dávky a od dĺžky pôsobenia na organizmus. Po prijatí dostatočne vysokých dávok, alebo pri dlhodobom príjme nižších dávok, sa prejavia jeho negatívne účinky (Massanyi a kol., 2000).

Moderný prístup k riešeniu retencie kadmia v organizme zvierat je zisťovanie vzájomných interakčných vzťahov medzi kadmiumom a ostatnými rizikovými chemickými prvkami v živých organizmoch (Poráčová a kol, 1996). Zinku sa pripisuje ochranný účinok i vo vzťahu k negatívne pôsobeniu kadmia. Obohatením krmiva zinkom došlo k značnému zníženiu Cd v tkanivách, zvýšeniu dennej produkcie nosníc a zvýšenej konverzii krmiva. Bol zistený ochranný efekt zvýšeného príjmu zinku u rýchlorašúcich prepelíc v porovnaní s prepelicami, ktorých krmná dávka obsahovala nízke hladiny Zn (Flatnitzer, 2000).

Cieľom experimentálnej práce bolo sledovanie odbúravania kadmia z organizmu Japonských prepelíc po dlhodobej expozícii.

Materiál a metodika

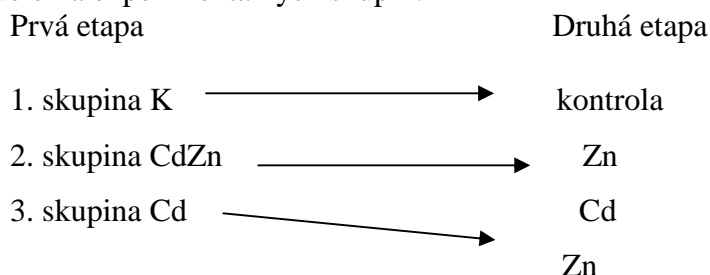
V experimente boli použité Japonské prepelice v počte 80ks, ktoré boli rozdelené do 3 skupín. Kontrolná skupina bola v počte 20 ks. V druhej experimentálnej skupine bola denne aplikovaná kombinácia Cd+Zn (12 mg Zn a 0,12 mg Cd). V tejto skupine sme na 50. deň experimentu ukončili Cd aplikáciu.

V tretej experimentálnej skupine bol denne podávaný Cd forme vodného roztoku CdCl₂ v dávke 0,12 mg na jednu prepelicu. Po 50. dni experimentu sme Japonské prepelice v tejto

skupine rozdelili na dve časti, podskupinu A s prídavkom Cd a podskupinu B s prídavkom Zn (viď schéma). Biologický pokus trval 110 dní.

Prepelice boli kŕmené kompletnou kŕmnu zmesou HYD –10. Kŕmna zmes a voda boli podávané *ad libitum*. Podmienky experimentu boli v súlade s etickými požiadavkami. Vzorky boli spracované mikrovlnným rozkladom a analyzované na prítomnosť Zn na AAS podľa metodiky, ktorú uvádza Kocourek, (1992). Štatistické vyhodnotenie výsledkov bolo analyzované Studentovým *t* - testom v programe Microsoft Excel 7,0 na hladine významnosti $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ a $P \leq 0,001$ oproti kontrole.

Schéma rozdelenia experimentálnych skupín:



Výsledky a diskusia

V kontrolnej skupine na 50. deň experimentu boli zistené priemerné hladiny kadmia vo prsnej, stehenej svalovine a v pečeni ($0,021$; $0,016$; $0,026 \text{ mg.kg}^{-1}$), ktoré neprevýšili povolený limit výskytu Cd $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ pre svalovinu a $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ pre vnútorné orgány v porovnaní s Potravinovým kódexom SR (2004) (graf č. 1).

Aplikácia Cd na 50. deň experimentu spôsobila štatisticky významné zvýšenie ($P \leq 0,001$) hladín kadmia v prsnej, stehenej svalovine a v pečeni ($0,060$; $0,056$; $0,231 \text{ mg.kg}^{-1}$), v porovnaní s kontrolou. Zistené hodnoty boli vyššie ako bol povolený limit pre Cd.

V pokusnej skupine s prídavkom Cd+Zn došlo ku štatisticky významnému zvýšeniu ($P \leq 0,001$) hladín Cd v stehenej svalovine a v pečeni ($0,038$; $0,293 \text{ mg.kg}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou ($0,016$; $0,026 \text{ mg.kg}^{-1}$). Taktiež v prsnej svalovine sa obsah Cd zvýšil ($0,030 \text{ mg.kg}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou ($0,021 \text{ mg.kg}^{-1}$), pričom štatistická významnosť bola na úrovni $P \leq 0,05$. Ochranný vplyv Zn voči Cd sa prejavil v znížení hladín Cd v orgánoch Japonských prepelíc v porovnaní s pokusnou skupinou s aplikáciou iba kadmia.

Zinok ako esenciálny prvok má významnú úlohu pre organizmus zvierat v rôznych biochemických reakciách. Podľa Grotena (1991) vytvára vzájomné interakčné vzťahy hlavne pri tvorbe acidobázickej rovnováhy v organizme zvierat. Adsorpcia Zn je negatívne ovplyvňovaná iným prvkom napr. Cu. Zinku sa pripisuje ochranný účinok i vo vzťahu k negatívnemu pôsobeniu Cd (Christhi a Rotkiewitz, 1993).

Na 110. deň experimentu sme v kontrolnej skupine zaznamenali hladiny Cd vo vzorkách pečene ($0,015 \text{ mg.kg}^{-1}$) a v prsnej a stehenej svalovine ($0,010$; $0,011 \text{ mg.kg}^{-1}$). V porovnaní s 50. dňom experimentu boli na 110. deň v kontrolnej skupine nižšie hladiny Cd. Zistené hodnoty (graf č.2) neprevýšili povolený limit výskytu Cd $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ pre svalovinu a $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ pre vnútorné orgány v porovnaní s Potravinovým kódexom SR (2004).

V 2. pokusnej skupine, kde sa pokračovalo len v aplikácii Zn po skončení aplikácie kombinácie Cd+Zn sme v porovnaní s kontrolou zaznamenali štatisticky významné zvýšenie ($P \leq 0,001$) hladín Cd v stehenej svalovine a v pečeni ($0,023$; $0,215 \text{ mg.kg}^{-1}$) a v prsnej svalovine ($P \leq 0,05$). Nami zistené výsledky experimentu potvrdili ochranný účinok Zn vo vzťahu k negatívnemu pôsobeniu Cd.

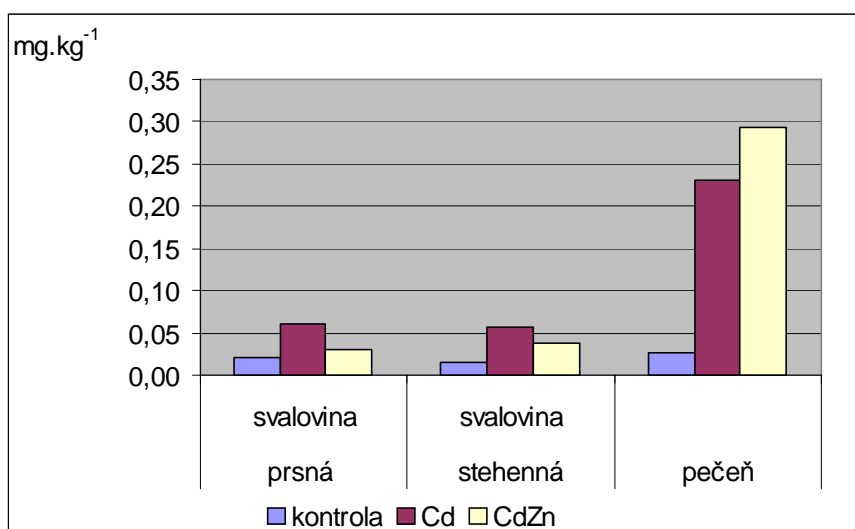
V 3. pokusnej skupine v podskupine A, kde aplikácia Cd pokračovala až do 110.dňa experimentu boli v porovnaní s kontrolnou skupinou štatisticky významne ($P \leq 0,01$) vyššie

hladiny Cd v prsnej svalovine a v pečeni ($0,021$; $0,357 \text{ mg.kg}^{-1}$) a signifikantne vyššie ($P \leq 0,05$) v stehennej svalovine ($0,026 \text{ mg.kg}^{-1}$).

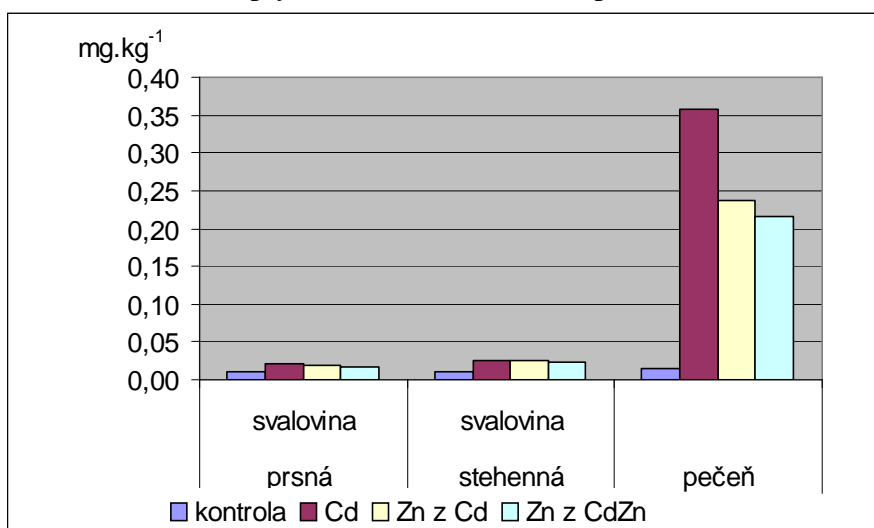
V 3. skupine v podskupine B, kde aplikácia Cd bola ukončená na 50. deň experimentu a po 110. deň experimentu sa aplikoval len Zn, bol zistený obsah Cd v sledovaných orgánoch - prsná svalovina, stehenná svalovina a pečeň ($0,019$; $0,026$; $0,236 \text{ mg.kg}^{-1}$) mierne nižší oproti B podskupine, kde sa pokračovalo s Cd aplikáciou. Zinok v priebehu 60 dní aplikácie prejavil mierny ochranný účinok voči kadmii.

V porovnaní s kontrolou sme zistili štatisticky významne zvýšenie ($P \leq 0,01$) obsahu Cd v prsnej a stehennej svalovine ($0,018$; $0,026 \text{ mg.kg}^{-1}$) a štatisticky významné zvýšenie ($P \leq 0,001$) v pečeni ($0,236 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Graf č. 1 Distribúcia kadmia v orgánoch Japonských prepelíc na 50. deň experimentu



Graf č. 2 Eliminácia Cd vplyvom Zn na 110. deň experimentu



V experimente bol potvrdený pozitívny vplyv Zn na elimináciu Cd z organizmu prepelíc, pričom vzniknuté interakčné vzťahy sa vytvárali pri zabezpečení acidobázickej rovnováhy. Japonské prepelice sú zvlášť citlivé na nedostatočný príjem zinku. Tento nedostatok sa u nich prejavuje stratou chuti do žrania, následným spomalením rastu,

abnormálnym operením, nekoordinovanou chôdzou, poruchami látkového metabolizmu a reprodukčných schopností (Skalická a kol., 2005).

V našom pokuse bol zistený ochranný efekt zvýšeného príjmu Zn u rýchlorastúcich prepelíc v porovnaní s prepelicami, ktorých kŕmna dávka obsahovala nízke hladiny Zn. Na druhej strane, prvým ochranným mechanizmom pri zvýšenom príjme Zn je homeostatický mechanizmus znižujúci jeho absorpciu. V tráviacom trakte sa pri jeho zvýšenom obsahu v kŕmnej dávke viaže na metallothioneín, to umožňuje jeho zadržiavanie a zabraňuje sa tak zvýšenému príjmu Zn do organizmu. Pri nízkej hladine kadmia zinok znižuje jeho kumuláciu, a naopak pri vyššej hladine pravdepodobne indukuje vznik metallothioneínu podobných bielkovín (Cigánková, 2003). Kapacita buniek syntetizovať metallothioneín po expozícii kadmium je dôležitým bunkovým adaptačným mechanizmom voči toxicite kadmia, avšak aj ďalšie prídavné faktory môžu zohrať významnú úlohu. Metallothioneín sa ukazuje ako potenciálny preventívny prostriedok pre predchádzanie otravám ťažkými kovmi: štúdie ukázali, že navodenie syntézy metallothioneínu podávaním zinku znižuje toxicitu kadmia u zvierat aj ľudí.

Literatúra

1. BENEŠ, B.: Význam esenciálnych prvků pro lidský organizmus. Mikroelementy '99.XXIII. seminár o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickem materiálu 1999, Praha, Česká republika, 80 – 90
2. CIGÁNKOVÁ, V., BÍREŠ, J., MESÁROŠ, P.: Zinok a reprodukčné funkcie samcov. Rizikové faktory potravného reťazca človeka, SPU Nitra, Nitra, 2000, 117 - 124
3. CHISTI M.A., ROTKIEWITZ T. : J Environ Pathol Toxicol Oncol, 1993,12 : 35-45.
4. GROTEN J.P., SINKELDAM E.J., MUYS T., LUTEN J.B., BLANDEREN P.J.: Food Chem Toxicol, 1991, 29: 4-8.
5. FLATNITZER, F.: Význam vitamínu E ,Se a Zn pre imunitnú obranu. Slov. chov, 2000,
6. KOVÁČIK, J.: Rizikové faktory potravného reťazca človeka, SPU Nitra, Nitra, 2000, 7 – 22
7. MASSANYI, P., TRANDZIK, J., LUKÁČ, N., STRAPÁK, P., KOVÁČIK, J., TOMAN, R.: The contamination of bovine semen with Cd, Pb, Cu and Zn and its relation to the quality of spermatozoa used for insemination, Folia Vet 44, 2000, 150-153
8. PORÁČOVÁ, J., ORIŇÁK,A., FAZEKAŠOVÁ, D.: Vplyv pesticídnych látok na biologickú zložku životného prostredia, Zborník referátov Hodnotenie a riešenie kvality životného prostredia, 1996, 45-48
9. SKALICKÁ, M., KORÉNEKOVÁ, B., NAĎ, P., KOTTFEROVÁ, J., KORÉNEK, M.: Interakčné vzťahy Cd a Zn v organizme hydiny. Rizikové faktory potravného reťazca, Nitra, 2003, 127 –129
10. VENGLOVSKÝ, J., SASÁKOVÁ, N., VARGOVÁ, M., PAČAJOVÁ, Z., I. PLACHÁ, PETROVSKÝ, M., HARICHOVÁ, D.: Bioresource Technology, 96, 2005, 181-189.
11. VÝNOS MP SR a MZ SR z 15. marca 2004 č. 608/3/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravného kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty v potravinách, 2.časť všeobecné požiadavky, 10. hlava kontaminanty v potravinách

Spracovanie príspevku bolo podporené projektmi: VEGA 1/0564/03, VEGA 1/1336/04, VEGA 1/1353/04,

Kontaktná adresa: MVDr. Magdaléna Skalická, PhD., Katedra výživy dietetiky a chovu zvierat, Univerzita Veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, skalicka@uvm.sk

NUTRIČNÁ HODNOTA HYDINOVÉHO MÄSA PO PÔSOBENÍ STRESOVÝCH FAKTOROV

NUTRITIVE VALUE OF POULTRY MEAT EXPOSED TO EXPERIMENTALLY SIMULATED STRESS

Sopková D., Staníková A.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

A conventional method of column ion-exchange chromatography was used to determine the level of amino acids in the breast muscles of chickens and ducks exposed to experimentally simulated stress. The results showed that generally higher levels of amino acids were found in the breast muscles of chickens in comparison with ducks. Highly significant differences ($P < 0.001$) were observed in essential valine, isoleucine, leucine and phenylalanine. After exposure of chickens to stress, a statistically significant decrease ($P < 0.05$) in amino acids glycine, alanine, arginine, essential threonine, isoleucine, leucine, and lysine was recorded in their breast muscles. A significant decrease ($P < 0.001$) in amino acids histidine and essential phenylalanine was observed in the breast muscles of ducks but only after exposing them to more intensive simulated stress.

Úvod

Hydinové mäso je z nutritívneho hľadiska výhodné vzhľadom na vysoký obsah bielkovín, najmä esenciálnych aminokyselín, vysoký podiel esenciálnych nenasýtených mastných kyselín, minerálnych látok, Ca, P a nízky obsah tukov.

Bielkoviny hydínového mäsa obsahujú v porovnaní s bravčovým a hovädzím mäsom viac arginínu, leucínu a izoleucínu, ako aj metionínu a valínu. Spomínané aminokyseliny patria spolu s fenylalanínom, treonínom a tryptofánom medzi esenciálne.

S požiadavkou vyššej produkcie hydínového mäsa sa do popredia dostáva otázka rýchleho odchovu hydiny. Tento spôsob produkcie hydínového mäsa úzko súvisí s problémom obmedzeného pohybu a zvýšenej záťaže na organizmus (Backstrom a kol., 1995; D'Souza a kol., 1998). Hydina zvláda stresové stavy podstatne lepšie ak disponuje zodpovedajúcou zásobou vitamínu A v pečeni. Retinol priaznivo zasahuje do metabolizmu svalovej bielkoviny, ale aj tukov a glycidov (Lin a kol., 2002).

Vynára sa otázka, či za takýchto stresových podmienok nie je ovplyvnený celkový zdravotný stav zvierat a či je takto vyprodukovaná svalová hmota z hľadiska výživy skutočne plnohodnotná.

Materiál a metodika

V práci sme sa zamerali na analýzu obsahu aminokyselín v prsnom svale hydiny krmenej bežnými kŕmnyimi zmesami ktorej boli experimentálne navodené stresové podmienky. Kurčatá ($n=18$) aj kačice ($n=18$) sme rozdelili do troch skupín. Prvú tvorila kontrolná skupina, druhej skupine sme experimentálne navodili stres elektrickým prúdom s napätím 1250 V a intenzitou 16 mA. Tretia skupina bola stresovaná 3,5% Narkotanom. Bezprostredne po simulácii stresu bola hydina porážaná, a z odobraných vzoriek prsnej svaloviny použitím 6 N HCl pripravené hydrolyzáty bielkovín. Analýzu aminokyselín sme vykonali klasickou metódou stĺpcovej chromatografie na ionexoch (AAA T 339).

Výsledky

Výsledky prezentujú všeobecne vyššie hodnoty aminokyselín v prsnej svalovine kurčiat v porovnaní s kačicami. Vysoko signifikantné rozdiely ($p < 0,001$) konštatujeme u esenciálneho valínu, izoleucínu, leucínu a fenylalanínu.

U kurčiat kŕmených bežnými kŕmnymi zmesami nedošlo k štatisticky významnému zníženiu obsahu aminokyselín medzi kontrolnou skupinou a skupinou stresovanou elektrickým prúdom aj napriek tomu, že sme zaznamenali mierny pokles. Štatisticky významné ($p < 0,05$) zníženie hodnôt sme zaznamenali medzi kontrolnou skupinou a skupinou stresovanou 3,5% - ným narkotanom u glycínu, alanínu, arginínu, esenciálneho treonínu, izoleucínu, leucínu a lyzínu. (Tab.1)

Porovnávaním priemerných hodnôt aminokyselín v prsnej svalovine kačíc, medzi jednotlivými skupinami konštatujeme len mierny štatisticky nevýznamný pokles u zvierat stresovaných el. prúdom s napätím 750 V a intenzitou 10 mA. Vysoko signifikantné ($p < 0,001$) zníženie histidínu a esenciálneho fenylalanínu sme zaznamenali u kačíc stresovaných el. prúdom s napätím 1 250 V a intenzitou 16 mA. (Tab.2)

Tab.1 Hodnoty aminokyselín v prsnom svaľe kurčiat po stresovom zaťažení

AMINOKYSELINA	Kontrola		Elektr. šok		Narkotan		T - test	
	x	sd	x	sd	X	sd	I.-II.sk.	I.-III.sk.
Kys.asparágová	19,48	1,06	19,67	0,62	18,48	0,45	-	+
Treonín*	9,17	0,49	9,16	0,27	8,59	0,23	-	+
Serín	7,67	0,38	8,80	1,86	7,64	0,20	-	-
Kys.glutámová	30,44	1,72	30,91	0,64	29,29	0,74	-	-
Prolín	8,10	1,56	8,16	0,80	7,54	0,39	-	-
Glycín	8,78	0,42	8,52	0,29	8,01	0,41	-	+
Alanín	11,62	0,66	11,54	0,34	10,87	0,33	-	+
Valín*	9,66	0,55	9,96	1,17	8,69	0,45	-	-
Izoleucín*	9,04	0,58	8,73	1,59	8,00	0,46	-	+
Leucín*	16,19	1,01	16,10	0,60	14,89	0,57	-	+
Tyrozín	6,15	0,34	6,58	0,33	5,91	0,20	-	-
Fenylalanín*	12,42	0,59	11,04	2,25	11,66	0,56	-	-
Histidín	13,07	0,83	12,26	1,03	12,31	0,77	-	-
Lyzín*	18,09	0,96	18,00	0,56	16,70	0,63	-	+
Arginín	12,14	0,75	12,60	0,38	11,02	1,31	-	+

x = priemerná hodnota

sd = smerodajná odchýlka + = $p < 0,05$ ++ = $p < 0,01$ +++ = $p < 0,001$

n = 18

Tab.2 Hodnoty aminokyselín v prsnom svalu kačíc po stresovom zaťažení

AMINOKYSELINA g/kg	Kontrola		Elektr. šok 750 V		Elektr. šok 1 250 V		T - test	
	x	sd	x	sd	X	sd	I.-II.sk.	I.-III.sk.
Kys.asparágová	18,48	0,49	18,38	1,39	18,27	0,79	-	-
Treonín*	8,57	0,25	8,43	0,66	8,27	0,62	-	-
Serín	7,64	0,22	7,44	0,54	7,35	0,58	-	-
Kys.glutámová	29,29	0,82	29,06	2,14	28,74	1,55	-	-
Prolín	7,54	0,45	7,12	0,77	6,90	1,63	-	-
Glycín	8,00	0,45	7,29	1,34	7,15	0,48	-	+
Alanín	10,87	0,36	10,71	0,80	10,75	0,85	-	-
Valín*	8,69	0,49	8,44	0,95	8,28	0,56	-	-
Izoleucín*	8,00	0,51	7,88	0,75	7,48	0,45	-	-
Leucín*	14,89	0,52	14,79	1,12	15,15	1,03	-	-
Tyrozín	5,91	0,22	5,75	0,49	5,75	0,32	-	-
Fenylalanín*	11,65	0,61	9,92	2,08	9,27	1,03	-	+++
Histidín	12,31	0,84	11,74	1,17	6,80	0,68	-	+++
Lyzín*	16,69	0,70	16,47	1,72	16,36	1,21	-	-
Arginín	11,01	1,44	11,09	1,23	8,28	2,54	-	+

x = priemerná hodnota

sd = smerodajná odchýlka

+ = $p < 0,05$ ++ = $p < 0,01$ +++ = $p < 0,001$

Diskusia

Pri vyrovnávaní sa zvierat so stresovou situáciou má účasť hormónov za následok veľa metabolických zmien. Bezprostredne po zmene v životnom prostredí nastáva štádium šoku. Dochádza k zmenám v koncentráciách cirkulujúcich catecholamínov, histamínu, serotonínu s následným zvýšením oxidácie v CNS a mastných kyselín a glukózy v myokarde. Stúpa produkcia a sekrécia ACTH, nastáva syntéza steroidných hormónov kôry nadobličiek (Goldstein, 1995; Pástorová, 1998). Za takých podmienok dochádza prevažne ku katabolickým procesom (glykogenolýza – lipolýza), následne k enzymovej hydrolýze bunkových proteínov v orgánoch a tkanivách.

V ťažkom šoku môže odpad dusíka dosahovať 20 – 30 g / 24 hod., čo zodpovedá strate 180 g bielkovín a úbytku 600 – 1000 g tkaniva, čo vedie k ochabnutiu a zmenšeniu objemu svalstva (Eits, 2002). Počas šoku sa zvyšujú v plazme niektoré aminokyseliny a znižuje sa hladina albumínov.

Súčasťou stresovej reakcie je zvýšená sekrécia STH (Somatotropný hormón), ktorú vyvoláva dopaminergná stimulácia (Pástorová a kol., 1996). Biologický význam vyplavenia STH pri strese spočíva v proteoanabolizme kompenzujúcom pôsobenie glukokortikoidov (Sova, 1990; Goldstein, 1995). STH zvyšuje proteosyntézu, ktorou možno dokumentovať pozitívnu dusíkovú bilanciu v organizme. Paralelne dochádza k poklesu hladiny aminokyselín v sére. STH ďalej zaisťuje transport aminokyselín do svalu a podporuje tvorbu proteínov vo svalstve stimuláciou syntézy RNA a DNA, čím možno vysvetliť zvýšenie hladín niektorých aminokyselín po pôsobení stresorov u hydiny, ktorej krmivo bolo suplementované vitamínmi.

Literatúra

1. Backstrom, L. and Kauffman, R., 1995: Agri-Practice 16 (8): 24-30.
2. D'Souza, D.N., Dunshea, F.R., Warner, R.D., Leury, B.J., 1998: *Meat Sci.*50, 429-437.

3. Eits, R.M., Kwakkel, R.P., Verstegen, M.W.A., Stoutjesdijk, P., De Greefs, K.H., 2002: *Poultry Science* 81: 472-480.
4. Faixová, Z., Faix, Š., Várady, J., 1999: *Vet. Med. – Czech*, 44(1): 711.
5. Goldstein, D.S., 1995: *New York, Oxford Univ. Press.*, 3-102
6. Lin, H., Wang, L.F., Song, J.L., Xie, Y.M., Yang, Q.M., 2002: *Poultry Science* 81: 458-465.
7. Pástorová, B., 1998: *Physiol. Res.* 47, 471-475.
8. Pástorová, B., Várady, J., 1996: *Physiol. Res.*, 45: 125-129.
9. Sova, Z., Bukvaj, J., Koudela, K., Kroupová, V., Pješčák, M., Podaný, J., 1990: *Fyziologie HZ. Vydalo státní zemědělské nakladatelství, Praha.*

ANALÝZA PRODUKTOV DEGRADÁCIE LIPIDOV V TUKOVOM TKANIVE OŠÍPANÝCH POČAS MRAZIARENSKÉHO USKLADNENIA

THE ANALYSIS OF PRODUCTS OF LIPID DEGRADATION IN FROZEN PORK ADIPOSE TISSUE DURING FREEZING STORAGE

Sopková D.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

The changes in the basic lipid constants (*peroxidation number, number of fat acidity and thiobarbituric acid*) of pork meat (*m. longissimus dorsi*) of normal quality, and that of altered quality (*PSE: pale, soft, exudative*) were observed in dependence on the length of freezing storage. The aim was to deepen and to make objective the knowledge on the effect of freezing process on the parameters of quality of pork fat. Statistically significant changes in the basic lipid constants in thermally untreated frozen pork fat occur in general after month 6 of freezing storage in both groups.

Úvod

Tuk ošípaných a hydiny má pomerne vysoký obsah nenasýtených mastných kyselín, čo ovplyvňuje jeho konzistenciu a náchylnosť na oxidáciu (JOHNSTON a kol. 1992; PIPOVÁ a kol. 1995; BYRNE a kol. 2002). Na výslednú kvalitu tuku získaného z jatočných zvierat majú vplyv intravitálne faktory, ako je *druh zvieratá, jeho pohlavie, vek, zloženie kŕmnej dávky, a lokalizácia v tele živočícha* (GRACEY a kol. 1999; ENSER a kol. 2000), ale tiež *fyzické zaťaženie, zlé zaobchádzanie so zvieratami a iné stresové faktory* pôsobiace tesne pred odporazením zvyšujú spotrebu energie, čo spôsobuje zvýšenie počtu voľných radikálov v bunkách, ktoré značne urýchľujú oxidatívnu degradáciu tuku *post mortem* (BYSTRICKÝ a kol. 1999; MÁTÉ a kol. 1999). Pretože produkty oxidatívnej degradácie veľmi výrazne negatívne ovplyvňujú organoleptické vlastnosti potravín, ich analýze sa venuje veľká pozornosť. Existuje celý rad metód, od tých najjednoduchších kvalitatívnych až po veľmi presné analytické metódy (BAKALOVÁ a kol. 2000; FENAILLE a kol. 2001).

Finálnym produktom, ktorý vzniká v najväčšom množstve je malonyldialdehyd (MARCINČÁK a kol. 2002). Pri hlbokoj oxidácii tukov vznikajú cyklické peroxidy a z nich hydroxykyseliny, tzv. lojovatenie tukov (MÁTÉ a kol., 1999).

Počas získavania, spracovávanía a skladovania tukov dochádza k chemickým zmenám, ktoré senzorycky a dieteticky znehodnocujú tuky a sú zdrojom zdraviu škodlivých zlúčenín. Stres a zlé zaobchádzanie so zvieratami tesne pred porážkou zvyšuje počet voľných radikálov a hladinu adrenalínu v organizme, čo značne urýchľuje degradáciu tuku *post mortem*. Zamerali sme sa preto na analýzu produktov hydrolytickej a oxidatívnej degradácie lipidov normálneho a PSE mäsa v priebehu 12-mesačného mraziarenského uskladnenia.

Materiál a metódy

Dvanásť ošípaných s atypickým priebehom zrenia mäsa a následnými kvalitatívnymi zmenami mäsa PSE tvorilo pokusnú skupinu, a dvanásť ošípaných s normálnym priebehom zrenia mäsa kontrolnú skupinu. Po porážke zvieratá a 24 hodinovom chladení v chladiarni pri 4 °C, sme odoberali materiál na rozrábkovej linke vykostením karé priamo z bravčových polovičiek, na ktorých bola ponechaná minimálne 2 cm vrstva chrbtovej slaniny, potrebná na stanovenie kvality tukovej zložky mäsa.

Bravčové karé sa rozdelilo na dvanásť približne rovnakých častí, jedenásť z nich bolo hlboko zmrazených prúdom chladeného vzduchu v zmrazovacích tuneloch pri -40°C , prúdení vzduchu $4\text{--}6\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ a uložených do mraziarenského skladu na dlhodobé uskladnenie pri teplote -18°C , relatívnej vlhkosti 90–95%. Jedna časť bola určená na laboratórne vyšetrenia hneď po odobratí materiálu ako čerstvá surovina.

Materiál na stanovenie kvality tukovej zložky mäsa:

- peroxidové číslo (PČ) metódou podľa HELCLOVÁ a kol. (1991)
- číslo kyslosti tukov (ČKT) metódou HELCLOVÁ a kol. (1991)
- tiobarbiturové číslo (TBA) metódou podľa BULLA a MARNETTA (1985)

bol skladovaný v mraziarni a pravidelne v mesačných intervaloch z mraziarne vyberaný a spracovávaný.

Matematicko–štatistické porovnanie jednotlivých parametrov medzi pokusnou a kontrolnou skupinou bolo robené Studentovým T-testom. Na vyhodnotenie dynamiky zmien jednotlivých testovaných parametrov v priebehu 12 mesačného mraziarenského skladovania sme použili test ANOVA a na porovnávanie kontrastov v rámci mesiacov TUKEY'S test.

Výsledky

V tukovom tkanive medzi porovnávanými skupinami konštatujeme, že:

- **hydrolytické zmeny** tukovej zložky sú prezentované vo všeobecnosti vyššími hodnotami ČKT v PSE skupine ako v skupine kontrolnej
- signifikantne vyššie ($P < 0,05$) sú hodnoty ČKT v prvom, druhom a ôsmom mesiaci mraziarenského skladovania
- **oxidačné zmeny** zaznamenané PČ sme zistili v kontrolnej skupine, signifikantne vyššie ($P < 0,001$) hodnoty PČ v šiestom mesiaci a ($P < 0,05$) vo štvrtom, piatom a siedmom mesiaci skladovania
- maximálnu prípustnú hodnotu PČ $6\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ tuku sme u oboch sledovaných skupín namerali v jedenástom mesiaci skladovania
- rozdiely v TBA čísle medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sú štatisticky nevýznamné

V priebehu mraziarenského skladovania.

Porovnaním hodnôt základných tukových konštánt počas 12-tich mesiacov mraziarenského skladovania s čerstvou surovinou a zhrnutím dosiahnutých výsledkov medzi skupinami sme zistili, že k štatisticky významným zmenám v tepelne neošetrenom mrazenom bravčovom tuku dochádza:

- ČKT po šiestom mesiaci uskladnenia v oboch sledovaných skupinách (hodnoty nad $1\text{ mg KOH}\cdot\text{g}^{-1}$)
- PČ po šiestom mesiaci uskladnenia v PSE skupine, v kontrolnej skupine po štvrtom mesiaci uskladnenia (hodnoty 3,5 až $4,2\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)
- TBA po šiestom mesiaci uskladnenia v kontrolnej skupine, po siedmom mesiaci uskladnenia v PSE skupine (hodnoty 0,9 až $1\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Záver

Analýzou výsledkov získaných pri sledovaní kvality čerstvého tukového tkaniva jatočne opracovaných tiel ošipovaných sme zistili, že hydrolytické poškodenie tukového tkaniva je

ovplyvnené stresovými faktormi pôsobiacimi pred porážkou. Zaznamenali sme signifikantne vyššie hodnoty čísla kyslosti tukov u ošípaných s kvalitatívne zmeneným PSE mäsom. Nezistili sme však štatisticky významne vyššie hodnoty produktov oxidatívnej degradácie tukov v čerstvej surovine medzi pokusnou a kontrolnou skupinou, čo je v súlade s výsledkami BYSTRICKÝ a DIČÁKOVÁ (1988); BYSTRICKÝ a kol. (1999). Hodnoty primárnej oxidatívnej degradácie lipidov už v čerstvom tukovom tkanive obidvoch skupín ošípaných sú však všeobecne vyššie (PČ PSE skupina 2,35; kontrolná skupina 2,31mmol.kg⁻¹) a naznačujú, že toto poškodenie je podmienené aj inými faktormi ako stresovým zaťažením.

Skladovanie takejto suroviny vedie k urýchleniu oxidatívnych zmien v tukovej zložke aj pri mraziarenských teplotách. Deštruované bunky tkanív sú bohatým zdrojom nenasýtených mastných kyselín, tvoriacich vnútrobunkové štruktúry. Tieto sú v priebehu propagačnej fázy autooxidácie zdrojom voľných radikálov a urýchľujú produkciu hydroperoxidov a peroxidov mastných kyselín aj v ostatných tukoch. Po zvýšení teploty dochádza k rýchlemu priebehu terminálnej fázy autooxidácie, produkcii terminálnych produktov oxidatívnej degradácie lipidov – tuchnutie tukov. Danému problému je možné predísť predovšetkým:

- maximálnou možnou elimináciou stresu zvierat *in vivo* a predovšetkým *ante mortem*
- suplementáciou krmiva antioxidantmi, hlavne v tuku rozpustným vitamínom E
- dodržiavaním teplôt v mraziarenských skladoch s maximálnym zvýšením teploty na -15 °C, tak ako to stanovuje POTRAVINOVÝ KÓDEX SR

Súčasná legislatíva nestanovuje požiadavky pre sledovanie základných tukových konštant (ČKT, PČ, TBA) v čerstvej a mrazenej surovine. Tretia časť POTRAVINOVÉHO KÓDEXU SR ustanovujúca konkrétne požiadavky pre všetky komodity v piatej hlave konkretizuje len osobitné požiadavky pre škvarené živočíšne tuky vrátane bravčovej masti. V zmysle NARIADENIA VLÁDY SR č. 286/2003 z.z, Prílohy č.4 v časti B, ustanovujúcej osobitné hygienické požiadavky pre živočíšne tuky a mäsové výrobky tiež absentuje čerstvá a mrazená surovina. Na základe našich zistení navrhujeme legislatívne stanoviť požiadavky na čerstvé a mraziarensky ošetrované tukové tkanivo.

Literatúra

1. BAKALOVA, R., MILEVA, M., KOTSEV, CH., BARDAROV, V., RIBAROV, St.: Determination of malondialdehyde in biological samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 22, 2000, 267-269.
2. BYRNE, D.V., BREDIE, W.L.P., BAK, L.S., BERTELSEN, G., MARTENS, H., MARTENS, M.: Sensory and chemical analysis of cooked porcine meat patties in relation to warmed-over flavour and pre-slaughter stress. *Meat Science*, 59, 3, 2002, 229-249.
3. BYSTRICKÝ, P., DIČÁKOVÁ, Z.: Živočíšne tuky v potravinách. *Slov. vet. čas.*, Supl. 1, 1998, 3–42.
4. BYSTRICKÝ, P., DIČÁKOVÁ, Z., PAULSEN, P.: Oxidačné zmeny v tukovom tkanive ošípaných. *Hygiena Alimentorum XX*, 1999, 48-50.
5. ENSER, M., RICHARDSON, R.I., WOOD, J.D., GILL, B.P., SHEARD, P.R.: Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages, *Meat-Science*, 55, 2000, 201-212.

6. GRACEY, J.F., COLLINS, D.S., HUEY, R.J.: Meat hygiene. Tenth edition. W. B. Saunders company LTD, 1999, 757.
7. FENAILLE, F., MOTTIER, P., TURESKY, R.J., ALI, S., GUY, P.A.: Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders. *J. Chromatogr. A*, 921, 2001, 237-245.
8. JOHNSTON, D.E., KNIGHT, M.K., LEDWARD, D.A.: The chemistry of Muscle-based Foods. *The Royal Society of Chemistry*. 1992, 43-45.
9. MARCINČÁK, S., TUREK, P., SOKOL, J., POPELKA, P., BYSTRICKÝ, P.: Determination of malondialdehyde in pork by HPLC as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivate. *Folia Veterinaria*, 46, 3, 2002, 135-138.
10. MÁTÉ, D., TUREK, P., KORIMOVÁ, Ľ.: Využitie prírodných antioxidantov v mäsovej výrobe. *Hygiena Alimentorum XX*, 1999, 148-149.
11. PIPOVÁ, M., CABADAJ, R., NAGY J.: *Hygiene of Poultry ,Eggs, Fish, and Game*. Datahelp Košice, 1995, 110 s.

COMPARISON OF METAL BIOAVAILABILITY IN FROGS FROM URBAN AND AGRICULTURAL SITES OF WESTERN UKRAINE

Stolyar O., Loumbourdis N., Falfushinska H., Romanchuk L.

Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine, Aristotelian University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Abstract

The aim of this study was to elucidate the seasonal and spatial fluctuations of heavy metals content in the liver of the frog *Rana ridibunda*, to examine the possibility of using it as a bioindicator species of water quality and also to examine the functional state of the organism. Liver weight was increasing continuously from spring to autumn, most probably as a result of accumulation of metabolites, especially fat and glycogen. The degree of metal concentrations in the liver of frog was in the order: Fe>Cu>Zn>Mn>Cd. The highest level of Cu in the liver was observed in spring, and in the agricultural site, while the highest levels of other metals was observed in the summer, followed by other seasons. The most probable explanation for pollution of agricultural site considering Cu is that in this wetland are discharged effluents with fungicides with Cu in their formula. Compared to other metals, the bioavailability of Cu was approximately ten folds higher. The content of Fe reflects its fluctuation in water bodies. Despite its very low concentration found in the water (below the limit of detection), Cd was detected in the liver of frogs inhabiting urban site. This is an indication that the tissues accumulate Cd, despite its very low concentration in the water. Moreover, this may be an indication of intermittent exposure of frogs to Cd.

Introduction

Amphibians, and especially frogs, are delicious food recourse. On the other hand, they are the perspective test organisms for the investigation of accumulation of pollutants. They are near the top of the food chain since invertebrates, which are their main food source are an important partway by which pollutants can enter in the body of amphibian. Moreover, amphibians typically obtain water through the ventral skin. Therefore, because they remain for a long time under water, it may reflect the various contaminants being in the surrounding water. Despite of these particularities, amphibians are not well studied compared to other aquatic animals regarding the possible accumulation of toxic environmental substances in their native surrounding (Loumbourdis and Wray, 1998; Rouhani Rankouhi et al., 2005). Heavy metals constitute a major problem with regards to environmental contamination, because they are toxic and tend to accumulate in living organisms. Few studies have been carried out regarding heavy metal accumulation in amphibian species in natural populations and, to our knowledge such information concerning Ukrainian amphibians is absent at all. Thus, the purpose of this study has to ascertain whether frogs can be used as bioindicators of heavy metal fluctuations in water bodies.

Materials and methods

The experiments were carried out in three seasons (spring, summer and autumn). The individuals of frog *Rana ridibunda* were collected manually from two wetlands, one in an agricultural site near the beginning of river Seret (village Yasnishe, 49°49' N, 25°23' E) and the other in the surrounding of the urban pond situated in the middle stream of the same river in the centre of city Ternopil with about 220 thousands of residents, alongside significant motorway (49°33' N, 25°37' E). The individuals were measured (to mm) and weighted (to mg). The condition factor (CF) of the animals was calculated based on the following equation: CF = [total

mass (g)/total length³ (cm)] × 100. The liver was dissected, drained by filter paper and weighted. The condition index (CI) of the liver was calculated as the ratio: (drained mass of tissue/total mass) × 100. Zn, Cu, Mn, Fe, Cd, Pb content in liver of frog and in water was determined by atomic absorption spectrophotometry. Metals concentration in water was expressed as μg·l⁻¹, in tissues – as μg·g⁻¹ fresh weight (FW) and as μg·g⁻¹ dry weight (DW). From the metal content in frog liver and water, metal accumulation was estimated as bioaccumulation factors (BAF) (the ratio of concentration in tissue and water).

Results

The analysis of metal content in the water pointed out the seasonal differences which were expressed as an increase of Cu and Zn level in autumn, and Mn and Fe in autumn in comparison to other seasons in both sites for few exceptions (Tabl. 1). For other hand, no elevation of maximum permitted quantity of metals, allowed by the current Ukrainian legislation for its content in water, was observed. The Cd and Pb concentration in the water was below the detection limit in all seasons. The measurement of gross morphological characteristics showed that the frogs captured in summer had the least length, especially in the urban site. This was also true for the weight of liver in urban site. But the increase of liver weight in frogs from agricultural site in summer and in autumn had revealed, although CI of liver was elevated in these seasons in comparison with spring in both sites (Tabl. 2).

Table 1. Heavy metal content in water, μg·l⁻¹, n = 3

Metal	Agriculture site			Urban site		
	Spring	Summer	Autumn	Spring	Summer	Autumn
Cu	3.3±0.2	3.1±0.2	4.7±0.3 ^a	4.7±0.3 ^b	2.6±0.1 ^a	7.0±0.4 ^{ab}
Zn	29.0±1.3	19.8±1.0 ^a	61.9±2.9 ^a	23.8±1.1	20.0±1.2	30.3±1.1 ^{ab}
Mn	16.1±1.2	68.3±3.2 ^a	27.2±1.1 ^a	26.2±1.2 ^b	13.1±0.5 ^{ab}	16.4±0.7 ^{ab}
Fe	165.0±5.4	206.1±7.2 ^a	217.1±5.8 ^a	294.0±6.8	371.2±6.2 ^{ab}	129.6±3.6 ^{ab}
Cd	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
Pb	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

In all cases, ^a – temporal changing compare to spring; ^b – spatial changing significantly differed, $P < 0.05$. The values are expressed as the mean ± SD.

Table 2. The morphological indices of *Rana ridibunda* from agriculture and urban site (Mean ± SD (n))

Parameters	Season	Agriculture site	Urban site
Body length (cm)	Spring	10.1±0.7 (7)	9.4±0.2 (9)
	Summer	8.9±2.0 (12)	5.7±0.5 ^a (8)
	Autumn	9.7±1.3 (6)	6.9±1.9 (10)
Liver weight (g)	Spring	1.31±0.30 (7)	1.33±0.30 (9)
	Summer	4.02±2.49 (12)	0.30±0.05 ^a (8)
	Autumn	4.94±2.10 ^a (6)	0.32±0.11 ^a (10)
CI of liver	Spring	1.8±0.4 (7)	1.8±0.4 (9)
	Summer	1.0±0.4 ^a (12)	3.1±0.7 ^a (8)
	Autumn	5.7±1.8 ^a (6)	3.2±0.9 ^a (10)
CF	Spring	7.8±0.7 (7)	8.7±0.5 (9)
	Summer	5.2±3.7 (12)	6.1±0.3 (8)
	Autumn	9.8±0.8 (6)	8.7±1.1 (10)

The level of all investigated metals except Cu in liver of frog was elevated in summer in both sites (Tabl. 3). The Cu content in frogs from agricultural site was the highest in spring and in urban site it was similar in all seasons. The least level for Cu, Mn and Fe in liver was fixed in autumn and for Zn and Cd – in spring. Pb was not revealed in this tissue. The measuring of metals content in the regards to DW possesses the same objectivities then in fresh tissue (Tabl. 4). The comparison of animals from two sites revealed the differences in level of all studied metals in liver between them except Fe (Tabl. 5) with the elevation of metals, especially Mn and Cd content in urban site for few exceptions. Seasonal regularity for all metals except Cu in urban site was also determined. The analysis of metal bioavailability (Tabl. 6) demonstrates that the accumulation of Cu was ten fold higher than for other metals. The least BAF was reflected for Mn. In most cases the highest BAF was observed in summer. It also was higher in spring than in autumn for few exceptions. The comparison of two sites shows significant difference in BAF of Cu in all seasons.

Table 3. Heavy metal content in the frog liver, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$ (Mean \pm SD, n = 6)

Metal	Site	Spring	Summer	Autumn
Cu	Agriculture	36.2 \pm 4.4	23.5 \pm 1.9 ^a	13.0 \pm 1.2 ^a
	Urban	30.0 \pm 3.2 ^b	29.8 \pm 4.0	27.7 \pm 4.0 ^b
Zn	Agriculture	15.1 \pm 1.6	47.8 \pm 9.4 ^a	26.8 \pm 4.0 ^a
	Urban	16.7 \pm 2.2	55.4 \pm 3.0 ^a	39.8 \pm 4.3 ^{a,b}
Mn	Agriculture	2.0 \pm 0.1	3.7 \pm 0.3 ^a	0.64 \pm 0.07 ^a
	Urban	2.7 \pm 0.2 ^b	4.3 \pm 0.4 ^{a,b}	0.91 \pm 0.09 ^{a,b}
Fe	Agriculture	210.4 \pm 36.5	475.0 \pm 70.8 ^a	51.5 \pm 8.3 ^a
	Urban	358.2 \pm 24.5 ^b	344.8 \pm 46.8 ^b	60.1 \pm 7.9 ^a
Cd	Agriculture	<0.2	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0
	Urban	<0.2	0.5 \pm 0.1 ^b	0.4 \pm 0.0 ^b

Discussion.

Liver is one of the primary target organs of heavy metals accumulation. Among the observed regularities the ability of frog liver to accumulate Cd above the detected level despite it slight content in water seems to be the most important feature due to highly toxicity of this metal for organism (Vogiatzis and Loumbourdis, 1998).

Table 4. Heavy metal content in the frog liver, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{DW}$ ((Mean \pm SD, n = 6)

Metal	Site	Spring	Autumn
Cu	Agriculture	164.1 \pm 14.4	39.5 \pm 4.5 ^a
	Urban	129.4 \pm 17.7 ^b	89.9 \pm 12.8 ^{a,b}
Zn	Agriculture	70.4 \pm 13.6	81.4 \pm 13.5
	Urban	71.8 \pm 9.3	126.3 \pm 12.7 ^{a,b}
Mn	Agriculture site	9.1 \pm 0.7	1.9 \pm 0.2 ^a
	Urban	11.6 \pm 1.0 ^b	3.0 \pm 0.4 ^{a,b}
Fe	Agriculture	1073 \pm 314	156.1 \pm 26.0 ^a
	Urban	1543 \pm 155 ^b	191.9 \pm 28.8 ^{a,b}
Cd	Agriculture	<0.2	0.5 \pm 0.1
	Urban	<0.2	1.0 \pm 0.2 ^b

Table 5. Results of the one-way ANOVA analysis on the seasonal and temporal changes of metal content in the liver of *Rana ridibunda*

Metal	Effect of site			Effect of season					
				Agriculture			Urban		
	F	df	P	F	df	P	F	df	P
Cu, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$	16.3	1	0,0003	97.4	2	0.0000	0.07	2	0.9347
Zn, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$	21.8	1	0.0000	11.4	2	0.0011	223.9	2	0.0000
Mn, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$	57.9	1	0.0000	103.7	2	0.0000	13.9	2	0.0004
Fe, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$	0.4	1	0.5135	97.4	2	0.0000	148.1	2	0.0000

It should be also marked the significant rate of accumulation of Cu in the liver of frog. The frogs exhibit Cu level in liver 5 to 50 fold above those seen in other aquatic animals (bivalve, fish) and higher vertebrates even after their exposure to this metal (Harris, 2000; Handy, 2003; Stolyar et al., 2004). For other hand the level of Mn in the liver of frog is significantly lower then in the appropriate tissues of other aquatic animals, especially bivalve (Stolyar et al., 2004). In fact, according to these regularities frogs represent the peculiar features among the animals. The activation of accumulation of most metals in summer is probably related to the physiological state more then content of metals in water, because the application of the multiple regression analysis to the obtained data revealed the correlation only between the content of Fe in water and liver of frog ($P=0.002$). The continuously elevation of liver weight and CI from spring to autumn may be most probably the result of accumulation of metabolites, especially fat and glycogen in it. The exposure to Cu or Cd did not provoke such effect in frog even after more then ten folds increasing level of metal in it (Vogiatzis and Loumbourdis, 1998. Paradimitriou and Loumbourdis, 2003).

Table 6. BAF (FW) in the frog liver (Mean \pm SD, n = 6)

Metal	Experimental site	Spring	Summer	Autumn
Cu	Agriculture	11.0 \pm 1.3	7.5 \pm 0.6 ^a	1.9 \pm 0.2 ^a
	Urban	6.4 \pm 0.6 ^b	12.1 \pm 0.7 ^{a,b}	6.6 \pm 1.8 ^b
Zn	Agriculture	0.52 \pm 0.05	2.42 \pm 0.51 ^a	0.92 \pm 0.11 ^a
	Urban	0.70 \pm 0.09 ^b	2.82 \pm 0.12 ^{a,b}	0.63 \pm 0.06 ^b
Mn	Agriculture	0.122 \pm 0.010	0.055 \pm 0.004 ^a	0.039 \pm 0.004 ^a
	Urban	0.103 \pm 0.010	0.351 \pm 0.078 ^{a,b}	0.034 \pm 0.004 ^a
Fe	Agriculture	1.27 \pm 0.22	2.32 \pm 0.31 ^a	0.39 \pm 0.06 ^a
	Urban	1.21 \pm 0.08	0.91 \pm 0.10 ^b	0.27 \pm 0.03 ^{a,b}

The comparison of two sites seems to reflect more dangerous anthropogenic effect on frog in the urban site in the middle stream of the river in comparison with agricultural site in the upstream of the same river. The elevation of metals content in liver despite its low level in water may be an indication of intermittent exposure of frogs to metals. The most probable explanation for high level of Cu in water and liver of frog in agricultural site is that in this wetland are discharged effluents with fungicides with Cu in their formula. For other hand the level of contamination of frogs in Western Ukraine was much low then in Northern Greece where the content of Mn, Cu,

Zn, Cd, Pb in the liver of frog (in $\mu\text{g/g DW}$) was 64 ± 7 , 1041 ± 153 , 681 ± 88 , 2 ± 2 , 9 ± 4 respectively (Loumbourdis and Wray, 1998).

To conclude, the content of metals in the liver of frog may be used in the bioindication of contaminants. The observed regularity of the content of metals in liver of frog broadens also our knowledge about evolutionary peculiarity of metals accumulation in amphibian.

This work has been granted by Ukrainian-Greece scientific and technical cooperation joint Project "Assessment of wetlands' pollution by heavy metals in Greece and Ukraine, using the frog *Rana ridibunda* and the fish *Cyprinus carpio* as bioindicators". The authors are grateful to Post graduated students O.G. Bazan, M.M. Guzik for animal collection and to engineer V.B. Voytyuk for help in the determination of metals content.

Literature

1. Handy R.D., 2003. Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process? *Compar. Biochem. Physiol.* 135A, 25–38.
2. Harris, E.D., 2000. Cellular copper transport and metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 20, 291–310.
3. Loumbourdis N.S., Wray D. 1998. Heavy metal concentration in the frog *Rana ridibunda* from a small river of Macedonia, Northern Greece. *Environm. Int.* 24, 427-431.
4. Paradimitriou E.A., Loumbourdis N.S., 2003. Copper kinetics and hepatic metallothionein levels in the frog *Rana ridibunda*, after exposure to CuCl_2 . *BioMetals.* 16, 271–277.
5. Rouhani Rankouhi T., Sanderson J.T., van Holsteijn I. et al., 2005. Effects of environmental and natural estrogens on vitellogenin production in hepatocytes of the brown frog (*Rana temporaria*). *Aquat. Toxicol.* 71, 97–101.
6. Stolyar O.B., Grubinko V.V., Mihayliv R.L., Mischuk Y.V. 2004. Influence of the environmental conditions on binding of heavy metals and oxidative decomposition of biomolecules in tissues of *Anodonta cygnea* (Bivalvia). *Hydrobiol. J.* 40, 70–79.
7. Vogiatzis A., Loumbourdis N.S., 1998. Cadmium accumulation in liver and kidneys and hepatic metallothionein and glutathione levels in *Rana ridibunda*, after exposure to CdCl_2 . *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 64-68.

VPLYV OBSAHU ŤAŽKÝCH KOVOV V PÔDE NA KONTAMINÁCIU OBILNÍN

EFFECT OF HEAVY METALS CONCENTRATION ON CORN CONTAMINATION

Šalgovičová D.

Výskumný ústav potravinársky, Bratislava

Abstract

Monitoring of contaminants is provided by national inspection system and regular monitoring system. The food chain is monitored by the Agricultural sector, starting from soil and agricultural inputs, following feed, plant and animal production at farms as well as quality and safety of livestock water and irrigation water, and quality and safety of final products of plant and animal origin. The quality of food commodities is evaluated according to limit values, also by their mutual relations and via exposure assessment. The aim of the following paper is assessment of the effect of concentration of heavy metals in soil and wheat, but also its relation to pH value of the soil. According to the results of evaluation, the most significant transfer of all the elements that were observed, in case of wheat was detected for nickel and cadmium. For these chemical elements, pH dependence of the soil reaction was also found.

Úvod

Obsah toxických prvkov v potravinách patrí medzi hlavné ukazovatele zdravotnej nezávadnosti potravín. Ťažké kovy sa do potravín dostávajú rôznymi cestami. Zo všetkých prvkov, ktoré sa dostávajú do potravinového reťazca a spôsobujú kontamináciu potravín, sa za najdôležitejšie považujú kadmium, ortuť, olovo, nikel a chróm. Hlavnými antropogénnymi zdrojmi kontaminácie ťažkými kovmi je spaľovanie fosílnych palív, doprava, priemyselná výroba kovov, nadmerné používanie minerálnych hnojív a iných agrochemikálií, aplikácia čistiarenských kalov do pôdy. Medzi prírodné zdroje toxických prvkov v životnom prostredí patrí aj zvetrávanie hornín, lesné požiare a vulkanická činnosť (Együdová, 2004).

Ťažké kovy patria medzi kontaminanty, ktoré prestupujú zo životného prostredia do potravinového reťazca a vyznačujú sa rozdielnym zdrojom pôvodu, vlastnosťami a pôsobením na živé organizmy. Ich nadmerný príjem potravou môže spôsobiť rôzne problémy a ochorenia, od menej závažných, ako sú alergické reakcie, až po smrteľné, ako sú srdcovo-cievne choroby a rakovina. Z toho dôvodu je nevyhnutné neustále kontrolovať obsah týchto rizikových prvkov nielen v potravinách, ale aj v pôdach, na ktorých sa pestujú suroviny na výrobu potravín, vode i krmivách. Pôdy Slovenskej republiky sú v poslednom období kontaminované rizikovými látkami v relatívne nízkej miere, najmä ak sa berie do úvahy, že veľká časť plošne najviac zastúpenej pôdy predstavuje lesné pôdy. Kontaminácia pôdy je zapríčinená hlavne lokálnym, regionálnym, ale i globálnym vplyvom emisií z rôznych antropogénnych aktivít ako sú priemysel, energetika, kúrenie, doprava a poľnohospodárstvo. Zdravotná neškodnosť potravín si zasluhuje mimoriadnu pozornosť, pretože priamo ovplyvňuje zdravotný stav obyvateľstva. Rôzne kontaminanty sú prirodzenou súčasťou ekosystému a na minimalizovanie ich výskytu v potravinách sú potrebné osobitné opatrenia v celom potravinovom reťazci od kontroly pôdy a vstupov do pôdy cez fytosanitárnu a veterinárnu kontrolu a kontrolu krmív až po monitoring ďalších faktorov potravinového reťazca, ktoré s bezpečnosťou potravín úzko súvisia.

Rezort pôdohospodárstva zabezpečuje komplexnú kontrolu potravinového reťazca prostredníctvom dvoch rezortných organizácií - Ústredného kontrolného a skúšobného ústavu poľnohospodárskeho a Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR. Tieto organizácie disponujú dostatočným počtom kvalifikovaných inšpektorov a majú rozvinutú analytickú základňu. Organizácie zabezpečujú komplexnú kontrolu potravinového reťazca od kontroly

pôdy a vstupov do pôdy cez fytosanitárnu a veterinárnu kontrolu a kontrolu krmív až po monitoring ďalších faktorov potravinového reťazca, ktoré z bezpečnosťou potravín úzko súvisia. Vo finálnej fáze sa zabezpečuje kontrola potravín u výrobcov, v baliarňach, distribútorov a dopravcov, vo veľkoskladoch a prioritne v obchodnej sieti. Ministerstvo pôdohospodárstva Slovenskej republiky zriadilo na Výskumnom ústave potravinárskom v Bratislave Stredisko pre vyhodnocovanie výskytu cudzorodých látok, kde sú k dispozícii komplexné údaje o kontaminácii potravinového reťazca cudzorodými látkami, tieto sú v pravidelných intervaloch sumarizované a vyhodnocované. Analýzy vzoriek na obsah cudzorodých látok vykonávajú laboratória, ktoré sú akreditované na daný výkon skúšok, a sú to Štátne veterinárne a potravinové ústavy, laboratória Ústredného a kontrolného a skúšobného ústav poľnohospodárskeho, laboratória Hydromeliorácií, š.p.). Stredisko na základe dlhoročných skúseností a databázových údajov o výskyte cudzorodých látok v jednotlivých zložkách potravinového reťazca, môže zodpovedne hodnotiť vývoj kontaminácie jednotlivých zložiek potravinového reťazca a záťaž obyvateľstva SR cudzorodými látkami. Získané analytické výsledky sa spracovávajú štatisticky a potraviny sa posudzujú podľa Výnosu Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 981/1996-100 (Výnos MP and MZ SR 1996) a pôda sa posudzuje na základe Vestníka ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky (Vestník MP SR č. 531/1994-540,1994).

Materiál a metódy

Koordinovaný cielený monitoring, ktorý sa v rezorte pôdohospodárstva realizuje už od roku 1991 v reálnych podmienkach poľnohospodárskej prvovýroby zisťuje vzájomné vzťahy medzi stupňom kontaminácie poľnohospodárskej pôdy, závlahovej vody, napájacej vody, rastlinnej a živočíšnej produkcie. Vyhodnocovanie je zamerané na zhodnotenie aktuálneho stavu kontaminácie. V rámci monitoringu sú sledované základné kontaminanty: olovo, kadmium, ortuť, arzén, chróm a nikel, kongenery polychlóvaných bifenylov, dusičnany a dusitany. Rekognoscácia honov a poľnohospodárskych podnikov, čiže zistenie údajov o pestovanej plodine a druhu živočíšnej produkcie sa vykonáva pracovníkmi Regionálnych veterinárnych a potravinových správ. Odbery a analýzy pôdy sú realizované jedenkrát ročne Ústredným kontrolným a skúšobným ústavom poľnohospodárskym v čase vegetatívneho pokoja. Suroviny rastlinného pôvodu a analýzy krmív dopestovaných na vybraných honoch odoberaných v čase zberu vykonáva Štátna veterinárna a potravinová správa SR, ktorá zároveň dvakrát ročne analyzuje i suroviny živočíšneho pôvodu, žľabové vzorky krmív a napájaciu vodu (voda používaná pre zvieratá). Odber a vyšetrenie závlahových vôd aplikovaných na sledovaných honoch počas závlahovej sezóny zabezpečujú Hydromeliorácie, š.p. Bratislava.

Výsledky analýz sú zasielané priebežne do Strediska pre vyhodnocovanie výskytu cudzorodých látok pri Výskumnom ústave potravinárskom, ktoré zabezpečuje koordináciu monitoringu, spracovanie a vyhodnotenie získaných výsledkov ako aj celkovú stratégiu Koordinovaného cieleného monitoringu.

Tento príspevok porovnáva vzájomný vzťah medzi obsahom ortuti, olova, kadmia, chrómu a niklu v pôde a pôdnou reakciou (pH/KCl) a obsahom týchto prvkov v pšenici z výsledkov získaných pri realizácii Koordinovaného cieleného monitoringu.

Výsledky a diskusia

V rámci tohto príspevku sme sa zamerali na vyhodnotenie výsledkov získaných z Koordinovaného cieleného monitoringu od roku 1994. Celkovo bolo odobratých a analyzovaných 1800 vzoriek pôdy a rovnaké množstvo vzoriek pšenice, pričom v každej komodite bolo vykonaných 7223 analýz vybraných chemických prvkov (kadmia, olova, ortuti, chrómu a niklu). Vzorky pôdy boli odoberané na poľnohospodárskych podnikoch a ich jednotlivých poľnohospodárskych honoch. Pre každý chemický prvok sme vybrali výsledky

pôdy v intervale s najväčšou vypovedacou hodnotou. Pre kadmium interval 0,1-0,2 mg.kg⁻¹, pre olovo 4,0-20,0 mg.kg⁻¹, ortuť 0,05-0,10 mg.kg⁻¹, nikel 0,5-7,0 mg.kg⁻¹ a pre chróm 0,3-6,0 mg.kg⁻¹. Pre každý analytický výsledok pôdy sme mali k dispozícii hodnotu pH pôdy a obsah príslušného ťažkého kovu v pšenici.

Pri vyhodnocovaní sme sa zamerali na vyhodnotenie prestupu každého ťažkého kovu z pôdy do zrna pšenice v percentách, to znamená, aké percento obsahu z pôdy prestúpilo do pšenice a ako sa vyvíjalo percento prestupu v závislosti od hodnoty pôdnej reakcie, pričom sme zhodnotili i priemerné obsahy v pšenici v závislosti od obsahu príslušného prvku v pôde.

Kadmium

Obsah kadmia v potravinách takisto ako pri olove, závisí od jeho obsahu v pôde. Celkovo bolo vyšetrených a analyzovaných 1099 vzoriek pôdy a 1099 vzoriek pšenice. Z našich výsledkov vyplýva, že so zvyšujúcim sa obsahom kadmia v pôde sa znižuje jeho prestup do zrna pšenice, čo nám charakterizuje lineárna trendová čiara. Pri obsahu kadmia v pôde (0,1 mg.kg⁻¹) prestupovalo do zrna pšenice 30% kadmia z pôdy, čo sa postupne znižovalo až na 10% pri hodnote 0,2 mg.kg⁻¹. Pri pšenici sa potvrdil i známy vzťah, kedy zo zvyšujúcou sa kyslosťou pôdy narastá prestup kadmia z pôdy do rastlín, keď trendová čiara postupne klesá od hodnoty 35% a pH 4,2 na hodnotu 15% pre pH 7,7. Hodnota limitu na obsah kadmia vo vzorkách pšenice je 0,2 mg.kg⁻¹, pričom zo sledovaných vzoriek iba dve vzorky vykazovali vyššie nálezy.

Ortuť

Vo vybranom intervale obsahu ortuti v pôde sme analyzovali po 1060 vzoriek pôdy a pšenice. Percento prestupu ortuti je veľmi nízke. Do pšenice prechádzali iba 2,5% pri obsahu v pôde 0,05 mg.kg⁻¹, a 1,8% pri 0,01 mg.kg⁻¹. Zo zvyšujúcim sa obsahom ortuti v pôde klesá percentuálny prestup z pôdy do rastlín veľmi mierne, takže rastliny pšenice prijímajú vo zvýšenej miere ortuť len do určitej koncentrácie a potom sa príjem postupne znižuje. Pôdna reakcia má tiež vplyv na prestup ortuti z pôdy, keď zo zvyšujúcou sa kyslosťou pôdy sa znižuje množstvo prestupujúceho prvku do rastlín pšenice. Tento vzťah sa prejavil aj na závislosti pH od množstva tohto kovu v rastlinách, keď neutrálna pôdna reakcia zvyšovala nález ortuti v obilnine. Čím väčšie je percento prestupu ortuti z pôdy do rastliny, tým sa zákonite zvýši obsah ortuti v rastline.

Olovo

U potravín rastlinného pôvodu obsah olova závisí predovšetkým od jeho množstva v pôde. Relatívne vysokou koncentráciou sa vyznačujú niektoré druhy zeleniny (špenát, hlávkový šalát, mrkva), jedlé huby a semená olejní (Velíšek, 2000). Pre zhodnotenie prestupu olova sme vybrali 1800 vzoriek pôdy i pšenice, pričom percento prestupu olova z pôdy do pšenice je veľmi nízke. Pohybovalo sa v rozpätí od 2,0% pri obsahu 4,0 mg.kg⁻¹ olova v pôde do 0,5% pri koncentrácii 20,0 mg.kg⁻¹. So zvyšujúcou sa koncentráciou olova v pôde sa percento prestupu postupne znižuje, čo sa prejavilo i postupným znižovaním priemerných obsahov olova v pšenici so zvyšovaním sa jeho obsahu v pôde. Vysoké koncentrácie olova v pôde nespôsobujú zvýšenie obsahov v pšenici. Ani hodnota pH pôdy nemá výrazný vplyv na prestup olova z pôdy do pšenice. Najvyššie hodnoty sme percenta zistili pri hodnotách pôdnej reakcie 4,2, ale i 7,7.

Nikel

Celkovo sme vyhodnotili 1701 vzoriek pôdy i 1701 vzoriek pšenice, pričom sme zistili najvyššie percento prestupu v porovnaní s ostatnými sledovanými chemickými prvkami. Pri koncentrácii 0,5 mg.kg⁻¹ niklu v pôde, do pšenice prestúpilo až 40,0%. So zvyšujúcou sa koncentráciou niklu v pôde sa hodnoty v pšenici postupne znižovali až na 5,0% pri obsahu 7,0 mg.kg⁻¹ niklu v pôde. Priemerné nálezy v pšenici sa na celom intervale pohybovali približne na rovnakej hodnote a to 0,3 mg.kg⁻¹, čo podľa potravinového kódexu predstavuje iba 10,0%

povolenej hodnoty.. Pri nikle sme zistili i najvýraznejšiu závislosť obsahu niklu v pšenici od hodnoty pH. V kyslom prostredí sme zistili najvyššie percento prestupu a to 22,0%, ktoré pokleslo až na hodnotu 4,0% pri hodnote pH 7,7. I priemerné nálezy sa so zvyšujúcou sa hodnotou pH mierne zvyšovali.

Chróm

Obsah chrómu sa sledoval v 1764 vzorkách pôdy i pšenice pri rozsahu obsahu chrómu v pôdach od 0,3 do 6,0 mg.kg⁻¹. Obdobne ako u kadmia i v prípade chrómu sme zistili miernu závislosť, ktorá sa pohybovala od 10,0% pri obsahu 0,3 mg.kg⁻¹ chrómu v pôde do 7,0% pri obsahu 6,0 mg.kg⁻¹. Pri vyšších obsahoch chrómu v pôde sa postupne znižovalo percento prestupu do pšenice, pričom priemerné nálezy chrómu v pšenici v celom sledovanom intervale sa pohybovali na úrovni 0,1 mg.kg⁻¹, čo podľa potravinového kódexu predstavuje iba 2,5% povolenej hodnoty. Pri sledovaní zmeny kontaminácie chrómu v závislosti od hodnoty pH nebol preukázaný vzťah. Hodnoty prestupu do pšenice boli 7,0% pri hodnotách pH 4,2 i 7,7%. Trendová čiara má tvar priamky rovnobežnej s osou „x“.

Záver

Z celkového hodnotenia vyplýva, kontaminácia pšenice je nízka a že so zvyšujúcou sa koncentráciou kadmia, olova, ortuti, niklu a chrómu v pôdach sa mierne znižuje percento prestupu týchto prvkov v pšenici a najvýraznejší prestup zo sledovaných chemických prvkov na pšenicu má nikel a kadmium. Obsah olova, chrómu a nikelu v pôde nemal veľký vplyv na prestup týchto prvkov z pôdy do pšenice. Obdobne i pri zhodnotení závislosti obsahu týchto prvkov v pšenici od pôdnej reakcie pôdy, najvýraznejší vplyv na percento prestupu má nikel a kadmium a to pri nízkych hodnotách pH. Veľmi malú závislosť sme zistili pre olovo, chróm a ortuť.

Literatúra

1. Együdová, I. – Šturdík, E.: Ťažké kovy a pesticídy v potravinách, Nova Biotechnologica IV-1, Trnava, 2004, s. 155-173
2. Velíšek, J.: Chemie potravín 2. Osis, Tábor, 2002, 320 s.
3. Vestník MP SR: Rozhodnutie Ministerstva pôdohospodárstva SR č. 531/1994-540, ročník 26, čiastka 1, 1994, s. 3-10
4. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 981/1996-100 z 20.5.1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá a tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu Slovenskej republiky. Vestník Ministerstva zdravotníctva SR, 44, 9-13, 1996, s. 56-141.

ENERGETICKÝ A NUTRIČNÝ PRÍJEM Z KONZUMÁCIE MLIEČNYCH PRODUKTOV

ENERGY AND NUTRIENT INTAKE FROM DAIRY PRODUCTS CONSUMPTION IN FEMALES

Šramková, K.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

The aim of the study was to determine intake of energy, proteins, lipids, carbohydrates, selected minerals and vitamin from dairy products consumption. The method for information obtaining was food frequency questionnaire. Consumption of dairy products covered the recommendation for protein from $38,68 \pm 31,56$ %, for lipids from $34,96 \pm 41,92$ %, for carbohydrates from $5,20 \pm 4,25$ %. Magnesium intake was $12,18 \pm 10,43$ %, phosphorus intake $43,18 \pm 36,26$ %, calcium intake $75,05 \pm 61,10$ %, calciferol intake $4,16 \pm 5,17$ % and energy intake $16,04 \pm 14,52$ % of recommendation. Intake of energy was covered by proteins from $24,76 \pm 11,46$ %, by lipids from $56,17 \pm 27,47$ % and by carbohydrates from $47,06 \pm 177,23$ %.

Key words: dairy products, food frequency questionnaire, energy, nutrients, intake

Úvod

V západných krajinách poskytujú mliečne výrobky až 2/3 z celkového príjmu vápnika (GOULDING, 2002). Veľká časť populácie nespĺňa súčasné odporúčania pre optimálny príjem vápnika, pričom množstvo vápnika je u každého jednotlivca ovplyvnené ešte príjmom vitamínu D, inými zložkami potravy, hormónmi, niektorými liekmi, vekom, genetickými faktormi a pod. Odporúčaná dávka potravín (ODP) je pre mlieko a mliečne výrobky stanovená na 220 kg na obyvateľa a rok s pásmom racionálnej spotreby 206–240 kg na obyvateľa a rok (MP SR, 1999). Spotreba mlieka a mliečnych výrobkov bola v SR v roku 2004 v hodnote mlieka bez masla 153,3 kg, t.j. o 5,0 kg nižšia (4,2 %) oproti roku 2003. V porovnaní s ODP pre mlieko a mliečne výrobky 220 kg bola spotreba v roku 2004 o 66,7 kg nižšia. Vzhľadom na to, že mlieko a mliečne výrobky sú hlavným zdrojom vápnika a bielkovín, je jeho nízka spotreba z výživového hľadiska nepriaznivá. Spotreba mlieka a mliečnych výrobkov v SR značne zaostáva za štátmi EÚ-15. Spotreba mlieka na Slovensku zasahuje hlbšie do pásma pod zdravotníkmi stanovenú bezpečnostnú hranicu jeho spotreby (KAJABA, 1998) 190 kg na obyvateľ a rok, čo vytvára kritickú situáciu, hlavne z aspektu optimálneho príjmu vápnika. Nepriaznivú situáciu v príjme vápnika predstavujú údaje o priemernom percentuálnom plnení OVD SR: u dospelých osôb (s výraznejším deficitom u žien) 85 % a vo vyšších vekových kategóriách (65–74 rokov) 65 % (KAJABA et al., 2006).

Cieľom štúdie bolo zistiť a zhodnotiť plnenie odporúčaných výživových dávok pre vybrané živiny a energiu z konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov u dospelých osôb.

Materiál a metodika

V súbore 110 osôb dospelého veku (93 žien, t.j. 84,55 % a 17 mužov, t.j. 15,45 %) sme hodnotili nutričný a energetický príjem z konzumácie mliečnych produktov. Použili sme metódu potravinového frekvenčného dotazníka – FFQ (food frequency questionnaire). Probandi boli vo veku 24-68 rokov, veková charakteristika súboru je v tab. 1.

Údaje o spotrebe mlieka a mliečnych produktov sme spracovali v nutričnom programe Alimenta verzia 4.3e (vypracovaný vo Výskumnom ústave potravinárskom v Bratislave), ktorý

používa Potravinovú banku dát zloženia potravín. Príjem nutričov a energie sme porovnávali s platnými Odporúčanými výživovými dávkami SR – 8. verziou OVD SR z roku 1997, vypracovanou autormi Kajaba et al. (Vestník MZ SR, 1997). Z celodenného záznamu stravy sme hodnotili energetický príjem, príjem základných živín – bielkovín, tukov, sacharidov, vybraných minerálnych látok (vápnika, horčíka, fosforu) a z vitamínov kalciferolu. Hodnotili sme aj percentuálnu úhradu základných živín (bielkovín, tukov, sacharidov) z celkového denného príjmu energie. Zistený príjem energie a nutričov sme vyjadrili vo forme percentuálnej úhrady OVD SR (základných a doplnkových dávok) pre jednotlivé kategórie dospelých osôb (podľa veku a fyzickej záťaže).

Tabuľka 1 Veková charakteristika súboru

	Vek (roky)
priemer ± SD	46,09 ± 9,54
minimum	34,00
maximum	68,00
medián	47,00
modus	49,00
var. koef. (%)	20,71

var. koef. (%) - variačný koeficient (%)

Výsledky a diskusia

Z dennej konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov sme v súbore zistili priemerný príjem energie $1625,09 \pm 1477,63$ kJ ($386,84 \pm 355,61$ kcal) a príjem jednotlivých nutričov, ktorý je uvedený v tab. 2. Z hodnotenia priemerného príjmu nutričov a energie u žien sme pri skúmaní základných živín zistili najvýraznejšie plnenie odporúčaných výživových dávok v prípade bielkovín (38,68 % OVD) a lipidov (34,96 % OVD) (tab. 3). Z mikronutričov bola najviac pokrytá potreba vápnika (na 75,05 % OVD) a fosforu (na 43,18 % OVD). Celkový energetický príjem predstavoval menej ako pätinu dennej odporúčanej výživovej dávky (16,04 % OVD). Hodnotenie príjmu energie a vybraných nutričov poukazuje na mlieko a jeho produkty ako významné zdroje príjmu bielkovín, vápnika a fosforu v našej populácii.

Zo základných živín z konzumu mliečnych produktov prekročilo dennú potrebu bielkovín (t.j. potrebu plnilo nad 100 % OVD) 5 osôb (8,06 %) a dennú potrebu lipidov prekročili 4 osoby (6,45 %).

Tabuľka 2 Príjem energie a vybraných nutričov

Parameter	Bielkoviny (g)	Lipidy (g)	Sacharidy (g)	Energia (kJ)
priemer ± SD	21,42 ± 17,30	24,56 ± 30,01	19,83 ± 17,14	1625,09 ±
var. koef. (%)	80,76	122,19	86,47	1477,63 90,93
Parameter	Vápnik (mg)	Horčík (mg)	Fosfor (mg)	Kalciferol (µg)
priemer ± SD	625,89 ±	38,16 ± 31,82	504,45 ± 411,26	0,14 ± 0,31
var. koef. (%)	510,80 81,61	83,38	81,53	212,28

Tabuľka 3 Krytie potreby energie a nutrientov (% odporúčaných výživových dávok)

Parameter	Bielkoviny (g)	Lipidy (g)	Sacharidy (g)	Energia (kJ)
priemer ± SD	38,68 ± 31,56	34,96 ± 41,92	5,20 ± 4,25	16,04 ± 14,52
var. koef. (%)	81,60	119,90	81,86	90,51
Parameter	Vápnik (mg)	Horčík (mg)	Fosfor (mg)	Kalciferol (µg)
priemer ± SD	75,05 ± 61,10	12,18 ± 10,43	43,18 ± 36,26	4,16 ± 5,17
var. koef. (%)	81,41	85,62	83,96	124,26

Hodnotenie príjmu energie zo základných živín (tab. 4) poukazuje na približne polovičné plnenie odporúčaní pre príjem energie (56,17 % z celkového denného príjmu energie) a sacharidov (47,06 % energetického príjmu) a približne štvrtinové plnenie potreby bielkovín (24,76 % energetického príjmu).

Tabuľka 4 Podiel základných živín na energetickom príjme (%)

Parameter	Energetická hodnota z bielkovín	Energetická hodnota zo sacharidov	Energetická hodnota z lipidov
priemer ± SD	24,76 ± 11,46	47,06 ± 177,23	56,17 ± 27,47
var. koef. (%)	46,30	376,63	48,90

Podľa USDA (*US Department of Agriculture*) potravinovej pyramídy sa odporúča konzum z potravinovej skupiny mlieko a mliečne výrobky v množstve 2–3 jednotkových porcií (JP) denne (US Department of Agriculture, 1997). Zo súhrnných výsledkov 6-ročného sledovania (1999–2004) zdravotného stavu, životného štýlu a výživových zvyklostí rôznych populačných skupín z celého územia SR bola zistená zlá situácia v konzumácii mlieka a mliečnych výrobkov: denne konzumuje mlieko a mliečne výrobky len viac ako polovica žien vo všetkých vekových skupinách a priemernú konzumáciu mlieka v množstve 1 l týždenne nemožno považovať za uspokojivú, aj keď vo vyššom veku sa o niečo zvyšovala (na 1,3 l týždenne). Zo súboru žien vôbec nekonzumovalo mlieko 11,8 %. Najčastejšiu konzumáciu mlieka udávali najmladšie a najstaršie vekové skupiny žien. Podľa obsahu tuku ženy preferovali polotučné mlieko (45,7 % žien), nízkoťučné mlieko uprednostňovalo 35,5 % žien a plnotučné 7,7 % žien (JURKOVIČOVÁ, 2005).

JOHNELL et al. (1995) uvádzajú nízku konzumáciu mlieka ako signifikantný faktor zlomeniny krčka stehennej kosti. CRUZ et al. (2004) dokázali, že denná konzumácia mliečnych výrobkov bola u žien s osteoporózou a osteopéniou štatisticky významne nižšia. Znížený príjem vápnika bol dokázaný ako rizikový faktor osteoporózy.

SOROKO et al. (1994) sledovali závislosť medzi celoživotnou konzumáciou mlieka a axiálnou a apendikulárnou BMD u 581 postmenopauzálnych žien bielej rasy. Bola zistená pozitívna štatisticky významná asociácia medzi konzumáciou mlieka v dospelosti a BMD chrbtice, ďalej oblasti *total hip*, *trochanter*, *intertrochanter* a *midradius*, ale nie ultradistálneho zápästia alebo krčka femuru. Konzumácia mlieka v adolescencii preukázala podobnú, štatisticky významnú asociáciu (chrbtica a *midradius*). Pravidelná konzumácia mlieka v mladosti a dospelosti bola spojená s vyššou BMD na kortikálnej a trabekulárnej strane u ľudí vo vyššom veku.

Záver

Významné plnenie odporúčaných výživových dávok pre príjem bielkovín, vápnika a fosforu poukazuje na význam konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov pri zabezpečovaní potrieb uvedených živín. Pravidelnou konzumáciou mliečnych produktov možno zabezpečiť prevenciu osteoporózy, ako aj ďalších civilizačných ochorení.

Literatúra

1. CRUZ, M.M.M., SEVILLEJA, J.E.A.D., MACALALAG, M.E.L. et al. 2004. A preliminary study of bone mineral density of right calcaneus in Filipino women using dual energy X-ray absorptiometry. In *International Congress Series : Research Papers in Fertility and Reproductive Medicine*. Proceedings of the 18th World Congress on Fertility and Sterility (IFFS 2004), vol. 1271, September 2004, p. 403-406.
2. GOULDING, A. 2002. Major minerals: calcium and magnesium. In MANN, J., TRUSWELL, A.S.: *Essentials of Human Nutrition*. Oxford : Oxford University Press, 2002.
3. JOHNNELL, O., GULLBERG, B., KANIS, J.A. et al. 1995. Risk factors for hip fracture in European women: the MEDOS Study. Mediterranean Osteoporosis Study. In *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 10, 1995, no. 11, p. 1802-1815.
4. JURKOVIČOVÁ, J. 2005. *Vieme zdravo žiť?* Bratislava : Univerzita Komenského v Bratislave, 2005. 166 s. ISBN 80-223-2132-X
5. KAJABA, I. 1998. Význam mlieka v racionálnej výžive človeka. In *Mliekarstvo*, roč. 29, 1998, č. 3, s. 6-8.
6. KAJABA, I., ŠIMONČIČ, R., NAGYOVÁ, A. 2006. Úloha minerálie v prevencii a liečbe osteoporózy. In *Slovenský lekár*, roč. 16(30), 2006, č. 3-4, s. 70-73.
7. MP SR. 1999. Základný model odporúčaných dávok spotreby potravín s platnosťou od 1.1.2000. In *Vestník MP SR*, roč. 31, 1999, no. 22, p. 1-3.
8. SOROKO, S., HOLBROOK, T.L., EDELSTEIN, S. et al. 1994. Lifetime milk consumption and bone mineral density in older women. In *American Journal of Public Health*, vol. 84, 1994, no. 8, p. 1319-1322.
9. US Department of Agriculture, 1997. *Pyramid Servings Data. Results from USDAs 1994-1996 Continuing Survey of Food Intakes by Individuals*. 1997. US Department of Agriculture, Agriculture Research Service, Food Survey Research Group, Bethesda, MD.
10. Vestník MZ SR, roč. 45, čiastka 7-8, zo dňa 28. apríla 1997.

Práca bola riešená s podporou projektu VEGA 1/2321/05.

PLNENIE ODPORÚČANÝCH VÝŽIVOVÝCH DÁVOK V HUMÁNNEJ VÝŽIVE

COVERING OF THE RECOMMENDED DAILY ALLOWANCES IN HUMAN DIET

Šramková, K., Kolesárová, A.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

The aim of the study was to determine covering of the Recommended Daily Allowances for human dietary needs by 152 females dietary recalls. 24-hour dietary recall was evaluated. In the group of females protein covering was $153,12 \pm 73,53$ %, lipids covering $124,38 \pm 60,80$ %, carbohydrates covering $85,15 \pm 36,32$ %, energy covering $98,37 \pm 40,43$ % of the recommendation. The daily intake of cholesterol was $240,94 \pm 181,75$ mg, intake of saturated fatty acids $22,27 \pm 13,45$ g, intake of monounsaturated fatty acids $21,94 \pm 11,75$ g and intake of polyunsaturated fatty acids $14,04 \pm 8,78$ g. Protein intake up to 100 % of recommendation was evaluated in 21 % of females; 79 % of females had more than 100 % protein covering. The Recommended Daily Allowances exceeded for lipids 60 %, for carbohydrates only 29 % and for energy 41 % of females. The intake of cholesterol more than 300 mg/day had 32 % of females. Particular excessive intake of proteins, lipids and cholesterol was estimated.

Key words: females, Recommended Daily Allowances, 24-hour dietary recall, energy, nutrients, human nutrition

Úvod

Faktory životného štýlu, vrátane nutričných faktorov, sa významne uplatňujú v prevencii neinfekčných chorôb. Výživa je spolu s ďalšími faktormi životného štýlu zodpovedná za stav zdravia z podielu 40-50 %, zatiaľ čo genetické faktory predstavujú 20 %-ný podiel, rovnako ako aj životné a pracovné prostredie (20 %) a zdravotníctvo 10-20 %-ný podiel. Nezdravé stravovanie a fyzická inaktivita patria k hlavným príčinám väčšiny neprenosných ochorení a podstatnou mierou prispievajú ku globálnemu bremenu a k mortalite na tieto choroby. K najzávažnejším neprenosným chorobám, ktoré vznikajú v súvislosti s uvedenými rizikovými faktormi, sú kardiovaskulárne choroby, diabetes mellitus 2. typu, obezita, nádorové choroby. Na význam ovplyvniteľných rizikových faktorov poukazuje aj Globálna stratégia pre výživu, fyzickú aktivitu a zdravie, ktorá bola schválená WHO rezolúciou z 57. Svetového zdravotníckeho zhromaždenia v máji 2004.

Štúdiá bola zameraná na výživovú situáciu vybranej skupiny slovenských žien a analýzu aktuálneho spôsobu výživy s dôrazom na nutričné rizikové faktory chronických neinfekčných chorôb. Cieľom bolo určiť plnenie odporúčaných výživových dávok pre výživové potreby ľudí.

Materiál a metodika

V skupine náhodne vybraných žien dospelého veku (25-58 rokov) sme hodnotili nutričný a energetický príjem z konzumácie potravín použitím 24-hodinových retrospektívnych stravovacích anamnéz (152 ks). Veková charakteristika súboru žien je v tab. 1. Celodenný záznam stravy sme počítačovo spracovali v nutričnom programe Alimenta verzia 4.3e (vypracovaný vo Výskumnom ústave potravinárskom v Bratislave), ktorý používa Potravinovú banku dát zloženia potravín. Príjem nutrientov a energie sme porovnávali s platnými Odporúčanými výživovými dávkami SR – 8. verziou OVD SR z roku 1997, vypracovanou autormi Kajaba et al. (Vestník MZ SR, 1997). Z celodenného záznamu stravy sme hodnotili energetický príjem, príjem základných živín – bielkovín (rastlinných, živočíšnych), tukov,

sacharidov, ako aj saturovaných, monoénových, polyénových mastných kyselín a cholesterolu. Zistený príjem sme vyjadrili percentuálne vo forme úhrady OVD SR (základných, doplnkových dávok i všeobecných odporúčaní) pre jednotlivé kategórie dospelých žien (podľa veku a fyzickej záťaže):

- pracujúce ženy – 19-34 rokov - ľahká práca,
- pracujúce ženy – 19-34 rokov - stredná práca,
- pracujúce ženy – 19-34 rokov - fyzicky namáhavá práca,
- pracujúce ženy – 35-54 rokov - ľahká práca,
- pracujúce ženy – 35-54 rokov - stredná práca,
- pracujúce ženy – 35-54 rokov - fyzicky namáhavá práca,
- nepracujúce ženy – 55-74 rokov.

Tabuľka 1 Veková charakteristika súboru žien

	Vek (roky)
priemer ± SD	44,84 ± 10,19
minimum	25,00
maximum	58,00
medián	46,00
modus	51,00
var. koef. (%)	22,72

var. koef. (%) - variačný koeficient (%)

Výsledky a diskusia

Priemerný príjem energie a vybraných nutričov je uvedený v tab. 2. Príjem bielkovín z rastlinných a živočíšnych zdrojov je vyrovnaný. Z hodnotenia priemerného príjmu nutričov a energie u žien sme zistili prekračovanie odporúčaných výživových dávok u bielkovín (o 53,12 %) a lipidov (o 24,38 %) (tab. 3). Príjem sacharidov bol v priemere o 14,85 % nižší ako odporúčania, celkový energetický príjem takmer pokrýval odporúčanú výživovú dávku (98,37 %). Hodnotenie príjmu energie a hlavných nutričov poukazuje na prekračovanie odporúčanej dávky bielkovín u 79 % žien, lipidov u 60 % žien, energie u 41 % žien a sacharidov u 29 % žien (tab. 4). Pri hodnotení spotreby sacharidov sme zistili plnenie na menej ako 50 % OVD až u 14 % žien. Približne tretina súboru je charakterizovaná excesívnym príjmom cholesterolu (32 % žien s príjmom viac ako 300 mg cholesterolu denne).

Tabuľka 2 Príjem energie a vybraných nutričov

Parameter	Bielkoviny (g)	Bielkoviny - živočíšne (g)	Bielkoviny - rastlinné (g)	Sacharidy (g)
priemer ± SD var. koef. (%)	81,30 ± 38,04 46,79	36,13 ± 19,63 54,32	37,60 ± 31,49 53,73	310,58 ± 124,04 39,94
Parameter	Lipidy (g)	Saturované MK (g)	Monoénové MK (g)	Polyénové MK (g)
priemer ± SD var. koef. (%)	80,60 ± 36,78 45,63	22,27 ± 13,45 60,37	21,94 ± 11,75 53,56	14,04 ± 8,78 62,55
Parameter	Cholesterol (mg)		Energia (kJ)	
priemer ± SD var. koef. (%)	240,94 ± 181,75 74,75		9293,22 ± 3558,91 38,30	

Tabuľka 3 Plnenie potreby energie a makronutrientov (% odporúčaných výživových dávok)

Parameter	Bielkoviny	Sacharidy	Lipidy	Energia
priemer	153,12	85,15	124,38	98,37
± SD	± 73,5	± 36,32	± 60,8	± 40,43
var. koef. (%)	48,02	42,66	48,88	41,09

Tabuľka 4 Podiel žien s krytím potreby energie a makronutrientov (% odporúčaných výživových dávok)

% OVD	Bielkoviny		Sacharidy		Lipidy		Energia		Cholesterol*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 50	2	1	21	14	11	7	5	3	35	23
51 - 100	30	20	87	57	50	33	85	56	68	45
> 100	120	79	44	29	91	60	62	41	49	32

* odporúčaná výživová dávka je stanovená vo všeobecných odporúčaní na 300 mg/deň (Vestník MZ SR, 1997)

Hodnotenie príjmu energie zo základných živín (tab. 5) poukazuje na mierne prekračovanie odporúčaní pre príjem tukov (maximálne 30 % z celkového denného príjmu energie), príjem sacharidov je na dolnej hranici odporúčaní (t.j. 55-60 %-ný podiel sacharidov na dennom energetickom príjme).

Tabuľka 5 Podiel základných živín na energetickom príjme (%)

Parameter	Energetická hodnota z bielkovín	Energetická hodnota zo sacharidov	Energetická hodnota z lipidov
priemer ± SD	14,58 ± 3,38	53,0 ± 8,97	32,41 ± 8,98
var. koef. (%)	23,15	16,93	27,72

V rámci kvalitatívneho hodnotenia príjmu tukov sme v spotrebe jednotlivých mastných kyselín zistili nerovnováhu. V spotrebe dominujú nasýtené mastné kyseliny, ktoré predstavujú takmer polovicu z celkového príjmu energie prostredníctvom tukov (48,77 % energetického príjmu z tukov). Príjem monoénových a polyénových mastných kyselín je absolútne nedostatočný (tab. 6). Odporúčané výživové dávky SR určujú vo všeobecných odporúčaní podiel tukov na celkovom objeme energie na maximálne 30 % s nasledujúcou štruktúrou mastných kyselín: nasýtené mastné kyseliny 10 %, monoénové mastné kyseliny 10-12 %, polyénové mastné kyseliny 8-10 % (Vestník MZ SR, 1997). Uvedené odporúčania pre príjem nasýtených mastných kyselín sú v našej štúdii prekračované až o 38,77 %, naopak príjem monoénových mastných kyselín je 1,22 % pod dolnou a 3,22 % pod hornou odporúčanou hranicou, zatiaľ čo príjem polyénových mastných kyselín je nižší až o 2,65 % v porovnaní s dolnou a o 4,65 % v komparácii s hornou odporúčanou hranicou pre ich príjem.

Tabuľka 6 Podiel energetickej hodnoty z príjmu mastných kyselín (%)

Parameter	Energetická hodnota z SFA	Energetická hodnota z MUFA	Energetická hodnota z PUFA
priemer ± SD	48,77 ± 4,18	8,78 ± 4,05	5,35 ± 2,24
var. koef. (%)	47,67	46,07	41,91

SFA - nasýtené mastné kyseliny, MUFA - monoénové mastné kyseliny, PUFA - polyénové mastné kyseliny

Babinská et al. (2001) zistili hodnotením priemerného príjmu hlavných nutrientov a vybraných makronutrientov príjem bielkovín u žien na úrovni 123,1 % odporúčanej výživovej dávky,

príčom v našej štúdií sme zistili príjem zodpovedajúci až 153,12 % z odporúčaní. Príjem tukov bol podľa Babinskej et al. (2001) tiež nadmerný (112,8 %), podobne ako v našej štúdií (124,38 %); príjem sacharidov ďalej nepokrýval odporúčania (70,13 %), a to výraznejšie ako v našom súbore žien (85,15 %). Príjem cholesterolu zistil uvedený autorský kolektív na úrovni 120 % odporúčanej hodnoty 300 mg denne, pričom naše zistenia poukazujú na plnenie odporúčanej dávky pre cholesterol na 80,31 %.

Hlavnými zdrojmi cholesterolu sú vaječný žltok, produkty s obsahom mliečného tuku, živočíšne tuky a mäso. Každých 200 mg cholesterolu prijatého stravou denne zvýši koncentráciu sérového LDL-cholesterolu (LDL, low density lipoproteins, lipoproteíny s nízkou hustotou) priemerne asi o 6 mg/dl (0,155 mmol/l). Nasýtené mastné kyseliny sa vyskytujú v živočíšnych tukoch aj v rastlinných olejoch. K bohatým zdrojom saturovaných mastných kyselín patrí maslo, živočíšny tuk a tropické oleje (palmový, kokosový olej a olej z palmových jadier). V USA a v Európe tvoria nasýtené mastné kyseliny 12-15 % z celkového energetického príjmu. V priemere na každé 1 % energie prijatej vo forme nasýtených mastných kyselín, ktoré zvyšujú cholesterol, sa v porovnaní s kyselinou olejovou hladina LDL-cholesterolu zvýši asi o 2 mg/dl (0,025 mmol/l). Jedna nasýtená mastná kyselina - kyselina stearová (C18:0) nezvyšuje koncentráciu LDL-cholesterolu. Hlavným zdrojom tejto kyseliny je hovädzí loj a kakaové maslo.

V kategórii monoénových mastných kyselín je hlavnou mastnou kyselinou kyselina olejová (C18:cis1, n-9). Nachádza sa v rastlinných i živočíšnych tukoch. Jej príjem väčšinou predstavuje 10-20 % z celkovej energie. Vysoký príjem je zaznamenaný v stredozemskom regióne, v ktorom sa tradične konzumuje veľké množstvo olivového oleja. Ďalšími zdrojmi tejto kyseliny sú repkový olej (canola olej), slnečnicový a formy saflorového (svetlicového) oleja. Vysoký obsah kyseliny olejovej majú aj arašidy a pekanové orechy. Podobne aj živočíšne tuky majú relatívne vysoké percentuálne zastúpenie kyseliny olejovej spomedzi ostatných prítomných mastných kyselín, avšak súčasne sa vyznačujú aj vysokým obsahom nasýtených mastných kyselín. Kyselina olejová sa vo vzťahu ku krvným lipoproteínom považuje za základnú alebo neutrálnu kyselinu, ktorá ani nezvyšuje ani neznižuje koncentrácie VLDL (very low density lipoproteins, lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou), LDL a nemení ani koncentráciu HDL-cholesterolu (high density lipoproteins, lipoproteíny s vysokou hustotou).

V rámci polynenasýtených mastných kyselín existujú dve kategórie: n-6 a n-3. Hlavným zástupcom n-6 mastných kyselín je kyselina linolová (C_{18:2,n-6}). Je prevažujúcou kyselinou v rastlinných olejoch, napr. v kukuričnom, sójovom oleji a v druhoch slnečnicového a saflorového oleja s vysokým obsahom kyseliny linolovej. Príjem tejto kyseliny sa pohybuje v rozpätí 4-10 % z celkovej energie, v závislosti od zastúpenia rastlinného oleja v strave. Medzi n-3 mastné kyseliny patrí kyselina linolénová (C_{18:3,n-3}), dokosaheptaénová (DHA) (C_{22:6,n-3}) a eikosapentaénová (EPA) (C_{20:5,n-3}). Kyselina linolénová sa vyskytuje najmä v oleji z ľanových semien, v menšom množstve aj v ostatných rastlinných olejoch. Mastné kyseliny typu n-3 v rybích olejoch (EPA a DHA) majú vysokú schopnosť znižovať sérové hladiny VLDL. Avšak strava s vysokým obsahom sacharidov koncentráciu VLDL-cholesterolu zvyčajne zvyšuje a koncentrácia HDL-cholesterolu klesá (Grundy, 2003).

Záver

Vysoký príjem bielkovín a tukov v strave žien sprevádza nedostatočná spotreba sacharidov a nadmerne vysoký príjem cholesterolu. Aktuálny spôsob výživy vybranej časti populácie slovenských žien je na základe toho úplne nedostačujúci a sú potrebné viaceré zmeny na jeho úpravu (preferencia nízkotučných potravín s nízkym obsahom cholesterolu, nízkym obsahom saturovaných mastných kyselín a dostatočným obsahom polyénových a najmä monoénových mastných kyselín, zvýšenie spotreby sacharidov s dôrazom na vlákninu). Modifikácia spôsobu výživy je nevyhnutne žiaduca s ohľadom na prevenciu chronických neinfekčných chorôb.

Literatúra

1. BABINSKÁ K., BÉDEROVÁ, A., KLVANOVÁ, J. et al. 2001. Hlavné problémy v spôsobe výživy dospelého obyvateľstva SR. In: Výživa a potraviny pre tretie tisícročie : Zborník z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, 4.-5. apríla 2001, Nitra. Nitra : SPU, 2001. s. 31-33. ISBN 80-7137-847-X
2. GRUNDY, S.M. 2003. Factors Determining Blood Cholesterol Levels. In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Volume 2. Second Edition. Oxford : Elsevier Science, 2003. p. 1237-1243. ISBN 0-12-227055-X
3. Vestník MZ SR, roč. 45, čiastka 7-8, zo dňa 28. apríla 1997.

Práca bola riešená s podporou projektu VEGA 1/2321/05.

VÝUČBA ŠTUDENTOV UVL O NIEKTORÝCH RIZIKOVÝCH FAKTOROCH DOSTUPNÝCH FYTOTERAPEUTÍK

EDUCATION OF UVM STUDENTS ON THE CERTAIN RISK FACTORS OF AVAILABLE PHYTOTHERAPEUTICS

Šutiak, V., Neuschl, J., Čellárová, E., Čonková, E., Vaczi, P., Puchá, Z., Skalka, J. jr.

Univerzita Veterinárskeho lekárstva, Slovenská republika

Abstract

The University of Veterinary Medicine (UVM) in Košice has already three educational divisions, General Veterinary Medicine (GVM), Pharmacy (PH) & Food Hygiene (FH). Purpose of our education system is to prepare students to the real life in the conditions of living practice. In the GVM division students are trained mainly in the diagnosis, prophylaxis, metaphylaxis and therapy of diseases & pathological states. Orientation the PH education system is oriented predominantly on all features of drugs from pharmaceutical point of view (e.g. synthetical preparation of drugs, their isolation from mineral & other natural resources (herbal, animal & even human origin). Furthermore PH is oriented also on drug characterization, evaluation, estimation, distribution including their surveillance. However our intentions do not omit also our interest in the drug supervision on their activities both in substantial & preparation state, including positive but also eventual risk & negative activities. In the FH division students are trained in the supervision of veterinary hygiene, sanitary inspection & also for complex reliability control of good technology practices in the food industry. The educational pharmacological curriculum includes courses where students are instructed very detailed on pharmaceuticals in lectures & practical courses for both conventional & bio-eco systems of animal rearing. Students are provided with basic information about many herbal drugs e.g. on *Viscum album* (VA), *Chamomilla recutita* (CHR) but also many others. White mistletoe contains various highly active agents as are: choline, acetylcholine, GABA, viscotoxin, histamine and many others. They exhibit efficacy in the gastrointestinal tract (GIT), brain, heart & blood. The 2nd example CHR contains also many agents e.g. chamazulene, terpenes, 1 α -(-)-bisabolol, bisabolol oxide A, spiroether, flavonoids, coumarins, phenyl carboxylic acids & others which could be extracted from plants as infusions, macerates, tinctures & others & employed as antiphlogistic, antiinflammation, spasmolytic, carminative & cosmetic drug with auxiliary & complementary, symptomatic & palliative therapy, especially for alternative therapy of noninfective inflammation. As with other herbal preparations also these drugs are utilized predominantly in medium-sized animals (calves, swine, sheep, goats and dogs), furthermore in various small animals (rabbits, cats, and poultry) & there are not objection for their use also in large animals in reasonable cases.

Keywords: students, phytotherapeutics, diseases, pathological states, animals

Úvod

Viaceré fytoterapeutiká našli pomerne široké použitie a to jednak pre symptomatickú, patogenetickú, paliatívnu, etiologickú, substitučnú, auxiliárnu, komplementárnu a alternatívnu liečbu najmä zápalov, ale aj iných patologických stavov pacientov (Šutiak et al., 2001, 2002a, b). Cieľom tejto práce je jednak poukázať na niektoré možnosti využitia fytoliečiv v 3 študijných odboroch UVL (Šutiak and Šutiaková, 1999 Šutiak et al. 1997, Šutiak et al. 2001) a to vo Farmácii (PH), vo Všeobecnom veterinárstve (VVL) a v Hygiene potravín (HP). Okrem toho poukázať chceme aj na niektoré rizika, ktoré hrozia pri používaní niektorých fytoterapeutík.

Materiál a Metodiky

V súčasnosti sa využíva v praxi u nás i v zahraničí viacero fytoliečiv (Šalamon, 2002, Šalamon and Danielovič, 1998, Šalamon and Hončariv, 1994), no na tomto mieste chceme poukázať najmä na dve z nich a to na imelo biele (*Viscum album*, VA), a na rumanček pravý (*Chamomilla recutita*, CHR) o ktoré je na UVL dobrý záujem a to tak medzi domácimi, ako aj zahraničnými študentmi (Šutiak et al. 1997, Šutiak, 1997, Šutiak et al. 2002a, b). V našej práci sme urobili matematicko-štatistickú analýzu našich študijných odborov za obdobie ostatných 10 rokov základnými postupmi (Šutiak et al. 1997, Šutiak et al. 2002a) pričom sme využili PC Intel Celeron s programami Microsoft Word 2003 and Microsoft Excel 2003 a výsledky sme zaradili do tabuliek.

Výsledky

Výsledky nášho štúdia sme zoskupili do tabuliek (pozri Tab. 1-4). Z nich vyplýva, že sme počas ostatnej dekády vychovali (výsledky uvádzané ako aritmetický priemer a populačná štandardná odchýlka) okolo $72,70 \pm 8,66$ študentov v odbore VVL s minimom 58 študentov v r. 2001 a s maximom 87 študentov v r. 2005 (Tabuľka 1). Naproti tomu v odbore HP sme vychovali len $28,40 \pm 6,83$ študentov, s minimom 15 v r 1997 a maximom 39 študentov v r. 2005. Distribúciu študentov podľa pohlavia uvádza Tabuľka 2. Z nej vyplýva, že počet absolventov mužského pohlavia varíroval medzi minimálnym počtom 20 v r. 2004 a maximom 43 v r. 2002, s priemerom $33,20 \pm 7,96$ ročne. Pri dievčatách sme zistili priemerne údaje $39,50 \pm 8,82$ s minimom 29 v r. 1997 a maximom 59 dievčat v r. 2005.

V tabuľke 3 uvádzame údaje o distribúcii študentov v odbore HP, pričom z nej vyplýva, že počet chlapcov v tomto odbore bolo v priemere iba $3,60 \pm 2,54$ ročne s minimom 0 v r. 1998 a maximom 7 v rr. 2001 a 2005. Naproti tomu dievčat bolo $24,80 \pm 5,72$ s minimom 11 v r. 1997 a s maximom 32 dievčat v r. 2005. Analyzovali sme však aj počty zahraničných študentov zúčastňujúcich sa vzdelávania o rôznych fytoterapeutikách no najmä o VA a CHR. Výsledky našich analýz ukázali (tab. 4), že celkovo u nás študovalo v priemere $20,7 \pm 4,88$ zahraničných študentov s minimom 12 zahraničných študentov v r.1997 a s maximom 26 študentov v r. 2002. Väčšinu tvorili chlapci ($12,0 \pm 3,71$) s minimom 7 zahraničných študentov v r. 1999 a maximom 19 študentov v r. 1998. Počas uplynulej dekády študovali u nás aj dievčatá s priemerom $8,7 \pm 2,57$ zahraničných dievčat s minimom 4 v r. 1997 a s maximom 12 v rr. 2001 a 2002. Pritom ide o študentov, ktorí študovali odbor VVL a to z nasledovných krajín: Kanada, Francúzsko, Nemecko, Veľká Británia, Grécko, Malta, Portugalsko, Turecko a USA.

Tabuľka 1. Celkové množstvo domácich študentov študujúcich v odboroch VVL a HP v r. 1996 až 2005.

Por. čís. ¹	Rok ukončenia kurzu	Celkový počet študentov v kurze VVL ²	Celkový počet študentov v kurze HP ³
1	1996	77	20
2	1997	64	15
3	1998	74	28
4	1999	70	30
5	2000	74	31
6	2001	58	39
7	2002	86	28
8	2003	66	34
9	2004	71	24
10	2005	87	35
Σ^4		727	284
\bar{X}^5		72,70	28,40
σ_n^6		8,66	6,83
P ⁷	\leq^8	0 ⁹	0,0001

¹počty, ²VVL, ³HP, ⁴suma hodnôt, ⁵priemerné hodnoty, ⁶štandardná odchýlka, ⁷štatistické hodnotenie, ⁸hodnota jemenšia ako, alebo sa rovná, ⁹referenčná hodnota.

Tabuľka 2. Distribúcia domácich študentov VVL participujúcich na kurzoch farmakologického vzdelávania počas poslednej dekády rokov.

Por. čís. ¹	Rok ukončenia kurzu	Celkový počet domácich študentov vo VVL kurze ²	Celkový počet domácich chlapcov vo VVL kurze	Celkový počet domácich dievčat vo VVL kurze
1	1996	77	43	34
2	1997	64	35	29
3	1998	74	34	40
4	1999	70	38	32
5	2000	74	41	33
6	2001	58	22	36
7	2002	86	43	43
8	2003	66	28	38
9	2004	71	20	51
10	2005	87	28	59
Σ^4		727	332	395
$\bar{\emptyset}^5$		72,70	33,20	39,50
σ_n^6		8,66	7,96	8,82
P ⁷	\geq^{10}	- ¹¹	0 ⁹	0,05

¹počty, ²VVL, ⁴suma hodnôt, ⁵priemerné hodnoty, ⁶štandardná odchýlka, ⁷štatistické hodnotenie, ⁹referenčná hodnota, ¹⁰hodnota je väčšia ako, alebo sa rovná, ¹¹nehodnotený údaj.

Tabuľka 3. Distribúcia domácich študentov farmakológie v odbore HP podľa pohlavia počas poslednej dekády rokov.

Por. čís. ¹	Rok ukončenia a kurzu	Počet domácich študentov v kurze HP ³	Celkový počet domácich chlapcov v kurze HP	Celkový počet domácich dievčat v kurze HP
1	1996	20	1	19
2	1997	15	4	11
3	1998	28	0	28
4	1999	30	6	24
5	2000	31	4	27
6	2001	39	7	32
7	2002	28	1	27
8	2003	34	5	29
9	2004	24	1	23
10	2005	35	7	28
Σ^4		284	36	248
$\bar{\emptyset}^5$		28,40	3,60	24,80
σ_n^6		6,83	2,54	5,72
P ⁷	\leq^8	- ¹¹	0 ⁹	0,0001

¹počty, ³HP, ⁴suma hodnôt, ⁵priemerné hodnoty, ⁶štandardná odchýlka, ⁷štatistické hodnotenie, ⁸hodnota je menšia ako, alebo sa rovná, ⁹referenčná hodnota, ¹¹nehodnotený údaj.

Tabuľka 4. Distribúcia zahraničných študentov farmakológie v odbore VVL podľa pohlavia počas poslednej dekády rokov.

Por. čís. ¹	Rok ukončenia kurzu	Celkový počet zahraničných študentov v kurze VVL	Celkový počet zahraničných chlapcov v kurze VVL	Celkový počet zahraničných dievčat v kurze VVL
1	1996	18	11	7
2	1997	12	8	4
3	1998	29	19	10
4	1999	15	7	8
5	2000	23	17	6
6	2001	20	8	12
7	2002	26	14	12
8	2003	18	11	7
9	2004	24	13	11
10	2005	22	12	10
Σ^4		207,0	120,0	87,0
\bar{X}^5		20,7	12,0	8,7
σ_n^6		4,88	3,71	2,57
P^7	\leq^8	-	0 ⁹	0,043

¹počty, ²VVL, ⁴ suma hodnôt, ⁵aritmetické priemerné hodnoty, ⁶ populačná štandardná odchýlka, ⁷ štatistické hodnotenie ⁸hodnota je menšia ako alebo sa rovná, ⁹ referenčná hodnota.

Diskusia

Zhoršujúce sa životné prostredie (skleníkové počasie, kyslé dažde, emisie, imisie, zamorenie pôdy a vody priemyselnými odpadmi, smog, nebezpečné smršte, náhle privalové riečne záplavy a iné), stále častejšie iniciujú tlaky na potrebu zlepšenia kvality životného prostredia. Totižto nekvalitné životné prostredie negatívne ovplyvňuje nielen biosféru, kvalitu potravy pre zvieratá a ľudí, ale aj jej surovín a produktov. Neprekvapuje preto, že v dôsledku uvedených porúch je potrebné používať celý rad liečiv (Cheng et al. 2002, Šalamon & Danielovič 1998, Šutiak 1997, Šutiak a Šutiaková, sr. 1999, Šutiak et al. 2001, 2002a, b). Aj keď fytotherapeutiká znamenajú menšiu záťaž pre životné prostredie (pri ich výrobe vzniká len málo odpadov a nežiaducich produktov), niektoré z nich môžu obsahovať tiež rizikové látky pre citlivých pacientov a to v podobe peľových alergénov, histamínu, niektorých toxínov (napr. viskotoxín, ergotoxín, digitoxín atď.) a iných látok, ktoré môžu byť tiež nebezpečné (Karmazín et al. 1984, Šutiak et al. 2001 a 2002b). Preto sa ukazuje potreba komplexnej obozretnosti v každom smere (Poračová et al. 2004).

Záver

V referáte pojednávame najskôr všeobecne o význame viacerých fytotherapeutík ktoré našli pomerne široké použitie a to jednak pre symptomatickú, patogenetickú, paliatívnu, etiologickú, substitučnú, auxiliárnu, komplementárnu a alternatívnu liečbu a to najmä zápalov, ale aj iných patologických stavov pacientov. Ďalej sme si dovoľili poukázať na niektoré možnosti využitia fytotherapeutík i v 3 študijných odboroch na UVL a to vo Farmácii (PH), vo Všeobecnom veterinárstve (VVL) a v Hygiene potravín (HP). Okrem toho rozhodli sme sa poukázať aj na niektoré rizika, ktoré hrozia pri používaní niektorých fytotherapeutík (a to v podobe peľových alergénov, histamínu, niektorých toxínov (napr. viskotoxínu, ergotoxínu, digitoxínu atď.). V práci tiež diskutujeme jednak o potrebe ochrany životného prostredia pred jeho rizikovými faktormi (kyslé dažde, emisie, imisie, zamorenie pôdy a vody priemyselnými odpadmi, smog,

nebezpečné smršte, náhle prívalové riečne záplavy a iné) vychádzajúc pritom jednak z našich vlastných výsledkov, ale aj z poznatkov dostupnej svetovej literatúry.

Literatúra

1. Cheng BJ. et al.: J. Ethnopharmacol, 2002,94:275-278;
2. Karnazín M. et al.: Vade-mecum of drugs of herbal origin. Spofa Avicenum Prague, 1984,1-234;
3. Šalamon I. & Danielovič I.: Pharm Horizon, 1998,57,11:293-296;
4. Šutiak V.: A concise catalogue of selected pharmaceuticals. UVM Košice 1997:1-27;
5. Šutiak V. et al.: A guide-book of prescriptions & practical pharmacological exercises. Datahelp Košice 1997:1-180;
6. Šutiak V. et al.: A guide-book of prescriptions and practical pharmacological exercises. 2. vyd., Vienala Košice 2002a:1-271;
7. Šutiak V. et al.: A handbook of veterinary phytotherapy. Vienala Košice, 2002b:1-85;
8. Šutiak, V. et al.: A handbook of veterinary phytotherapy. Vienala Košice 2001:122;
9. Šutiak, V., Šutiaková, I. sr. A Concise monograph of selected Israeli pharmaceuticals and disinfection aids. UVM Košice 1999:1-116.

Podakovanie: prácu podporilo MŠ-SR grantmi VEGA 1-1367-04, VEGA 1-2408-05 a KEGA 3-3202-05.

NIKTORÉ RIZIKOVÉ VLASTNOSTI A ÚČINKY IMELA BIELEHO (*VISCUM ALBUM L.*) U ANIMÁLNYCH PACIENTOV

CERTAIN RISK PROPERTIES AND EFFECTS OF WHITE MISTLETOE (*VISCUM ALBUM L.*) IN ANIMAL PATIENTS

Šutiak V., Šutiaková I. sr., Droppová L., Puchá Z., Skalka J., Čonková E., Neuschl J., Čellárová E.

Univerzita Veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

In our experiments we have studied the effect of white mistletoe extracts in mice (0.6 % and 0.1 %, concentrations) administered i.p. as well as extracts administered s.c. (6,2 % and 0,6 %), prepared from leafs. Phytotherapeutic *Viscum album* (VA) has been collected in our Košice territory and processed by the procedure detailly described beneath. Our experiments demonstrated, that the leaf extract in 0.6 % concentration administered i.p. may be very dangerous and has risk activity since already shortly after administration this extract induced statistically significant decrease of body temperature, registrable changes in clinical behaviours and finally death of experimental animals. Lower concentration (0.1 %) administered i.p. was better tolerated, however this concentration was still able to induce various changes of clinical parameters and also statistically significant decrease of body temperature, however in this case all experimental animals survived with mentioned concentration. Experiments realized in s.c. version of studies demonstrated that 6.2 % concentration was in this case also risky, since the higher dose was able to induce also the death of our mouse although the death of animal was induced latter as in cases of i.p. administration, and similarly the induction of clinical changes were milder as after i.p. administration. Last experiment with the s.c. administration lower concentration of VA extract was again better tolerated by mouse as the higher one, and also in this case the animal survived the experiment although the clinical responses were still changed and the body temperature heavily decreased. The extend of temperature change was really deeply changed (to 33.17 °C, 4.0 h after administration, in contrast to value 38.88 °C before experiment). From the experiments could be done the conclusion that the VA extracts are very potent and may have also risk activity in biosystems when are not respected the appropriate conditions.

Keywords: *Viscum album*, morphine, hypothermia, thermoregulation, exites, animals

Úvod

V ostatných rokoch je imelo biele (*Viscum album L.*, VA) resp. niektoré jeho zložky sú predmetom celého radu vedeckých debát a širokého štúdia na rôznych úrovniach (Fernandez et al. 2003, Gorter et al. 2003, Hostanska et al. 2003, Lavastre et al. 2004, Muthing et al. 2004, Pelletier et al. 2001, Puchá et al. 2003 a Savoie et al. 2000). Zistilo sa totižto, že výťažky imela bieleho môžu indukovať nielen apoptické, ale aj viaceré ďalšie účinky (anti- inflamačný, inhibičný, antidiabetický, indukčný, denovo regulačný atď.). Niektoré ďalšie zaujímavé poznatky o účinkoch VA sa popisujú dostatočne podrobne aj inde (www.jleukbio.org/cgi/content/abstract/68/6/845, www.cancer.gov/cancertopics/pdq/cam/mistletoe/HealthProfessional/page4, www.Hivandhepatitis.com/2004icr/ddw2004/docs/0524/052404_hcv_e.html, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=8497925&dopt=Citation, www.paam.net/Mistletoe.htm, www.Maisonradical.ca/Herbasante/viscum_album.htm, [293](http://www.journals.endocri-</p></div><div data-bbox=)

nology.org/joe/160/ joe1 6004 09. htm, www.joe. endocrinology-journals.org/ cgi/content/ abstract /160/3/409. Cieľom tohto nášho príspevku je poukázať na niektoré jeho rizikové vlastnosti a účinky, ktoré sme zistili na základe nášho doterajšieho angažovaného štúdia.

Materiál a metodika

Pred začatím pokusov a počas pokusov boli myšky kŕmené komerčnou diétou po dobu 7 dní a napájané vodou *ad libitum*. V pokuse sme použili myšky kmeňa ICR. Umiestené boli pred a počas pokusov v umelých boxoch s kovovým krytom. Teplotu tela myšiek sme merali a zaznamenávali jednak pred aplikáciou -0,5 h a 0,5; 1; 2; 4 a 6 hodín po podaní látok meraním v rekte. Telesná teplota sa zaznamenávala digitálnym teplomerom fy Hartmann, Nemecko, s presnosťou $\pm 0,1$ °C, vďaka batérii typu SR-41-1,55 V. Imelo biele sme dokumentovali aj fotením použitím fotoaparátu typu Olympus Camedia-Digital Camera Model No. C-450 Zoom, 277C61819-Exo, Made in Indonesia. Použili sme sterilne striekačky Chirana Prema Stará Tura a sterilné ihly Medoject Luer Nr. 180.5x25. Na prípravu extraktu imela bieleho sme použili *Infusio natrii chlorati isotonica* fy Infusia a.s. Hořatev, ČR, objem injekčnej dávky činil okolo 1 ml na 30 g myšku. Pre váženie látok sme použili analytické váhy Precisa 125, výrobcu Oerlikon AG Zürich, Švajčiarsko. U myšiek sme okrem teploty sledovali aj klinické prejavy myšiek a to najmä zmeny v správaní sa. Pred vlastným pokusom sme najskôr pripravili zásobný roztok extraktu imela bieleho (nazbieraného v teritóriu Košíc, pozri obr. 1 a 2) v predbežnej koncentrácii 25 % z listov predchladeným (+ 4°C) fyziologickým roztokom (*Infusio natrii chlorati isotonica*) a zmes sa rozmixovala na mixéri ETA-KOMBI, typ 041, (séria 0969, výrobca Elektro - Praga Hlinsko, Česká republika). Po opätovnom podchladení sa vzniknutá zmes centrifugovala (v Centrifúge S – 25, H. Janetzki KG, Elgelsdorf, Leipzig, Nemecko) pri 2500 ot./min. počas 30 min. Odsatý supernatant sa opakovane centrifugoval za rovnakých podmienok. Po druhej centrifugácii sa zásobný supernatant uskladnil až do aplikácie myškám v mrazničke. Použili sme jednak kontrolnú skupinu, v ktorej sme mali 4 myšky, individuálne farebne označené pre zabezpečenie dobrej identifikácie a priebežné sledovanie teploty tela. Okrem toho použili sme podobne aj pokusné skupiny, ktorým sme podávali extrakt listov imela bieleho v koncentráciách: 0,6 % (n = 4, i.p.); 0,1 % (n = 4, i.p.), ale aj 6,2 % (n = 1, s.c.) a 0,6 % (n = 1, s.c.) roztoku listov imela bieleho. Výsledky našej práce sme podrobili aj matematicko-štatistickej analýze postupmi studentovho *t* testu popísanými inde (Šutiak et al., 1997, Šutiak et al., 2002a), pričom sme využili PC Intel Celeron s programami Microsoft Word 2003 and Microsoft Excel 2003 a výsledky sme zaradili do nižšie priloženej tabuľky.

Výsledky pokusov

V týchto pokusoch sme použili imelo biele nazbierané v regióne Košíc (pozrite Obr. 1 a Obr. 2) a pre pokusy sme použili iba extrakty listov VA, hoci sme nazbierali popri nich aj bobuľky jeho plodov. Na priložených obrázkoch vidieť popri listoch aj stonky a okrem nich aj plody imela bieleho.



Obr. 1 Vňať imela bieleho vcelku



Obr. 2 Detailný záber na skupinu plodov imela bieleho

Vlastné pokusy s myškami ukázali (Tabuľka 1), že i.p. podanie samotného fyziologického roztoku myškám navodilo len nepatrné zmeny teploty tela (nesignifikantný pokles) a len mierne zvýšenú pohyblivosť, ktorá krátko po podaní vymizla a myšky sa správali do konca pokusov normálne. Avšak i.p. podanie myškám 0,6 % extraktu imela bieleho navodilo u myšiek úplne iný obraz. Pokiaľ sa týka klinického správania sa tak najskôr boli myšky tejto skupiny mierne podráždené, s prejavmi hyperkinézy a občasných zášklbov svalov tela, potom sa stali somnolentné až apatické so spomaleným dýchaním. Došlo tiež k navodeniu výrazného poklesu teploty tela a to v rozsahu štatisticky veľmi významnej zmeny už 0,5 h po podaní a následne boli oslabené a v takomto stave došlo k postupnému ich úhону, takže v časovom úseku do 1 h už nebolo možné merať teplotu tela. Pokiaľ sa týka myšiek ktorým bol i.p. podaný extrakt myšiek v koncentrácii 0,1 % roztoku i.p. zistili sme, že pokus síce prežili všetky myšky, avšak ihneď po podaní roztoku boli mierne podráždené, hyperkinetické, potom sa postupne upokojili a prešli do miernej apatie so spomalením dychu (dych sa stal zmyslovo dobre čitateľný) a došlo k spomaleniu pohyblivosti a po 2 a pol hodinách pokusov sa myšky postupne upokojili. Následne prejavovali potom čulý záujem o okolie, začali prijímať potravu i vodu, frekvencia dychu postupne stúpala a ich stav sa normalizoval na východzie pomery. Nakoniec ešte vykonané námatkové pokusy so s.c. podaním 6,2 % roztoku ukázalo, že extrakt VA navodil prechodné podráždenie a svalové zášklby tela aj počas ich pohybu a došlo k poklesu teploty tela, ktorá bola kombinovaná s apatiou. Dýchanie sa stalo spomalené a plytké, nastúpila hypokinéza a následne nastala smrť. Pokiaľ sa týka myšky, ktorej bol podaný 0,6 % roztok pokus ukázal, že túto dávku myška dobre znášala, už krátko po podaní bola aktívna, potom na krátko sa objavila mierna apatia a hypokinéza a prechodné spomalenie dychu, ale už po 2 h sa stav stabilizoval a potom došlo ku konzumácii potravy a upravila sa aj teplota tela (Tabuľka 1) a myška pokus prežila v dobrej aktivite.

Tabuľka 1. Stručný prehľad účinku imela bieleho na teplotu tela (v °C) u laboratórnych myšiek (samičky) kmeňa ICR

Myšky	Dynamika teploty tela zvierat [v °C] v závislosti na čase [t v h]					
	Pred podaním	Po podaní experimentálnych látok				
Štatistika	-0,5	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0
Kontrolná skupina myšiek s podaným fyziologickým roztokom i.p.						
zelená	38,64	38,51	38,55	38,19	37,91	38,76
hnedá	38,75	38,66	38,58	38,30	38,21	37,99
červená	38,39	38,31	38,26	38,07	37,95	37,73
modrá	39,01	38,82	38,69	38,82	38,95	38,93
∅	38,71	38,58	38,52	38,35	38,26	38,35
±s	0,2570	0,2173	0,1835	0,3303	0,4820	0,5827
P1	0	0,494	0,626	0,146	0,171	0,337
Pokusná skupina myšiek, ktorým bol podaný 0,6% roztok VAL i.p.						
zelená	37,63	32,71	ND	ND	ND	ND
hnedá	38,21	33,32	ND	ND	ND	ND
červená	37,33	34,86	ND	ND	ND	ND
modrá	38,19	32,86	ND	ND	ND	ND
∅	37,84	33,44	ND	ND	ND	ND
±s	0,4334	0,9832	ND	ND	ND	ND
P1	0	0,001	ND	ND	ND	ND
Pokusná skupina myšiek, ktorým bol podaný 0,1 % roztok VAL i. p.						
zelená	38,49	32,54	34,26	37,44	37,69	38,80
hnedá	38,72	33,99	34,17	35,41	38,22	38,43
červená	38,86	32,95	35,29	37,46	38,03	38,30
modrá	38,10	34,02	36,36	37,42	38,20	38,58
∅	38,54	33,38	35,02	36,93	38,04	38,53
±s	0,332	0,7466	1,027	1,0151	0,2453	0,2147
P	0	0,0002	0,004	0,0115	0,052	0,9424
Pokusné myšky, ktorým bol podaný roztok VAL s.c.						
6,2 % roz.	38,11	34,46	32,03	<32,00	ND	ND
0,6 % roz.	38,88	36,27	36,11	33,68	33,17	35,75

Vysvetlivky: °C = teplota tela meraná v stupňoch Celzia, t = čas vyjadrovaný v hodinách [h], i.p. = intraperitoneálne podanie extraktu, s.c. = subkutanné podanie extraktu, ND = nestanoviteľné hodnoty, ∅ = priemer, ±s = smerodatná odchýlka, P = štatistická významnosť, čo sú bežné štatistické údaje, roz. = roztok.

Diskusia

Úsilie o čiastočnú náhradu v používaní chemoterapeutík alternatívnymi možnosťami vonkoncom neprekvapujú. Je to dané najmä snahou o ochranu životného prostredia a živočíchov ako takých (Šutiak V. et al.: 2001 a 2002b). O viacerých ďalších skutočnostiach

v tomto smere máme pripravené iné zdedenie (Šutiak et al. 2006), ale je to dané aj skutočnosťou, že na rozdiel od chemoterapeutík, fytotherapeutiká majú často niektoré výhodnejšie vlastnosti (chemoterapeutiká sú vo väčšine prípadov uniformnejšie a koncentrovanejšie ako fytotherapeutiká). Totižto viaceré komponenty fytotherapeutík tým, že sú prírodné sa spravidla výhodnejšie odbúravajú v porovnaní s mnohými chemoterapeutikami (chemoterapeutiká často výraznejšie a účinnejšie indukujú Cytochróm P450). Ničmenej aj mnohé fytofarmaká sú veľmi účinné (najmä terapeuticky) a často indukujú spoľahlivú klinickú odpoveď pacientov. My sme sledovali vplyv fytotherapeutika VA na teplotu, aj preto, lebo teplotný parameter sa považuje ako jeden z cenných laboratórnych ukazovateľov aj z hľadiska kvality potravín. Totižto hyperpyrexia zisťovaná napr. pri halotánovom alebo aj suxametóniovom teste kvality živočíšnych surovín sa v tomto smere ešte aj dnes bežne využíva ako jedno z kritérií indikujúcich možné riziká ovplyvňujúce kvalitu potravín. O skutočnosti, že fytotherapeutiká môžu ovplyvňovať teplotu tela je už dávnejšie viacero dôkazov (Lin et al. 1980a, b, 1981). Treba však objektívne uznať, že doposiaľ je viac skúsenosti s účinkom chemoterapeutík na termoreguláciu (Haavik 1977, Lin et al. 1978, Lin et al. 2002). Naše pokusy ukázali, že imelo biele výrazne znižuje teplotu tela zvierat, ktorá môže byť navodená jednak inhibíciou metabolických pochodov v organizme, ale nie menej významnú úlohu zrejme zohráva aj ovplyvnenie periférnej evaporácie tekutín z kože (a to najmä kože chvosta, a končatín, prípadne aj ďalších častí tela). Vplyv respiračných procesov dýchacieho systému je menej pravdepodobný, nakoľko po podaní VA extraktov sa počet dychov znižuje. Takúto eventualitu naznačujú aj literárne údaje (Haavik 1977, Lin et al. 1978, Lin et al. 1980a, b, 1981 a Lin et al. 2002). Avšak pre potvrdenie našej domnienky bolo by žiadúce zrealizovať ďalšie pokusy prípadne aj na iných živočíšnych druhoch.

Záver

V referáte pojednávame najskôr všeobecne o niektorých vlastnostiach a účinkoch imela bieleho (*Viscum album* L.). V nadväznosti popisujeme podrobne podmienky našich pokusov a to jednak z hľadiska metodického, ale aj technického prevedenia pokusov. V súvislosti s popisom podmienok pokusov v práci podrobne uvádzame jednak vplyv rôznych koncentrácií extraktov imela bieleho na klinické správanie sa myšiek a odpoveď organizmu, resp. jeho termoregulačných mechanizmov, v závislosti na čase po podaní látok vykazovaním dynamiky teploty tela. V referáte uvádzame fakt závislosti účinku od množstva použitého extraktu. Vysoká dávka indukovala exity, nižšia iba výrazne zmeny. V práci tiež diskutujeme jednak o dávkovaní, ale aj o účinkoch extraktov imela bieleho v animálnom organizme, vychádzajúc pritom jednak z našich vlastných výsledkov, ale aj z poznatkov dostupnej svetovej literatúry.

Literatúra

1. Fernandes T. et al.: 2003,85,1:81/92;
2. Gorter RW.et al.:Am J Ther,2003,10,1:40-47;
3. Haavik CO.: Fed. Proc, 1977,36,12:2595-2598;
4. Hostanska K. et al.: Br J Cancer, 2003,88,11:1785-92;
5. Lavastre V. et al.: Clin Exp Immunol, 2004, 137,2:272-278;
6. Lin MT. et al.: Can J Phys Pharmacol, 1978,56,6:963-967;
7. Lin MT. et al.: am J Chin Med, 1980a,8,1-2:96-103;
8. Lin MT. et al.: Jpn J Pharmacol,1980b,30,1:59-64;
9. Lin MT. et al.: Am J Chin Med, 1981,9,2,144-145;
10. Lin MT. et al.: J Pineal Res, 2002,33,1:14,
11. Malone DT.et al.: Br J Pharmacol, 1998,124,7:1419-1424;
12. Muthing J. et al.: Biochemistry, 2004, 43,11:2996-3007;

13. Pelletier M. et al.: Clin immunol, 2001, 101, 2:229-236;
14. Puchá Z et al.: Infovet,4,10,2003:35-38;
15. Savoie A. et al.: J of Leucocyte Biol, 2000,68:845-853;
16. Šutiak V. et al.: A handbook of veterinary phytotherapy. Vienala Košice,2002b:1-85;
17. Šutiak V. et al.: A handbook of veterinary phytotherapy. Vienala Košice,2001:1-122.

Podakovanie: túto prácu podporilo MŠ-SR grantmi: VEGA 1-1367-04, VEGA 1-2408-05 a KEGA 3-3202-05.

OMÁMNE A PSYCHOTROPNÉ LÁTKY A ICH RIZIKOVÉ VLASTNOSTI A ÚČINKY U ANIMÁLNYCH PACIENTOV

ADDICTIVE AND PSYCHOTROPIC DRUGS AND THEIR RISK PROPERTIES AND EFFECTS IN ANIMAL PATIENTS

Šutiak, V., Šutiaková, I. sr., Nagy, O., Šutiaková, I. jr., Čonková, E., Čellárová, E., Neuschl, J., Vaczi, P.

Univerzita Veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

We have realized our experiments with mice of the strain ICR. Before starting the experiments mice were fed with the commercial food and watered during 7 days before experiment in both cases *ad libitum* due to adaptation the mice on experimental conditions. They were deposited in the plastic boxes with the metallic coverings. We have measured the body temperature before administration of drugs (-0.5h) as well as at 0.5; 1; 2; 4 and 6 h after administration of drugs (in rectum). We have used for measurement Thermometer of the firm Hartmann, Germany, with the measurement accuracy ± 0.1 °C, thanks to battery type SR41-1.55 V. We have observed the mice also clinically for obtaining the complex effect of studied agents in animals. In our experiments we have studied the effect of morphine (Morphin Biotika 1% injections) administered to mice (females) subcutaneously (s.c.) in the dose 30 mg.kg^{-1} b.w. alone as well as in combination with glycine. Glycine (product of the fy Lachema - Chemapol Brno, CZ) has been administered to mice intraperitoneally (i.p.) 30 min. before morphine in the quantities: 100.0 mg.kg^{-1} , resp. 400.0 mg.kg^{-1} and 800.0 mg.kg^{-1} b.w. The quantities of used agents were weighed on the analytical balance Precisa 125, producer Oerlikon AG Zürich, Switzerland. Our experiments demonstrated, that morphine administered to mice alone induced very significant decrease of the body temperature with typical characteristics of hypothermia, which was more deeply as is the basic criterion of the significant level ($P < 0.05$). With the clinical observation we have registered also induction the Straubs' phenomenon, hyperkinetic activities of mice, as well as their good mutual tolerance and decrease the aggressivity of mice. Administration of glycine together with morphine reduced partially the hypothermic activity of morphine and shortened its duration, however glycine was not able completely eliminate the hypothermia state of mice, induced with morphine.

Keywords: morphine, glycine, hypothermia, thermoregulation, animals

Úvod

Porážanie zvierat na bitúnkoch je proces spojený s bolesťou a nie zriedka hraničí s utrpením a týraním zvierat. Neprekvapujú preto aktivity, ochrancov práv zvierat usilujúce o náležitý dohľad nad procesom ich porážky s cieľom zabezpečiť právny postup (Korím et al. 2006, Šutiak, 1997, Šutiak et al. 1997, Šutiak et al. 2002). Popri týchto aktivitách stranou však neostáva ani sféra vedeckého výskumu, usilujúca o spoznanie úloh a funkcií endorfínových opiopeptínov: proopiomelanokortínu, proenkefalínu A, prodynorfínu, niektorých enkefalínov (napr. met- a leu-), betaendorfínu, endorfínov1 a 2, ale aj endorfínových morfinanov (Aktoris et al. 2005, Burgis 2005). Novšie poznatky totižto ukazujú, že u mamálnych zvierat sa môže v istom rozsahu tvoriť endogénne aj morfín a niektoré jeho metabolity, o ktorých je známe, že patria medzi najúčinnnejšie analgetiká. Poznatky o metabolitoch endorfínových opiopeptínov a endomorfinanov môžu poslúžiť ako cenný zdroj informácií na hľadanie riešení vedúcich i k potlačovaniu bolesti aj bitúnkových zvierat. Ako je známe na potlačanie bolesti a utrpenia nie

je možné používať bežné analgetiká, hoci ich je dnes už značné množstvo (Sabolová et al. 2003). Totižto v súčasnosti sa pre účely zvládnutia utrpenia a bolesti uvedených zvierat využívajú pomerne úspešne len niektoré vhodné prípravky neškodného anestetika na báze oxidu uhličitého (ďalej len CO₂), avšak nie je vylúčené, či sa perspektívne nebudú využívať prakticky aj poznatky z vyššie naznačenej sféry. Ukazuje sa totižto, že morfín aj keď patrí medzi vážne rizikové faktory, zasahuje do rôznych procesov živočíchov, včítane i termoregulácie (Haavik 1977) a navyše vstupuje i do interakcií s viacerými endogénnymi látkami, substrátmi a kosubstrátmi. Cieľom našich pokusov bolo sledovať interakciu morfínu s glycínom za účelom spoznania tkanivovej odpovede organizmu zvierat na ich podanie.

Materiál and Metodika

Pred začatím pokusov a počas pokusov boli myšky kŕmené komerčnou diétou po dobu 7 dní a vodu prijímali *ad libitum* (použili sme samičky kmeňa ICR). Umiestené boli v umelých boxoch s kovovým krytom. V pokusoch sme merali teplotu tela zaznamenávaním v čase -0,5 h pred aplikáciou a 0,5; 1; 2; 4 a 6 hodín po podaní, meraním v rekte digitálnym teplomerom fy Hartmann Nemecko, s presnosťou $\pm 0,1$ °C, vďaka batérii typu SR41-1.55 V. Popri teplote sledovali sme aj klinické prejavy myšiek, najmä zmeny v správaní sa a Straubov fenomén, ktorý sme dokumentovali aj fotením, použitím fotoaparátu typu Olympus Camedia-Digital Camera Model No. C-450 Zoom, 277C61819-Exo, Made in Indonesia. Pre pokusy sa použila dávka morfínu 30 mg.kg⁻¹ ž. h. v 0,1% koncentrácii (prípravok Morphin Biotika 1% injekcie) a glycín o čistote p.a (Lachema - Chemapol Brno, o molekulárnej hmotnosti 75.07. V skupine A sme použili iba samotný morfín, v B, C a D skupine sme použili okrem morfínu vo vyššie uvedenej dávke spolu i glycín v dávkach 100,0 mg.kg⁻¹ v 0,4%; resp. 400,0 mg.kg⁻¹ v 1,6% a 800,0 mg.kg⁻¹ v 3,2% roztoku. Glycín sa podával i.p. 30 minút pred morfínom, pričom sme podávali morfín v pomere dávok 1,2 ml/ 40g myšky a glycín sa podával v objeme 1,0 ml/ 40g myšky, pričom morfín sme podávali za lopatku s.c. Pre dávkovanie liečiv sme použili sterilne striekačky fy Chirana Prema Stará Tura a sterilné ihly Medoject luer čís. 180,5x25, na riedenie sme použili *Infusio natrii chlorati isotonica* fy Infusia a.s. Hořatev, ČR. Na naváženie glycínu sme použili analytické váhy Precisa 125, výrobca Oerlikon AG Zürich, Švajčiarsko. V našej práci sme urobili matematicko-štatistickú analýzu našich výsledkov základnými postupmi (Šutiak et al. 1997, Šutiak et al. 2002) pričom sme využili PC Intel Celeron s programami Microsoft Word 2003 and Microsoft Excel 2003 a výsledky sme zaradili do tabuliek.

Výsledky

V pokusoch sme sledovali vplyv morfínu a interakčnej kombinácie morfínu a glycínu u myšiek na ich klinické správanie sa a na dynamiku teploty tela (pozrite Tabuľku 1). Zistili sme, že teplota tela pred započatím pokusov bola medzi skupinami myšiek štatisticky nevýznamná ($P > 0,05$). Avšak pol hodiny po započatí pokusu došlo u myšiek po podaní samotného morfínu k prechodnému veľmi značnému a signifikantnému poklesu telesnej teploty a to z hodnoty $37,49 \pm 0,09$ °C pred podaním morfínu na hodnotu $32,37 \pm 0,50$ °C už 30 min. po jeho podaní, čo predstavuje štatisticky veľmi významný pokles, ďaleko presahujúci kritérium štatistickej významnosti ($P < 0,05$). Neskôr sa síce začala teplota tela upravovať smerom na východzie hodnoty, ale štatistická významnosť poklesu teploty tela sa vytratila až 6 h po podaní. V pokusoch s kombinovaným podaním látok sme zistili, že glycín mal priaznivý účinok na organizmus zvierat a to v závislosti od dávky, vzhľadom na dynamiku teploty tela. Po podaní 100 mg glycínu.kg⁻¹ ž.h. teplota tela klesla len na $33,67 \pm 0,74$ °C, po podaní 400 mg.kg⁻¹ ž.h. teplota tela poklesla na $33,99 \pm 0,34$ °C a po podaní 800 mg.kg⁻¹ ž.h. teplota tela poklesla na $33,99 \pm 0,35$ °C, 30 min. po podaní. Pokus ukázal, že so zvyšovaním dávky bol efekt

priaznivejší, hoci prídavky glycínu nezabránili poklesu teploty tela, ale ich prejav bol miernejší, v porovnaní so samotným morfínom.



Obr. 1. Indukovaný Straubov fenomén u myšky po podaní morfínu.

Totížto signifikantnosť zmien teploty tela bola síce ešte stále prítomná a to tak po najnižšej dávke, ako aj po strednej resp. i po najvyššej dávke, ale ochranný účinok bol zrejmý. Zistili sme totižto, že signifikantnosť poklesu teploty tela myšiek trvala po kombinovanom podaní študovaných látok kratšie a to najmä po podaní strednej a najvyššej dávky glycínu. Pri sledovaní klinických prejavov účinku látok sme zistili, že podanie samotného morfínu malo za následok navodenie tzv. Straubovho (Obr.1) fenoménu a to už v čase od 8 min. do 16 min. po podaní morfínu. Ďalej sme pozorovali hyperkinetické správanie sa myšiek a popri tom myšky sa stali lepšie ovládateľné a menej agresívne, jednak voči spoločníčkam, ale aj voči osobám zainteresovaným na pokusoch. Indukcia Straubovho fenoménu sa zistila aj v pokusoch s kombinovaným podaním látok, avšak tento fenomén nebol takej výraznej intenzity, ako pri podaní samotného morfínu a navyac trval kratšie, spravidla iba do 2,5 h a ojedinele do 3h po podaní, na rozdiel od kontrolnej skupiny. Strata agresivity a kyfózný postoj boli síce prítomné, avšak manéžovitý pohyb v boxe u myšiek s kombinovaným podaním študovaných látok nebol zaznamenaný. Pokusy ukázali, že študované látky podané kombinovane myšky lepšie znášali.

Tabuľka 1. Prehľad účinku morfínu a kombinácie morfínu s rôznymi kvantitami glycínu na teplotu tela ($^{\circ}\text{C}$) u laboratórnych myšiek (samičiek)

Myšky	Dynamika teploty tela zvierat [$v^{\circ}\text{C}$] v závislosti na čase [t v h]					
	Pred	pod.	Po podaní experimentálnych látok			
	-0,5	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0
Kontrolné myšky, ktorým bol podaný morfín HCl v dávke 30 mg. kg^{-1} ž.h. s.c.						
hnedá	37,36	32,41	32,11	32,05	35,12	37,28
zelená	37,60	32,11	32,11	32,11	33,84	37,06
modrá	37,49	32,11	32,26	33,62	34,57	36,49
červená	37,50	33,07	32,48	33,32	36,06	37,13
∅	37,49	32,37	32,185	32,748	34,897	36,99
±s	0,0984	0,5051	0,2317	0,8435	0,9357	0,3457
P<	0	0,0002	$1,67^{-06}$	0,0013	0,0111	0,0589

Pokusné myšky, ktorým bolo podané okrem morfínu i 100 mg.kg ⁻¹ ž.h. glycínu i.p.						
hnedá	37,51	33,08	32,27	34,36	36,63	36,67
zelená	37,72	34,5	34,71	35,79	36,64	37,17
modrá	37,43	33,01	33,00	33,77	36,84	37,62
červená	37,82	34,08	34,16	35,25	36,74	37,75
∅	37,62	33,67	33,54	34,79	36,71	37,30
±s	0,181	0,740	1,104	0,901	0,098	0,489
P<	0	0,0011	0,0044	0,0069	0,0004	0,2937
Pokusné myšky, ktorým bolo podané okrem morfínu i 400 mg.kg ⁻¹ ž.h. glycínu i.p.						
hnedá	37,56	33,49	33,47	33,58	35,99	36,93
zelená	38,19	34,28	33,39	34,71	37,46	37,41
modrá	37,44	34,15	34,24	35,90	37,68	37,94
červená	37,42	34,04	34,07	36,22	37,08	37,89
∅	37,652	33,99	33,79	35,10	37,05	37,543
±s	0,364	0,348	0,426	1,205	0,750	0,505
P<	0	6,69 ⁻⁰⁶	1,09 ⁻⁰⁵	0,0200	0,218	0,726
Pokusné myšky, ktorým bol podaný okrem morfínu i 800mg.kg ⁻¹ ž.h. glycínu i.p.						
hnedá	37,56	33,49	33,47	33,58	35,99	36,93
zelená	38,19	34,28	33,39	34,71	37,46	37,41
modrá	37,44	34,15	34,24	35,90	37,68	37,94
červená	37,42	34,04	34,07	36,22	37,08	37,89
∅	37,652	33,99	33,79	35,10	37,05	37,543
±s	0,364	0,348	0,426	1,205	0,750	0,505
P1	0	6,69 ⁻⁰⁶	1,09 ⁻⁰⁵	0,0200	0,218	0,726

Vysvetlivky: °C = teplota tela meraná v stupňoch Celzia, t = čas vyjadrovaný v hodinách [h], i.p. = intraperitoneálne podanie extraktu, s.c. = subkutanné podanie extraktu, pod. = podanie, ∅ = priemer, ±s = smerodatná odchýlka, P = štatistická významnosť, čo sú bežné štatistické údaje, roz. = roztok.

Diskusia

Glycín je jedna z najjednoduchších aminokyselín, ktorá sa zapája jednak do proteosyntetických, ale aj metabolicko-detoxikačných procesov na jednej strane a zohráva aj celý rad ďalších významných úloh v rôznych procesoch CNS v úlohe neurotransmitera, ako aj v iných procesoch rôznych orgánov tela (Aktoris et al. 2005, Burgis 2005, Popik et al. 2000, Bradaia and Trouslard 2002, Stern a Stern 1974). Naše pokusy ukázali, že glycín bol schopný parciálne zmierniť silné hypotermické účinky morfínu u myšiek, ale nebol schopný im úplne zabrániť. V tejto súvislosti je na mieste otázka, akým mechanizmom pôsobil glycín zmierňujúco na prejavy morfínu u zvierat. Na základe doterajších našich pokusov a skúsenosti my sa domnievame, že na prvom mieste prichádzajú do úvahy jeho účinky cestou podporenia metabolicko-detoxikačných procesov. Totižto jeho úloha a účasť na metabolizácii celého radu liečiv je už dobre známa (Aktoris et al. 2005) a preto sa má zato, že jeho poslanie v organizme nie je zastupiteľné. Avšak vzhľadom na fakt že glycín sa zúčastňuje i celého radu ďalších procesov (Bradaia and Trouslard 2002, Koek a Colpaert 1990, Kotliska 2001, J. Kotliska a Biala 1999, Kretschmer et al. 1995, Popik et al. 2000, Stern a Stern 1974), nie je možné vysvetliť jeho účinok iba zásahom do procesov detoxikácie. Naznačujú tomu i poznatky Haavika (1977) a celého radu ďalších autorov (Bradaia and Trouslard 2002, Burgis 2005, Popik et al. 2000 a iní).

Záver

V referáte pojednávame najskôr všeobecne o porážaní zvierat a niektorých možnostiach riešenia problémov spojených s bolesťou zvierat a s nebezpečenstvom ich možného tyrania počas porážky. Popri tom poukazujeme na súčasný stav a na niektoré aktuálne otázky spojené

s procesmi pocitu bolesti a možnej internej regulácie funkciou endorfínových opiopeptínov: proopiomelanokortínu, proenkefalínu A, prodynorfínu, niektorých enkefalínov (napr. met- a leu-), betaendorfínu, endorfínov1 a 2, ale aj endorfínových morfinanov. Novšie poznatky totižto ukazujú, že u mamálnych zvierat sa môže v istom rozsahu tvoriť aj morfín a niektoré jeho metabolity, o ktorých je dobre známe že patria medzi silno účinné analgetiká. V práci sa pojednáva o výsledkoch štúdia účinku morfínu samotného a v kombinácii s glycínom v troch rôznych dávkach u pokusných zvierat. V práci okrem toho tiež diskutujeme jednak o dávkovaní, ale aj o účinkoch uvedených troch dávok glycínu v organizme zvierat, vychádzajúc pritom jednak z našich vlastných výsledkov, ale aj z poznatkov dostupnej svetovej literatúry.

Poďakovanie: túto prácu podporilo MŠ-SR grantmi: VEGA 1-1367-04, VEGA 1-2408-05 a KEGA 3-3202-05.

Literatúra

1. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie
2. und Toxikologie. 9. Auflage. Elsevier Urban et al. Fischer, München. Jena, 2005:1-1189;
3. Bradaia A, Trouslard J.: Neuropharmacology, 2002,43:1044-1054;
4. Burgis E.: Intensivkurs allgemeine und spezielle Pharmakologie. 3. Auflage. Elsevier Urban et al. München & Jena 2005, 1-714;
5. Haavik CO.: Fed Proc, 1977,36,12:2595-2598;
6. Koek W and Colpaert FC.: J Pharmacol Exp Ther, 1990,252:349-357;
7. Kotliska J.: Pharmacol Biochem Behav, 2001,68,1:157-161 a 1999, 24,1:51-5;
8. Kotlinska J. a Biala G.: Pol. J. Pharmacol, 1999,51:323-330;
9. Kretschmer BD, Bubser M, Schmidt WJ.: Eur J Pharmacol, 1995,280:37-45;
10. Popik P., Wrobel M., and Nowak G.: Neuropharmacology, 2000,39:2278-2287;
11. Sabolová V., Šutiak, V., Dushnik, A.: Informačný spravodajca KVL SR, 2003,5:12-18;
12. Stern P and Stern M.: Experientia, 1974,30,12:1432;
13. Šutiak V.: A concise catalogue of selected pharmaceuticals. UVM Košice 1997:1-27;
14. Šutiak V. Berecký I., Lopuchovský J. a Neuschl J.: A guide-book of prescriptions & practical pharmacological exercises. Datahelp Košice 1997:1-180;
15. Šutiak V. Berecký I., Lopuchovský J. a Kliková K.: A guide-book of prescriptions and practical pharmacological exercises. 2. vyd., Vienala Košice 2002:1-271.

POZNATKY ZO ŠTÚDIA NIEKTORÝCH MOŽNÝCH RIZÍK POUŽÍVANIA OPIOIDOV U ZVIERAT

THE KNOWLEDGE FROM THE STUDIES OF SOME POSSIBLE OPIOID RISKS AT THE USE IN ANIMALS

Šutiaková, I., Šutiak, V., +Poráčová, J., Váczi, P., Puchá, Z.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice, +Prešovská univerzita, Prešov

Abstract

The aim of this work is to summarize the recent findings in the field of neurogenesis and the risk problems of the use of opioids in animals. The brain has traditionally been viewed as largely static organ with respect to its limited cellular turnover and regenerative capacity. The early studies disproved the idea that neurogenesis in the mammalian central nervous system was restricted to the embryonic and early postnatal period. Neurogenesis is a process that involves cell proliferation, migration and differentiation. The rate of neurogenesis can be influenced and regulated in a positive and negative manner by several factors like, age, growth factors, hormones, environmental and pharmacological stimuli. Opioids are powerful analgesics but also drugs of abuse. Recent evidence suggests that opioid may also affect neuronal survival and proliferation or migrating properties of cells.

Keywords: brain, neural stem cells, cell cycle, opioid, genotoxicity

Úvod

Opioidné látky účinkujú v organizme cez opioidné receptory μ -, κ -, δ -, σ -, ϵ -, a prostredníctvom niektorých ďalších receptorov (napr. opioid-like receptorov, Mahajan a kol., 2002, Simon a kol., 1973). Výskumu neurogenézy, tj. rastu nových neurónov v dospelosti sa venuje značná pozornosť, pretože sú potenciálne dôležité v súvislosti s určitými patofyziologickými faktormi pri niektorých degeneratívnych ochoreniach. Totižto používanie niektorých psychotropných látok môže signifikantne zasiahnuť do procesu neurogenézy (Thome a Eisch, 2005). Neurogenéza je proces, ktorý zahŕňa bunkovú proliferáciu, migráciu a diferenciáciu. Nedávne štúdie naznačili, že rýchlosť neurogenézy môže byť regulovaná viacerými faktormi. Neurogenéza môže byť kontrolovaná jednak pozitívnym ale aj negatívnym spôsobom, a to interne (napr. geneticky, vekom, hormónmi, rastovými faktormi, neurotransmitermi), ako aj externými faktormi (environmentálnymi a farmakologickými stimulmi ap. (Duman a kol., 2001, Commiskey a kol., 2005). V uvedenej práci sme sa cielene zamerali na štúdium opioidov a na ich možné genotoxické účinky na organizmus jedinca resp. populácie, ktoré následne môžu vyvolať patologické stavy.

Materiál a metodika

Pri niektorých genotoxických štúdiách in vivo sa často využíva mikrojadrový test u hlodavcov (Schmid, 1975, Fenech a Morley, 1985, Hyashi a kol., 1994, Hamada a kol., 2001). Uvedený test sa najčastejšie uskutočňuje v erytrocytoch kostnej drene ako aj erytrocytoch periférnej krvi u myši a potkanov. Okrem toho sa využívajú v pokusoch aj epiteliálne bunky kolónu čreva, fibroblasty pľúc, keratinocyty pokožky, lymfocyty sleziny (Igarashi a Shimada, 1997, Muller-Tegethoff a kol., 1997 a iní). Pri mikroskopickom hodnotení sa zrelé (normochromatické, NCE) erytrocyty značne líšia od polychromatických erytrocytov (PCE) farbivými vlastnosťami. Pri tomto teste sa určuje počet PCE buniek, kde sa doporučuje určiť 2000 buniek s mikrojadrami na jedno zviera, resp. sledovanú koncentráciu. Počet mikrojadier

pri PCE je ukazovateľom genotoxicity a pomer PCE ku NCE buniek je ukazovateľom cytotoxicity. Vo vzťahu ku neurotrofnej apoptóze sa študujú hlavne kaspázy (caspases), kalpíny (calpains), glykogen-syntáza kináza-3 β a iné ukazovatele (Kajta, 2004).

Diskusia

Liečivá ako xenobiotiká môžu byť absorbované a distribuované diferencovane rôznymi tkanivami v organizme. Xenobiotiká môžu pôsobiť jednotlivo, synergicky alebo inhibične a môžu mať mutagénny, karcinogénny alebo teratogénny efekt na organizmus. Môžu navodiť nekrózu, apoptózu a zasahovať do bunkového cyklu. Za vyššie spomenuté mechanizmy sú zodpovedné gény, pričom existuje značná interindividuálna, intraindividuálna ako aj druhová variabilita na úrovni genotypu a fenotypu (Rockett a kol., 1999, Evans a Johnson, 2001, Aqardema a MacGregor, 2002, Tokalov a kol., 2004). Apoptické bunky môžu byť charakterizované špecifickými morfológickými a biochemickými zmenami, včítane istého bunkového zmrštenia, určitej chromatinovej kondenzácie a intranukleozomálnych štiepení genómovej DNA. Nedávne štúdie naznačili, že práve pri niektorých neurodegeneratívnych chorobách chýbal efektívny apoptický signál, ktorý môže byť novým fenoménom vo vyvarovaní sa označovania ako abortívna apoptóza, alebo abortíza, ktoré konečne viedli ku neuronálnemu prežitiu (Chamond a kol., 1999, Kajta, 2004, Meyer a Gut, 2002, Delogu a kol., 2004, 2005). Tieto poznatky môžu mať postupne významné zastúpenie vo funkčných a terapeutických postupoch v humánnej a veterinárnej medicíne (Mackowiak a kol., 2004). Interakcie opioidov s T-lymfocytmi môžu regulovať bunkový metabolizmus a môžu byť zodpovedné za obidve, genotoxické poškodenia a imunologické efekty z opioidných aduktov (Couch a Sawant, 1995, Sawant a Couch, 1995). Posledne uvádzaní autori sledovali vplyv morfínu *in vitro* v lymfocytoch myší a zistili, že po jeho pôsobení dochádzalo ku genetickému poškodeniu. Loguinov a kol., (2001) v týchto súvislostiach sledoval vplyv morfínu na génovú expresiu, a pritom zaznamenali významné zmeny. Efekt morfínu na génovú expresiu sa prejavoval (aspoň u 4 génov) inhibíciou, alebo aktiváciou. Autori predpokladajú, že oba tieto efekty sú pravdepodobne spojené cez špecifické opioidné receptory, zatiaľ čo interakcia s naloxónom ich chránila. Funkčne tieto gény sú rozdelené na tri skupiny. Jedna skupina zahŕňa proteíny mitochondriálnej funkcie, ďalšiu skupinu tvoria cytoskeletálne proteíny a tretia je heterogénna skupina, kde patria hlavne regulačné proteíny. Z toho vyplýva, že tento prístup môže nielen doplniť farmakologickú analýzu liečiv, ale môže aktuálne byť primárnou metódou pre popis vlastností nových substancií, zvlášť tých, ktoré majú neurotropnú aktivitu a zabezpečujú ciele pre tradičné farmakologické a neurochemické experimenty. Bunkový genóm je kontinuálne podrobený endogénnym a environmentálne indukovaným zmenám. V prostredí sa môžu nachádzať substancie, ktoré v mnohých prípadoch môžu poškodzovať DNA. Taktiež následné znižovanie imunitnej odpovede organizmu môže určitým spôsobom prispieť ku faktorom, ktoré zapríčiňujú genetickú nestabilitu. Aj zneužívanie opioidov, alebo ich dlhodobšie používanie môže k tomu prispieť. Zistilo sa, že fentanyl a pancuronium nemali priamy klastogénny efekt na T-lymfocyty, ale zvyšovali genomovú nestabilitu cez ich telomerové asociácie (Delogu a kol., 2004, Toakalov a kol., 2004). Niektoré toxické, resp. genotoxické účinky adiktívno-omamných látok je možné ovplyvňovať špecifickými antidótami, ako je naloxón, naltrexón a ďalšie. Mnohé štúdie práve naznačujú, že aktivácia N-metyl-D-aspartátových (NMDA) receptorov môže mať kľúčovú úlohu vo vývoji opioidovej tolerancie, závislosti ale rovnako aj abstinenčného syndrómu. Kompetetívni a ne-kompetetívni NMDA receptoroví antagonisti sú schopní blokať vývoj tolerancie ku antinociceptívnemu efektu morfínu a potláčajú vývoj morfínovej závislosti a abstinenčného syndrómu (Kotlinska, 2004). Štúdie interakcií opiátov zvyšujú poznatky o mechanizme účinku psychotropných látok na neurogenézu a bunkový cyklus a tým umožňujú vysvetliť ochranu pred možným

genotoxickým poškodením a zároveň podporujú vývoj terapeutických látok pre klinickú prax (Eisch a kol., 2000, Thome a Eisch, 2005).

POĎAKOVANIE: táto práca bola podporovaná grantom MŠ SR Vega 1-2408-05.

Literatúra

1. AARDEMA, M. J., AND MACGREGOR, J. T.: *Mutat Res.* 2002,499:13-25.
2. COMMISKEY, S., LIR-WAN FAN HO, I. K., ET AL.: *J Pharmacol Sci*, 2005,98:109-116.
3. COUCH, D. B., AND SAWANT, S. G.: *Adv Exp Med Biol.* 1995,373,123-129.
4. CHAMOND, R.R., AÑON,C., PASADES,FG.: *Alergol Immunol Clin*, 1999,14, 6:367-474.
5. DELOGU, G., MORETTI,S., ANTONUCCI,A. ET AL: *J.Trauma*, 2004,57 1:75-1.
6. DELOGU,G., ANTONELLI, A., SIGNORE, M. ET AL: *Acta Anast. Scandinavica*, 2004,48, 8:968-76.
7. DUMAN, R. S., MALBERG, J., NAKAGAWA, S.: *J.Pharmacol Exp Ther*, 2001,299:401-407.
8. EISCH, A. J., BARROT, M., SCHAD, A. T AL.: *PNAS*, 200097, 13, 7579-7584.
9. EVANS ,W. E., JOHNSON, J. A.: *Pharmacogenomics*, 2001, 39:58-65.
10. FENECH,M., MORLEY, A.A.: *Mutat Res*, 1985 147,29-36.
11. HAYASHI,M. et al.: *Mutat Res*, 1994,312,293-304.
12. HAMADA,S., SUTOU,S., MORITA,T., a kol.: *Environ Mol Mutagen*, 2001,37:93-110.
13. KAJTA, M.: *Pol J Pharmacol*, 2004,56:689-700,.
14. KOTLINSKA, J.: *Pol J Pharmacol*, 2004,56:51-57.
15. LOGUINOV, A. V., ANDERSON, L. M., CROSBY, G. J. ET AL.: *Physiol Genomics*, 2001,6,169- 181.
16. IGARASHI ,M., SHIMADA , H.: *Mutat Res*, 1997,391,49-55.
17. MAHAJAN, S.D., SCHWARTZ, S. A., SHANAKAN, T.C., CHAWDA, R.P., NAIR, M.P.: *J Immunol*, 2002169:3589-3599.
18. MEYER, U. A., GUT, J.: *Toxicology* 2002,181-182:463-466.
19. MACKOWIAK, M., CHOCYK, A., MARKOWICZ-KULAS, K. ET AL.: *Pol J Pharmacol*, 2004,56, 673-687.
20. MULLER-TEGETHOFF, K., KERSTEN,B., KASPER,P., MULLER, L.: *Mutat Res*, 1997,392:125- 138.
21. ROCKETT, J. C., ESDAILE, D.J., GIBSON, GG.: *Xenobiotica*, 1999, 29,7,655-691.
22. SAWANT, SG, COUCH, DB.: *Environ Mol Mutagen*, 1995,25,279-283.
23. SCHMID, W.: *Mutat Res*, 1975,31,9-15.
24. SIMON,EJ., HILLER,JM., EDELMAN,I: *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973,70,1947-1949.
25. THOME,J., EISCH, A.J.: *Nervenarzt*, 2005,76,1,11-19.
26. TOKALOV, S. V., HENKER,Y, SCHWAB, P., ET AL: *Pharmacology*, 2004,71,1,46-56.

ODRODOVÁ ZÁVISLOSŤ OBSAHU POLYFENOLICKÝCH LÁTOK V HRACHU SIATOM (PISUM SATIVUM L.)

CULTIVAR'S DEPENDENCE OF PHENOLIC SUBSTANCES CONTENT IN PEA (PISUM SATIVUM L.)

Timoracká, M., Bystrická, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra

Abstract

Concentrations of flavonoids were studied in different varieties of pea (*Pisum sativum*). The flavonoids – genistein, daizein, apigenin, kaempferol – were determined as aglycons according to [1] with some modifications. Acid hydrolysis was chosen to convert the selected flavonoids conjugates into their aglycons. Undesirable interfering compounds were cleared out from extract by refining at SPE column. High performance liquid chromatography with diode array detection for the flavonoid analysis was used.

At the same time, the total contents of polyphenolics were determined. The total polyphenol content was estimated using Folin-Ciocalteus phenol reagent on the spectrophotometer Shimadzu (Japan), measured at 765 nm of wavelength and expressed in mg tannin per kg DM.

Key words: flavonoids, pea, total polyphenols, HPLC DAD

Úvod

Strukoviny všeobecne patria medzi najhodnotnejšie rastlinné potraviny s preukaznými pozitívnymi účinkami na zdravie človeka. Najfrekvencovanejšou jedlou strukovinou v strednej Európe je hrach, ktorý je neoddeliteľnou súčasťou jedálneho lístka v rôznych kulinárskych úpravách. Obľúbený je nielen pre jednoduchú prípravu, príjemnú chuť, ale aj pre nenáročnosť pestovania. Hrach sa u nás pestuje pre struky a suché semená, ktorých skladba živín je dlho oceňovaná z hľadiska výživy.

Hrach však obsahuje aj rôzne prirodzene toxické látky, ktoré môžu znižovať jeho nutritívnu hodnotu a použitie. Z hľadiska ľudskej výživy a pri kŕmení zvierat je na závažnú obavu obsah látok antinutričnej povahy – polyfenolov (znižujú stráviteľnosť bielkovín, využitelnosť Fe, glukózy a vitamínu B12) a izoflavónov (u zvierat spôsobujú poruchy reprodukcie). Polyfenolické látky sú prirodzené zložky prítomné v každej vyššej rastline a v každom orgáne ako sekundárne metabolity. Ak je obsah polyfenolických látok v strukovinách príliš vysoký, redukuje sa rôznymi spôsobmi (extrakcia, namáčanie, fermentácia, pôsobenie chemikálií a kombinácia týchto procesov). V súčasnosti sa zintenzívnil vedecký záujem o polyfenolické zlúčeniny pre ich antioxidantné vlastnosti, zastúpenie v strave a potenciálnu úlohu v prevencii niektorých druhov ochorení spájaných s oxidačným stresom. Polyfenolický komplex strukovín, vrátane hrachu, je tvorený flavónmi, flavonolmi a izoflavónmi, ktoré patria do najpočetnejšej skupiny, tzv. flavonoidov.

O fenolickej skladbe a obsahu fenolov v semenách hrachu je veľmi málo publikovaných prác. Z tohto dôvodu bola naša pozornosť zameraná na stanovenie obsahu 4 vybraných predstaviteľov jednotlivých skupín flavonoidov, a to zo skupiny izoflavónov (daidzeín, genisteín), flavonolov (kaempferol) a flavónov (apigenín). Zároveň sa stanovil a porovnával celkový obsah polyfenolov medzi farebnými typmi hrachu, a to medzi 3 odrodami žltosemenných hrachov: Svit, Jantár, Xantos, a 3 odrodami zelenosemenných hrachov: Jadeit, Achát, Olivín. Celkový obsah polyfenolov bol stanovený spektrofotometricky použitím Folin-Ciocalteouvho činidla a vyjadrený ako mg tanínu na kg suchého materiálu.

Materiál a metodika

- 6 odrôd hrachu z pestovateľskej oblasti Legusem a. s., Horná Streda
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Merck, Germany)
- metanol grade HPLC (Sigma-Aldrich, U.S.A)
- štandardy daidzeínu, genisteínu, apigenínu a kemferolu boli dodané v kryštalickej forme, 99% čistota (Fluka, Switzerland),
- tannin, p.a. (Merck, Germany)
- ostatné použité chemikálie p.a. čistoty boli zakúpené od dodávateľskej firmy Slavus, Slovensko.

Stanovenie flavonoidov

Flavonoidy – daidzeín, genisteín, kemferol a apigenín - boli stanovené ako aglykóny nami modifikovanou metódou podľa Wanga (1990). 10 g suchej, rozomletej vzorky boli prenesené do uzatvárateľnej Erlenmayerovej banky, ktorá obsahovala 50 cm³ HCl (c = 1 mol.dm⁻³). Po 2 hodinách hydrolýzy pri 100 °C a následnom ochladiení extraktu bol pridaný metanol (24 cm³). Po premiešaní bol extrakt filtrovaný za vákua (filtr. papier N^o 388) a zakoncentrovaný na vákuovej odparke. Metanolové extrakty boli prečistené SPE kolónkou (extrakcia na tuhej fáze). Kolónka (Sep-Pak C18, Waters) bola pred použitím kondicionovaná 5 cm³ metanolu, 5 cm³ destilovanej vody a následne bola nanosená vzorka. V ďalšom kroku boli destilovanou vodou vymývané nežiadúce interferujúce zložky. Izoflavóny boli eluované metanolom, eluát bol odparený dosucha a rozpustený v 2 cm³ mobilnej fázy.

Flavonoidy boli stanovené pomocou prístroja pre HPLC (Agilent Technologies, U.S.A) s použitím DAD detektora. Všetky vzorky extraktov boli prefiltrované cez 0,22 µm membránové filtre (Millipore, U.S.A.) a filtrát (20 µl) bol nastrekovaný na kolónu RP C18 (150x 3,9mm) s predkolónou s tou istou stacionárnou fázou. Bola použitá izokratická elúcia s mobilnou fázou metanol : 1mM octan amónny (6:4) pri prietoku 1 ml.min⁻¹. Identifikácia a kvantifikácia flavonoidov bola založená na porovnávaní retenčných časov UV spektier so spektrami komerčných štandardov.

Stanovenie celkových polyfenolov

Návažka 10 g rozomletej vzorky sóje bola daná do patróny Twisselmannovho extrakčného prístroja a extrahovaná 80 % (v/v) etanolom po dobu 18 hodín. Extrakt bol prevedený do 250 cm³ odmernej banky a doplnený extrakčným činidlom po rysku (Lachman, 2003).

Pre meranie obsahu celkových polyfenolov bola použitá metóda podľa Lachmana et al. (1996, 2003). Alikvotná časť extraktu bola pipetovaná do 50 cm³ odmernej banky a zriedená destilovanou vodou. K zriedenej vzorke bolo pridané 2,5 cm³ Folin- Ciocalteuovho činidla, po 3 min. státi 20 % roztok Na₂CO₃ a objem bol doplnený po rysku destilovanou vodou. Vzorka bola dôkladne premiešaná a ponechaná pri laboratórnej teplote 2 hodiny k vyfarbeniu. Rovnakým spôsobom bol pripravený slepý pokus a kalibračný graf so štandardnými roztokmi tanínu. Absorbancia bola meraná na spektrofotometri Shimadzu 1024 (Japonsko) oproti slepému pokusu pri vlnovej dĺžke 765 nm. Získané údaje boli prepočítané a hodnoty obsahu polyfenolov boli vyjadrené ako mg tanínu na kg sušiny pôvodnej vzorky.

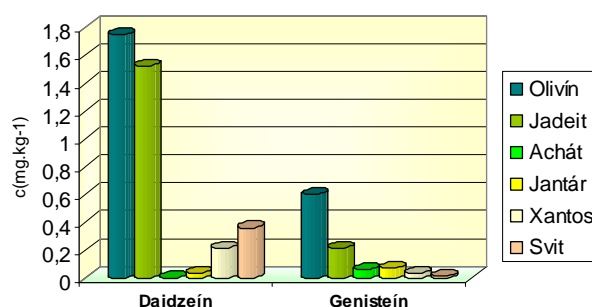
Výsledky a diskusia

Tab. 1 Obsah celkových polyfenolov v semenách suchého hrachu prepočítaný na obsah tanínu (mg.kg^{-1})

Strukovina	Odroda	Obsah tanínu
Hrach siaty	Jadeit	17,108
	Achát	16,645
	Olivín	14,418
	Jantár	12,083
	Svit	12,375
	Xantos	14,100

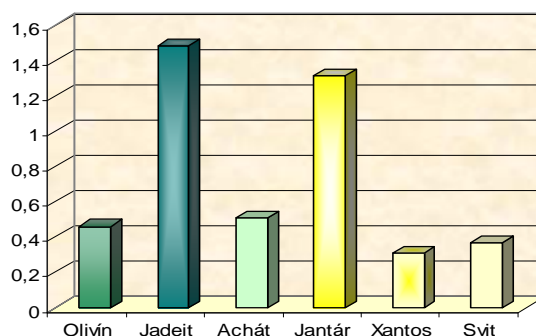
Pri porovnávaní stanovených hodnôt v hrachu pestovanom v lokalite Horná Streda možno vidieť, že obsahy polyfenolov medzi typmi a jednotlivými odrodami sú porovnateľné. Z literárneho prehľadu sú známe zistenia štatisticky preukazných rozdielov v obsahoch polyfenolov medzi bielymi a farebnými typmi strukovín. Náš predpoklad podobného rozdielu iba medzi farebnými typmi hrachu nebol síce významne potvrdený, ale môžeme konštatovať, že zelené odrody majú vyšší obsah CP ako žlté odrody hrachu. Najbohatšími zdrojmi polyfenolov boli odrody Jadeit spomedzi zelených a odroda Xantos spomedzi žltých hrachov.

Obr. 1 Grafická závislosť obsahu izoflavónov (mg.kg^{-1}) v jednotlivých odrodách hrachu

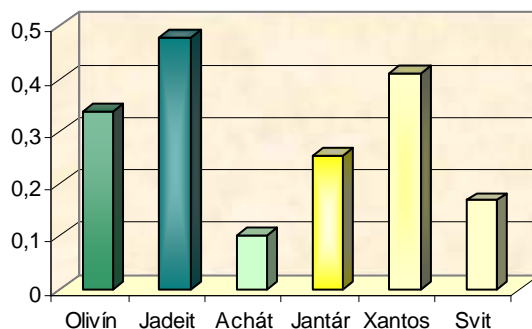


Výsledky získané meraním 2 izoflavónov naznačujú podstatne vyššie hodnoty obsahu daidzeínu i genisteínu v zelených hrachoch odrody Olivín a Jadeit v porovnaní so žltosemennými odrodami, s výnimkou odrody ACHÁT, kde boli hodnoty obsahu daidzeínu pod hranicou detekcie. Zaujímavé je pozorovanie v obsahoch izoflavónov: všetky odrody obsahujú preukazne vyššie množstvo daidzeínu ako genisteínu.

Obr. 2 Grafická závislosť obsahu kemferolu (mg.kg^{-1}) v jednotlivých odrodách hrachu



Obr. 3 Grafická závislosť obsahu apigenínu ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v jednotlivých odrodách hrachu



Z grafickej závislosti obsahu kemferolu môžeme vidieť, že maximálna hodnota u zelenosemenných hrachov sa dosiahla u odrody Jadeit, u žltých odrôd je to odroda Xantos. Dosiagnuté hodnoty sú štatisticky významné v porovnaní s hladinami kemferolu u zostávajúcich odrôd, ktoré sa prakticky nelíšia.

V prípade apigenínu je to opäť odroda Jadeit a Xantos, ale preukazné rozdiely v obsahu tejto zložky medzi odrodami sa nezistili.

Záver

Získané poznatky sú dôležité pre pochopenie vstupu polyfenolických látok do potravinového reťazca. Porovnaním údajov z dosiahnutých výsledkov sa najbohatšou z hľadiska obsahu celkových polyfenolov i jednotlivých flavonoidov javí odroda JADEIT. Súčasne môžeme konštatovať, že hrach má veľké rozdiely vo fenolickej skladbe nezávisle na type odrody. Pre vyvodenie jednoznačných záverov by bolo vhodné sledovať väčší súbor semien hrachu.

Literatúra

1. Wang, G. et al. 1990. In: J. Agric. Food Chem., 38, 1990, p. 185-190.
2. Lachman, J. et al. 2003. In: Vitamins 2003 – Přírodní antioxidanty a volné radikály. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003, s. 89-97. ISBN 80-7194-549-8

Táto práca bola podporovaná štátnym programom výskumu a vývoja „Potraviny – kvalita a bezpečnosť“ číslo 2003SP270280E010280E01.

TOXICKÉ ÚČINKY VYBRANÝCH KOVOV ZISTENÉ V EXPERIMENTOCH

TOXIC EFFECTS OF SELECTED METALS FOUND IN THE EXPERIMENTS

Toman, R., Massányi, P., Lukáč, N., Bábiková, L., Capcarová, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Abstract

In the study, the changes in selected internal organs after an administration of lead, cadmium, nickel and cobalt were evaluated. Rats received lead (PbNO_3) in single i.p. dose 50 mg/kg, 25 mg/kg and 12.5 mg/kg b.w. and were killed 48 h following lead administration. The changes in the ICR mouse testes and kidney were examined after 3, 6, 9 and 12 weeks of cadmium (CdCl_2) administration at a daily peroral dose 1 mg/kg b.w. in feed pellets. Hamsters received cobalt (CoCl_2) in a single intraperitoneal dose 20 mg/kg, 10 mg/kg and 5 mg CoCl_2/kg b.w. and were killed 48 hours after the Co administration. Adult mice were injected intraperitoneally with a single nickel dose (NiCl_2) of 20 and 40 mg/kg b.w. Animals were killed 48 hours after Ni application. Next group of ICR mice aged 4 weeks were given nickel in a daily peroral dose of 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ body weight. After 3, 6, 9 and 12 weeks of nickel exposure the animals were killed.

After the lead administration dilated Bowman's capsules and blood vessels in interstitium of kidney with evident hemorrhagic alterations were noted. In testes dilatation of blood capillaries in interstitium, undulation of basal membrane and occurrence of empty spaces in seminiferous epithelium were detected. An apoptosis assay confirmed increased incidence of apoptosis in the spermatogenic cells after the lead administration. The degeneration of the glomeruli and necrosis of the tubules was seen in the mouse kidney after 9 and 12 weeks of Cd intake. The necrotized epithelium covered 20.40% and 50.95% of the kidney tissue after 9 and 12 weeks of Cd intake, respectively. The interstitium and blood capillaries volume increased significantly ($P < 0.001$) in all Cd-treated groups. In the liver, necrosis of the hepatocytes and granulocytes accumulation around the central vein, sinusoidal congestion and haemorrhage in liver after 9 and 12 weeks were observed. Histopathological examination of the testis structures revealed degeneration of the seminiferous epithelium after 9 and 12 weeks of Cd administration. The vacuolization of the epithelium and degeneration of the spermatogonia were apparent. Pyknosis and necrosis of the evacuated germinative cells takes place in the testes. In the epididymes, the shrunken tubules contained small amount of spermatozoa or were empty after 9 weeks of Cd intake. After 12 weeks of Cd intake the epididymal tubules were almost empty. 48 hours after a cobalt administration, a dilatation of blood capillaries in interstitium, undulation of basal membrane and occurrence of an empty spaces in the seminiferous epithelium were detected. In both intraperitoneally Ni-treated groups a significant ($P < 0.001$) decrease of germinal epithelium in comparison with control group is reported. The qualitative analysis detected dilatation of blood vessels in interstitium, undulation of basal membrane and some empty spaces occurred in germinal epithelium. The immunochemistry detected higher apoptosis in interstitium of nickel administered animals in comparison with control group. The damage of seminiferous epithelium on the periphery of testis was found after 3 weeks of nickel intake in food. The more visible changes were observed after 6 weeks of Ni exposure. Germ cells were evacuated from the basal membrane of the tubules and necrotized. However, normal tubules with spermatogenesis in the centre of the testis were observed. After 9 weeks of the experiment, the germinal epithelium with disintegrated cells was completely detached from the basal membrane. Mass of dead cells in the lumen of some tubules was also observed. These results indicate that lead, cadmium, cobalt and nickel are able to impact the structure of the testes, epididymes, kidney and liver no matter if administered intraperitoneally or orally which may lead to the health injury and male infertility.

Key words : cadmium, lead, cobalt, nickel, internal organs, structure, toxicity

Úvod

Olovo a kadmium sú toxické kovy, ktoré pôsobia toxicky aj pri nízkych expozíciách. Účinkom olova nastáva porucha nervového systému, hypertenzia a poškodenie obličiek (Papanikolaou et al., 2005; Soyak et al., 2006). Absorpcia Pb v tráviacom systéme závisí na veku a výžive. Vstrebávanie olova v čreve ovplyvňuje železo a vápnik, pri nedostatku týchto prvkov v potrave sa zvyšuje vstrebávanie olova (Ziegler et al., 1978; Mahaffey et al., 1968; Bogden et al.). Kadmium vyvoláva v organizme živočíchov mnohé patologické procesy. Škodlivé účinky sa prejavujú ak živočích prijme vyššiu dávku kovu, ako je podprahová dávka. Jeho účinok závisí na koncentrácii v cieľovom orgáne. Kadmium tak môže byť etiologickým faktorom napr. renálnej dysfunkcie, zvýšenia krvného tlaku, arteriosklerózy, kardiovaskulárnych ochorení, poškodenia funkcie centrálného nervového systému, dysfunkcie pečene, bronchopneumónie, testikulárnej nekrózy a iných porúch. Kadmium inhibuje rast, má aj teratogénne účinky, vyvoláva tvorbu a rast nádorov (Sokol et al., 1998a). Prenikanie leukocytov (hlavne neutrofilov) na miesta poškodeného tkaniva zvnútra pečene počas intoxikácie kadmiumom je sprostredkované priľnavosťou molekúl, zatiaľ však existuje málo poznatkov o expresii týchto buniek počas intoxikácie pečene kadmiumom (Mousa, 2004).

Kobalt a nikel sa na rozdiel od olova považujú za kovy potrebné v nepatrných množstvách pre organizmus (Kacmar et al., 1999). Kobalt však pri vyšších dávkach pôsobí embryotoxicky a teratogénne, poškodzuje plodnosť, dochádza k zníženiu hmotnosti semenníkov, koncentrácie spermií a ich pohyblivosti (Pedigo et al., 1988; Szakmary et al., 2001; Grasselli et al., 2005). Nikel sa aj napriek svojej esencialite pre živočíšny organizmus považuje za jeden z najvýznamnejších kontaminantov prostredia. Pôsobí toxicky na niekoľko orgánov a systémov organizmu. Pandley et al. (1999) a Kekela et al. (1999) popísali histopatologické zmeny semenníkov, prisemenníkov a mechúrikovitej žľazy, ako aj poškodenie morfológie spermií. Nikel vplýva tiež negatívne na produkciu testosterónu (Forgacs et al., 1998, 2001). Jedným z cieľových orgánov toxicity niklu sú aj obličky (Goyer, 1991).

Cieľom práce bolo zhodnotiť účinky olova, kadmia, niklu a kobaltu na úrovni histopatologických zmien vo vnútorných orgánoch experimentálnych hlodavcov po jednorazovom a dlhodobom podávaní.

Materiál a metodika

V experimente s olovom sme použili 17 dospelých potkanov línie Wistar, ktorých sme rozdelili do 4 skupín (A – i.p. PbNO_3 v dávke 50 mg.kg^{-1} , B - i.p. PbNO_3 v dávke 25 mg.kg^{-1} , C - i.p. PbNO_3 v dávke $12,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ž.h., K – kontrola). Po 48 hodinách od podania jednorazovej dávky Pb sa tvieratá usmrtili a odobrali sa vzorky obličiek a semenníkov na histologické hodnotenie zmien tkanív a zisťovanie apoptózy.

Kobalt (CoCl_2) sme aplikovali dospelým samcom chrčka zlatého v jednorazovej i.p. dávke 20 mg.kg^{-1} (skupina A – 5 ks), 10 mg.kg^{-1} (skupina B – 5 ks) a 5 mg.kg^{-1} ž.h. (skupina C – 5 ks). Ako kontrolná skupina (K) slúžilo 6 ks samcov. Po 48 hod. od podania kobaltu sa odobrali vzorky semenníkov na histologické hodnotenie.

Pri skúmaní účinkov niklu sme aplikovali NiCl_2 dospelým samcom myši línie ICR v jednorazovej i.p. dávke 20 mg.kg^{-1} (A skupina, 5 ks) a 40 mg.kg^{-1} ž.h. (B skupina, 5 ks). 5 ks samcov tvorilo kontrolnú skupinu (K). Po 48 hodinách sa odobrali vzorky semenníkov na histologické hodnotenie zmien a dôkaz apoptózy. Nikel sme ďalej aplikovali samcom myši od odstavu počas 3, 6, 9 a 12 týždňoch (5 samcov v každej skupine) v dennej p.o. dávke 10 mg.kg^{-1} ž.h. v krmive. Po skončení podávania Ni sa v jednotlivých pokusných a v zodpovedajúcich kontrolných skupinách odobrali vzorky semenníkov na histologické hodnotenie zmien.

Kadmium sme aplikovali myšiam ICR perorálne v dennej dávke 1 mg.kg^{-1} ž.h. v krmive od odstavu počas 3, 6, 9 a 12 týždňov (v každej skupine po 5 ks). Po skončení aplikácie sa odobrali

vzorky pečene, obličiek, semenníkov a prisemenníkov na zisťovanie histologických zmien. Podobne sme zhodnotili stav orgánov kontrolných zvierat po 3, 6, 9 a 12 týždňoch od odstavu (v každej skupine po 5 ks).

Na histologických preparátoch kontrolných a pokusných zvierat po podaní jednotlivých kovov sa hodnotila stavba a zasúpenie jednotlivých štruktúr skúmaných orgánov kontrolných a pokusných zvierat pomocou svetelného mikroskopu a morfometrické ukazovatele špecializovaným softvérom MicroImage 4.0. Apoptóza sa zisťovala pomocou setu Mebstain na detekciu reakcie TUNEL a prostredníctvom fluorescenčného mikroskopu Leica.

Výsledky a diskusia

Olovo

Po aplikácii olova potkanom sme zaznamenali rozšírenie Bowmanovho púzdra a krvných kapilár v interstíciu. U profesionálne exponovaných pracovníkov sa zistila nefropatia, ktorá sa prejavila poškodením proximálnych kanálikov nefrónu, skleróze glomerulov a intersticiálnou fibrózou. Tieto zmeny viedli k proteinúrii, zmene transportu glukózy a organických aniónov a znížil sa stupeň filtrácie (Diamond, 2005). Morfometrická analýza podporila naše histopatologické nálezy. Zistili sme zvýšenie relatívneho objemu interstícia (z 2,69% na 3,30%) po podaní Pb v dávke 50 mg.kg^{-1} (skupina A) a zväčšenie relatívneho objemu kanálikov vo všetkých pokusných skupinách (z kontrolných 91,76% na 92,28% - A skupina, 94,50% - B skupina a 93,46% - C skupina). Preukazné zväčšenie priemeru obličkových teliesok z $82,41 \mu\text{m}$ na $100,10 \mu\text{m}$ a glomerulov zo $66,15 \mu\text{m}$ na $77,40 \mu\text{m}$ sme zistili v skupine A. Priemer kanálikov nefrónu preukazne vzrástol z $34,52 \mu\text{m}$ na $41,86 \mu\text{m}$ v skupine s najvyššou dávkou olova. Vargas et al. (2005) opísali zmeny funkcie obličiek po injekčnom podaní octanu olovnateho, ktoré sa prejavili znížením vylučovania sodíka po 6 hodinách od podania a táto zmena pretrvávala počas 24 hodín.

Toxické účinky olova na semenníky sú slabšie opísané. V semenníkoch potkanov po podaní olova sme zistili pokles objemu semenotvorného epitelu z kontrolných 77,49% na 73,45% (A skupina), 70,51% (B skupina) a 75,46% (C skupina, $P < 0,05$). Zároveň však došlo k preukaznému poklesu objemu interstícia a zväčšeniu objemu lúmenu kanálikov semenníka. Cievky vo väzive boli rozšírené, čo naznačovalo edematizáciu semenníka. Po aplikácii olova sme zistili tiež zvýšený výskyt apoptózy semenotvorných buniek. Ghelberg a Bordas (1981) opísali zníženie veľkosti semenotvorných kanálikov, zníženie množstva buniek v epiteli, poškodenie spermatocytov a spermatíd a edém interstícia. V našich predchádzajúcich experimentoch sme zistili negatívny vplyv Pb na kvalitu spermíí (Massányi et al., 2003, 2005).

Kadmium

Oblička je kritický orgán pri expozícii kadmia. Po podávaní $1 \text{ mgCd.kg}^{-1} \text{ per os}$ myšiam sme zaznamenali významné zmeny v obličkách po 9 a 12 týždňoch. Pozorovali sme nekrózu epitelu proximálnych kanálikov nefrónu a degeneráciu glomerulov. Kaur et al. (2006) zistili zmeny v obličkách po subkutánnom podávaní kadmia v dennej dávke $0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$ 5 dní počas 12 týždňov. Taktiež pozorovali degeneráciu proximálnych kanálikov nefrónu. Histologické nálezy sme potvrdili morfometrickým hodnotením. Relatívny objem glomerulov klesol vo všetkých pokusných skupinách s preukaznými rozdielmi po 9 ($P < 0,01$) a 12 (0,001) týždňoch podávania Cd. Jančová et al. (2001) zistili vyššie zastúpenie glomerulov obličiek hlodavcov *Apodemus sylvaticus* a *Apodemus flavicolis*, ako v našom prípade. Gálková et al. (2001, 2002) zistili v kontaminovaných oblastiach nárast objemu glomerulov králikov a hovädzieho dobytku. V pokusných skupinách po 9 a 12 týždňoch sme zaznamenali aj pokles objemu epitelu a lúmenu kanálikov nefrónu. Nekrotizovaný epitel tvoril po 12 týždňoch podávania Cd až

50,95% celkového objemu tkaniva obličiek. Relatívny objem interstícia a krvných ciev vzrástol.

Pri pozorovaní mikroskopickej stavby pečene pokusných zvierat sme po 9 týždňoch podávania kadmia pozorovali poškodené pečefňové bunky. Histologická stavba poškodenej pečene prezrádza, že akútna toxicita pozostáva z hepatocelulárneho nabobtnania, prekrvenia sínusoidov, pyknózy a karyorexie (Dudley et al., 1984). Tieto bunkové zmeny môžu mať za následok apoptózu a nekrózu tkanív (Habeebu et al., 1998). V našom prípade sme v blízkosti centrálnej žily pozorovali nekrózu hepatocytov. Po 12 týždňoch pokusu sme v oblasti centrálnej žily pozorovali pasívne prekrvenie tkaniva pečene, ktoré prerástlo až do rozsiahleho krvácania. V blízkosti centrálnej žily sme pozorovali nahromadené granulocyty.

V semenníkoch myší sme pozorovali degeneráciu semenotvorného epitelu po 9 a 12 týždňoch podávania kadmia. Epitel bol vakuolizovaný a degenerácia sa vyskytovala najmä v generácii spermatogónií. Zároveň sme zaznamenali pyknózu a nekrózu buniek uvoľnených do lúmenu kanálikov. Tieto zmeny boli výraznejšie po 12 týždňoch podávania kadmia. Opísané nálezy sú v zhode s našimi predchádzajúcimi výsledkami, kedy sme zisťovali akútne pôsobenie kadmia. Toman et al. (2002) ďalej aplikovali králikom dávku $2,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živej hmotnosti. Po 48 hodinách morfometrická analýza semenníkov dokázala, že došlo k preukaznému zníženiu semenotvorného epitelu a preukaznému zvýšeniu objemu interstícia oproti kontrolným zvieratám. K podobným výsledkom, ako v našom experimente, sa dopracovali v pokuse s dlhodobým podávaním kadmia králikom aj Toman a Massányi (1997). Lymberopoulos et al. (2003) počas pokusu, v ktorom aplikovali baranom vo veku 3 mesiacov perorálne v krmive dávku $3 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{kg}^{-1}$ živej hmotnosti po dobu 7 mesiacov, zistili zníženie hladiny testosterónu v plazme. Histopatologické vyšetrenie odhalilo prítomnosť lézií v semenníkoch zvierat, ktoré boli vystavené príjmu kadmia. Lézie boli lokalizované v Sertoliho bunkách, semenotvorných kanálikoch, primárnych a sekundárnych spermatocytoch, zatiaľ čo Leydigove bunky nevykazovali známky poškodenia. V prisemenníkoch sa nachádzali scvrknuté kanáliky s malým množstvom spermií po 9 týždňoch. V ďalšom období boli kanáliky prisemenníka väčšinou prázdne. Intersticiálne väzivo sa rozšírilo. Wade et al. (2002) v experimente na samcoch potkana so zmesou škodlivých látok, ktorá okrem iného obsahovala aj kadmium, zistili naopak v závislosti od použitej dávky nepreukazný, no zvýšený obsah spermií v prisemenníkoch pokusných zvierat. Spermie, ktoré sa nachádzali v prisemenníkoch týchto zvierat, mali zvýšenú hustotu chromatinu. El-Demerdash (2004) v pokuse so samcami potkana zistil, že aplikácia CdCl_2 mala za následok zvýšené množstvo mŕtvych spermií alebo spermií s vývojovými anomáliami v prisemenníkoch pokusných potkanov.

Kobalt

Po podaní kobaltu chrčkom sme zistili rozšírenie krvných kapilár v interstíciu semenníkov, zvlhnenie bazálnej membrány semenotvorných kanálikov a prázdne miesta v semenotvornom epiteli. Chronický príjem kobaltu výrazne vplýva na reprodukčnú schopnosť samcov na rozdiel od akútnych účinkov, ktoré majú iba minimálny vplyv. Po akútnom podaní kobaltu a následnom vyšetrení ejakulátu v týždenných intervaloch nenastali žiadne zmeny koncentrácie spermií v prisemeníku, ani hmotnosti semenníka (Pedigo et al., 1994). Chronické účinky Co na semenníky hlodavcov študovali Anderson et al. (1993). Kobalt spôsobil vykuolizáciu Sertoliho buniek a tvorbu abnormálnych jadier spermatíd. Postupná degenerácia sa prejavila akumuláciou kalcifikovanej nekrotickej hmoty. Endotelové bunky kapilár semenníka zhrubli. Vo všetkých pokusných skupinách sme morfometrickou analýzou potvrdili výsledky mikroskopického pozorovania. Relatívny objem semenotvorného epitelu preukazne klesol zo 72,48% na 58,58% (A skupina), 67,84% (B skupina) a 68,48% (C skupina). Naopak, intersticiálne väzivo zvýšilo svoj objem z 9,95% u kontroly na 22,56% (A skupina), 19,64% (B skupina) a 19,65% (C skupina). Priemer semenotvorných kanálikov vzrástol vo všetkých

pokusných skupinách a najväčší nárast sme zaznamenali po podaní dávky kobaltu $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (zo $166,24 \mu\text{m}$ na $191,82 \mu\text{m}$). Kobalt je cytotoxický a prestupuje do zárodočného epitelu semenníkov (Edel et al., 1994).

Nikel

Po jednorazovom i.p. podaní niklu došlo v semenníkoch myší k preukaznému ($P < 0,001$) poklesu relatívneho objemu semenotvorného epitelu v oboch pokusných skupinách z kontrolných 79,95% na 75,12% (A skupina) a 70,17% (B skupina). V experimentálnych skupinách sme zaznamenali zároveň nepreukazný nárast zastúpenia interstícia. V interstíciu sme pozorovali rozšírené krvné kapiláry, bazálna membrána kanálikov bola zvltná a v semenotvornom epiteli sa nachádzali prázdne miesta. Imunohistochemickými metódami sme zistili vyšší výskyt apoptózy buniek v interstíciu po podaní Ni. zaznamenali sme tiež zmenšenie priemeru semenotvorných kanálikov pokusných samcov. Ak sme podávali myšiam nikel v potrave počas dlhšieho obdobia, prvé znaky poškodenia semenotvorného epitelu sme zistili už po 3 týždňoch podávania $10 \text{ mgNi} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž.h. Zmeny boli viditeľnejšie najmä na periférii semenníka po 6 týždňoch podávania Ni, kedy zo semenotvorného epitelu vypadávali zárodočné bunky a v niektorých kanálikoch sa nachádzala masa buniek v lúmene. Po 9 a 12 týždňoch podávania Ni sme zistili odlúpnutý epitel v kanálikoch a masu odumretých buniek. V interstíciu sme však pozorovali väčšie množstvo krvných ciev po podaní niklu. Nikel poškodzuje štruktúru semenníka. Naše výsledky naznačujú možnosť priameho poškodzovania semenotvorného epitelu a vplyv na intersticiálne Leydigove bunky, kde sme zaznamenali zvýšenú apoptózu. Pandey et al. (1999) zistili zmeny hmotnosti semenníka, prisemenníka a prostaty po perorálnom podávaní niklu. Okrem histologických zmien semenníka a prisemenníka zistili poruchy vývoja spermíí. Výsledky práce, ktorú publikovali Forgács et al. (1998), uvádzajú na dávke závislý pokles produkcie testosterónu stimulovanej hCG. Určitú ochrannú úlohu pri inhibícii produkcie testosterónu niklom prejavujú aminokyseliny, ktoré viažu nikel. Ako účinnejšia sa ukázal histidín v porovnaní s cysteínom (Forgács et al., 2001). Vyššiu hladinu niklu sme zaznamenali v predchádzajúcich prácach v ejakulátoch lišiaka a barana v porovnaní s býkom a kancom. Vyšší výskyt Ni v ejakuláte zároveň pozitívne koreloval s vyšším výskytom oddeleného bičíka spermíí (Massányi et al., 2003, 2004a,b).

Záver

Experimentálnym podávaním kadmia, olova, kobaltu a niklu dochádza k výrazným zmenám štruktúry semenníkov, prisemenníkov, pečene a obličiek pokusných hlodavcov. Najčastejšie sa vyskytuje nekróza epitelu a poškodenie cievneho systému sledovaných orgánov, čo vedie k poruchám ich funkcie. Zistené histologické zmeny sa potvrdili aj morfometrickým hodnotením tkanív. Všeobecne možno konštatovať, že účinok sledovaných kovov na vybrané orgány je z hľadiska štruktúrnych zmien veľmi podobný.

Literatúra

1. Anderson, M.B., Lepak, K., Farinas, V. et al.: *Reprod. Toxicol.*, roč. 7, 1993, s. 49-54.
2. Bogden, J.D., Gertner, S.B., Christakos, S. *J. Nutr.*, roč. 122, 1992, s. 1351-1360.
3. Diamond, G.L. Risk assessment of nephrotoxic metals. In: Tarloff, J.; Lash, L. (eds.) *The toxicology of the kidney*. London, England, CRC Press, 2005, 1099-1132.
4. Dudley, R.E. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, roč. 76, 1984, s. 150-160.
5. El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Kedwany, F.S. et al.: *Food Chem. Toxicol.*, roč. 42, 2004, s. 1563-1571.
6. Edel, J., Pozzi, G., Sabbioni, E. et al.: *Sci. Total Environ.*, roč. 150, 1994, s. 233-244.
7. Forgács, Z., Paksy, K., Lazar, P. et al.: *J. Toxicol. Environ. Health*, roč. A55, 1998, s. 101-112.

8. Forgács, Z., Nemethy, Z., Revesz, C. et al.: *J. Toxicol. Environ. Health*, roč. A62, 2001, s. 349–358.
9. Gálová, J., Uhrín, V., Pivko, J. et al.: Effect of contaminants on the kidney microscopic structure. Risk factors of food chain. Nitra: SPU, 2001, s.34-36.
10. Gálová, J., Uhrín, V., Pivko, J.: Histological changes in the liver and kidney of the cattle bred in Spišské Vlachy. Risk factors of food chain. Nitra: SPU, 2002, s.33-36.
11. Ghelberg, N.W., Bordas, E.: *J. Appl. Toxicol.*, roč. 1, 1981, s. 284-286.
12. Goyer, R.: Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology, 4th ed. Amdur, M.O., Doull, J. D., Klaassen, C. D. (Eds.). Pergamon Press, New York. 1991, 623–680.
13. Grasselli, F., Basini, G., Bussolati, S. et al.: *Reprod. Fertil. Develop.*, roč. 17, 2005, s. 715-720.
14. Habeebu, S.S. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, roč. 149, 1998, s. 203–209.
15. Jančová, A., Massányi, P., Uhrín, V.: Morphometric analysis of the kidney of *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicolis*. New knowledge in morphology. Martin: JLF UK, 2001, s. 78-79.
16. Kacmar, P., Pistl, J., Mikula, I.: *Acta Vet. Brno*, roč. 68, 1999, s. 57-79.
17. Kakela, R., Kakela, A., Hyvarinen, H.: *Comp. Biochem. Physiol. C*, roč. 123, 1999, s. 27-37.
18. Kaur, J., Sharma, N., Attri, S. et al.: *Mol. Cell. Biochem.*, roč. 283, 2006, s. 169-179.
19. Lukac, N., Massanyi, P., Zakrewski, M. et al.: *J. Environ. Sci. Health*, roč. A42, 2007, accepted for publication.
20. Lymberopoulos, A.G., Kotsaki-Kovatsi, V.P., Papaioannou, N. et al.: *Small Rum. Res.*, roč. 49, 2003, s. 51-60.
21. Mahaffey, K.R., Gartside, P.S., Glueck, C.J.: *Pediatrics*, roč. 78, 1986, s. 257-262.
22. Massanyi, P., Kiss, Zs., Toman R., Bardos, L.: *Magyar Allatorvosok Lapja*, roč. 124, 2002, s. 688-692.
23. Massanyi, P., Trandzik, J., Nad, P. et al.: *J. Environ. Sci. Health*, roč. A38, 2003, s. 2643-2651.
24. Massanyi, P., Trandzik, J., Nad, P.: *J. Environ. Sci. Health*, roč. A40, 2005, s. 1097-1105.
25. Massányi, P., Trandzik, J., Nad, P. et al.: *Asian J. Androl.*, roč. 5, 2003, s. 101–104.
26. Massányi, P., Trandzik, J., Nad, P. et al.: *Trace Elem. Electrolytes*, roč. 21, 2004a, s. 229–231.
27. Massányi, P., Trandzik, J., Nad, P. et al.: *J. Environ. Sci. Health*, roč. A39, 2004b, s. 3005–3014.
28. Mousa, S.A.: *Life Sci.*, roč. 75, 2004, s. 93–105.
29. Pandey, R., Kumar, R., Singh, S.P. et al.: *Biometals*, roč. 12, 1999, s. 339–346.
30. Papanikolaou, N.C., Hatzidaki, E.G., Belivanis, S.: *Med. Sci. Monit.*, roč. 11, 2005, s. 329-336.
31. Pedigo, N.G., George, W.J., Anderson, M.B.: *Reprod. Toxicol.*, roč. 2, 1988, s. 45-53.
32. Sokol, J., Uhrín, V., Massányi, P. et al.: *Kadmium a jeho výskyt v organizmoch živočíchov*. Bratislava : Štátna veterinárna správa SR, 1998a. 116 s. ISBN 80-7148-022-3.
33. Soylak, M., Colak, H., Turkoglu, O. et al.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, roč. 76, 2006, s. 436-441.
34. Szakmary, E., Ungvary, G., Hudak, A. et al.: *J. Toxicol. Environ. Health*, roč. A62, 2001, s. 367-86.
35. Toman, R., Massanyi, P.: *Štruktúrálné zmeny semenníka a prísemenníka kráľíka po podaní kadmia*. Nitra : SPU. 1997, 83 s. ISBN 80-7137-420-2.
36. Toman, R., Massanyi, P., Uhrin, V. *Trace Elem. Electrolytes*, roč. 19, 2002, s. 114-117.
37. Ziegler, E.E., Edwards, B.B., Jensen, R.L.: *Pediatr. Res.*, roč. 12, 1978, s. 29-34.
38. Vargas, H., Castillo, C., Posadas, F. et al.: *Human Exp. Toxicol.*, roč. 22, 2003, s. 237-244.

39. Wade, M.G., Foster, W.G., Younglai, E.V. et al.: *Toxicol. Sci.*, roč. 67, 2002, s. 131-143.

Práca bola finančne podporená grantom VEGA MŠ SR 1/2417/05 and 1/3475/06.

PRÍJEM RIZIKOVÝCH PRVKOV RASTLINAMI VO VZŤAHU K ICH VYSOKÝM OBSAHOV V PÔDE

ACCEPTANCE OF RISKY ELEMENTS WITH PLANTS REFER TO HIGH CONTENT OF THEIR IN SOIL

Tomáš, J., Bystrická, J., Musilová, J., Árvay, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,

Abstrakt

Contamination of agricultural soils with heavy metals is potential source of contamination of the food chain. So the best solution is to prevent food chain from contamination in the beginning. If the soil contamination had originated, it is possible to monitor it or to try to eliminate its consequences. In our work we have focused to the contamination of agricultural soils in alluvium of the river Štiavnica in Banskóštiavnicky and Hontiansky region, which have been influenced during centuries by intensive mining activities. Weathering of old mine heaps and redeposited rock fragments, which are often rich in heavy metals sulphides, led to remobilisation of these metals to water and consequently to deposition in alluvial soils and accumulation in agricultural plants. The obtained results show that agricultural soils are strongly polluted by Pb, Cu, Cd and Zn. On the other hand, agricultural plant production is strongly contaminated only by Pb and Cd.

Research was realized within the project solving with VEGA No. 1/2428/05.

Key words : contamination, heavy metals, soil hygiene, food chain

Úvod

S hospodárskym rozvojom spoločnosti rastie spotreba výrobkov a zároveň aj produkcia odpadov. Jednou z najzávažnejších skupín cudzorodých látok v životnom prostredí sú ťažké kovy. Tie na rozdiel od organických polutantov nepodliehajú chemickej degradácii, ale hromadia sa v povrchových vrstvách pôdy. Zvyšovaním obsahu ťažkých kovov v pôde dochádza zároveň k nárastu ich obsahu v potravinách rastlinného ako aj živočíšneho pôvodu, čo má za následok nepriaznivý vplyv na zdravie ľudí. Ďalším nepriaznivým dôsledkom pôsobenia rizikových prvkov je pokles úrody a kvality poľnohospodárskych plodín. Preto sa kontaminácia pôd ťažkými kovmi zaraďuje k najvýznamnejším problémom ochrany pôd a životného prostredia. Okrem antropickej kontaminácie je v určitých oblastiach významným zdrojom ťažkých kovov aj geogénna kontaminácia, ktorej zdrojom sú geochemické anomálie (výrazne zvýšený obsah prvku oproti pozadovým hodnotám).

Jednou z oblastí, kde sa uplatňujú oba typy kontaminácie sú Štiavnické vrchy. Antropická kontaminácia je spôsobená intenzívnou ťažbou a spracovaním rozličných rúd. Geogénna kontaminácia je spôsobená zvetrávaním hydrotermálne premenených vulkanických hornín, ktoré obsahujú sulfidy ťažkých kovov. V acidifikovanom prostredí dochádza k mobilizácii takmer všetkých kovových prvkov. Povrchová voda mobilné toxické prvky spolu s klastickým materiálom znášala do nižších aluviálnych polôh, kde došlo k ich koncentrácií a silnému znečisteniu pôd.

V tejto práci sa zameriavame na kontamináciu poľnohospodársky využívaných pôd a poľnohospodárskych plodín rizikovými kovmi v alúviu rieky Štiavnica v Banskóštiavnickom a Hontianskom regióne.

Materiál a metodika

Sledovanie rizikových prvkov na rôznych pôdnych typoch a pestovateľských plodinách sa uskutočnilo na parcelách v povodí rieky Štiavnica. Pôdne charakteristiky záujmových území sú uvedené v Tab.1.

Tab. 1 Lokalizácia odberu pôdnych a rastlinných vzoriek a ich charakteristika

stanovište	kataster obce	pôdny typ	pôdny druh	názov parcely	plodina
P 1	Tupá	fluvizem glejová	stredne ťažká	Za mostom	jačmeň
P 2	Horné Semerovce	fluvizem glejová	stredne ťažká	Hrubá	pšenica
P 3	Hokovce	fluvizem typická	stredne ťažká	Rázcestie	jačmeň
P 4	Terany	fluvizem typická	stredne ťažká	Horné kukuričiská	kukurica na siláž
P 5	Hontianske Tesáre	fluvizem typická	stredne ťažká	Dolina STS	jačmeň
P 6	Hontianske Nemce	fluvizem glejová	stredne ťažká	Brodné Lúky	TTP
P 7	Prenčov	fluvizem	stredne ťažká	Široká pažiť	TTP
P 8	Prenčov	kambizem	stredne ťažká	Pri lávke	TTP

TTP - trvalý trávny porast

Pri výbere a identifikácii lokalít, odbere a úprave pôdnych vzoriek sme postupovali podľa „Závazných metodík rozborov pôd, ČMS – Pôda. Pôdne vzorky sme odoberali z hĺbky 0 – 0,2 m. V pôdach sme stanovovali nasledovné rizikové ťažké kovy: Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, Ni a Co. Analytickou metódou stanovenia bola plameňová atómová absorpčná spektrometria (PYE UNICAM SP – 9). V každej pôdnej vzorke sme tiež stanovili nasledovné charakteristiky: pôdna reakcia pH/KCl, zrnitostné zloženie pipetovacou metódou podľa Nováka, obsahu humusu v pôde Ľurinovou metódou v modifikácii podľa Nikitina.

Produktívne časti rastlinného materiálu sme odoberali v zberovej zrelosti. Odber vzoriek rastlinného materiálu sme uskutočnili na tých istých parcelách, kde sa uskutočnili odbery pôdnych vzoriek. V odobratých rastlinných vzorkách sme stanovili celkový obsah sledovaných kovov po predchádzajúcej mineralizácii suchou cestou plameňovou AAS.

Výsledky a diskusia

V tab. 2 uvádzame výsledky stanovení obsahov ťažkých kovov v pôdach v metodike charakterizovaných parciel. Pri hodnotení pôdnej hygieny sme vychádzali z legislatívy platnej v dobe odberu a analýzy pôdnych vzoriek (rok 2003) „Rozhodnutie MP SR o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde č. 531/1994“, v ktorom sú určené limitné hodnoty rizikových látok.

Limitné hodnoty B, indikujúce kontamináciu pôd, boli prekročené u takmer všetkých pôdnych vzoriek pre Cu, Cd a Zn. Vo všetkých pôdnych vzorkách s výnimkou vzorky P5 bola prekročená limitná hodnota C pre asanáciu pôd u Pb. Kontaminácia pôd Cr, Co a Ni nebola analyticky preukázaná. Nadlimitnú kontamináciu pôd Cu, Zn, Pb a Cd zistili v pôdach alúvia

rieky Štiavnica aj iní autori, ktorí sledovali obsah rizikových prvkov v pôdach na hornom toku Štiavnice.

Tab. 2 Pôdne charakteristiky a celkové obsahy ťažkých kovov v pôdach

stanovište	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
pH/KCl	6,22	5,16	5,92	5,53	5,76	6,40	3,84	3,07
humus / %	3,68	1,54	1,47	1,95	1,83	3,84	1,78	2,18
Cu / ppm	176(B)	100(B)	132(B)	182(B)	108(B)	164(B)	264(B)	352(B)
Zn / ppm	1370(B)	1630(B)	1830(B)	1240(B)	210(A)	2760(B)	1560(B)	696(B)
Cr / ppm	41,5	41,4	33,9	30,0	51,2	53,4	19,5	29,5
Cd / ppm	11,5(B)	11,1(B)	13,6(B)	10,2(B)	1,16(A)	21,1(C)	9,28(B)	3,32(A)
Pb / ppm	624(C)	828(C)	1360(C)	1280(C)	86,8(A)	1610(C)	3260(C)	2140(C)
Co / ppm	22,0(A)	26,4(A)	24,0(A)	17,2	18,8	20,0(A)	21,6(A)	24,8(A)
Ni / ppm	19,6	24,0	20,4	20,0	32,4(A)	16,4	11,6	18,0

(A) - obsah ťažkého kovu v pôde nad referenčnou hodnotou A

(B) - obsah ťažkého kovu v pôde nad indikačnou hodnotou B

(C) - obsah ťažkého kovu v pôde nad indikačnou hodnotou C pre asanáciu

Cieľom sledovania kontaminácie pôd ťažkými kovmi je aj predikcia ich vstupu do potravinového reťazca. 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, krmoviny, z ktorých ťažké kovy prechádzajú do rôznych živočíšnych produktov.

Obsahy ŤK v zrne obilnín (pšenica ozimná a jačmeň jarný) a krmovinách (kukurica siata na siláž a trávne porasty) z lokalít P1 až P8 uvádzame v Tab. 3.

Tab. 3 Obsahy ťažkých kovov (v mg/kg) v odobraných rastlinných vzorkách

stanovište	plodina	Zn	Cu	Co	Cr	Cd	Ni	Pb
P1	jačmeň	169	7,32	0,20	1,15	0,43	0,30	0,60
P2	pšenica	140	8,03	0,15	0,45	0,54	0,30	0,75
P3	jačmeň	138	5,46	0,35	0,90	0,53	0,40	0,60
P4	kukurica a	347	13,4	0,25	2,10	1,82	1,20	2,20
P5	jačmeň	95,2	6,11	0,30	0,83	0,23	0,35	0,50
P6	TTP	62,9	24,5	0,25	5,44	1,02	0,90	3,10
P7	TTP	105	4,57	0,40	2,12	1,97	0,60	2,30
P8	TTP	378	16,5	1,40	6,89	2,45	1,50	26,2
NPM pre krmoviny					3,0	1,0	5,0	10/40 *
NPM pre obilniny			25,0		4,0	0,1 0,2* *	2,0	0,2

NPM – najvyššie prípustné množstvo xxx – prekročenie NPM

*- NPM pre zelené krmivá

** - NPM pre pšenicu

Z porovnania obsahov rizikových kovov v zrne obilnín vyplýva prekročenie NPM u Cd vo všetkých vzorkách obilnín 2,3 až 5,3 krát. Taktiež boli prekročené NPM Cd vo všetkých vzorkách krmovín 1 až 2,5 krát.

Obsah Pb v zrne obilnín všetkých vzoriek obilnín prekračuje NPM 2,5 až 3,8 krát. NPM Pb v krmovinách nebolo prekročené na žiadnom zo stanovišť, hoci obsah Pb v pôde na týchto

stanovištiach prekročil limitnú hodnotu C pre asanáciu 2-8 krát. Je to možné vysvetliť legislatívnym ustanovením príliš benevolentnej hodnoty NPM pre Pb v krmovinách.

Vo vzorkách TTP zo stanovišť P6 a P8 sme zistili zhruba dvojnásobné prekročenie NPM Cr pre krmoviny, hoci pôdy na týchto stanovištiach obsahujú iba mierne vyššie obsahy potenciálne uvoľniteľného Cr (prekročená A₁ referenčná hodnota). U ostatných ťažkých kovov NPM neboli prekročené resp. nie sú legislatívne stanovené.

Záver

Z výsledkov analýz rizikových ťažkých kovov v pôdach na sledovaných stanovištiach v alúviu rieky Štiavnica vyplýva, že najväčším polutantom je Pb, ktorého koncentrácia prekračuje hranicu vyžadujúcu okamžitú asanáciu pôd. Obsahy Zn, Cd a Cu v pôdach prekračujú limity kontaminácie pre tieto prvky. Takmer všetky pôdy majú obsah Mn niekoľkonásobne vyšší ako sú publikované priemerné obsahy Mn v pôdach. Vyššie obsahy Co v pôdach (prekračujúce referenčnú hodnotu A) boli namerané na takmer všetkých stanovištiach.

Plodiny dopestované na všetkých ôsmich stanovištiach nespĺňajú zákonom stanovené limity pre Cd. Obsah olova vo všetkých odobraných vzorkách obilnín prekračuje limit pre Pb. Trvalé trávne porasty z 2 lokalít obsahujú nadlimitné množstvo Cr.

Literatúra

1. Jomová, K. – Zima, M. – Hegedusová, A. – Tóth, T. 2005. Vstup ťažkých kovov do konzumnej časti cícera v závislosti od pôdnych vlastností. In : Zborník z 57. zjazdu chemických spoločností. Tatranské Matliare, sept. 2005. ChemZi, Vol. 1/1, s. 265-266, ISSN 1336-7242
2. Lahučký, L. – Vollmannová, A.- Tomáš, J. – Tóth, T.. 2005. Vplyv chrómu na produkčné možnosti rastlín. In: AGRICULTURE, Nitra : UVTIP 2005, 51 (5). P. 274 – 280. ISBN 0551 – 3677
3. Tóth, T. – Tomáš, J. – Lazor, P. – Chlpík, J. – Jomová, K. – Hegedusová, A. 2005. Rizikové prvky v pôdach a plodinách štiavnického regiónu. In : Zborník z 57. zjazdu chemických spoločností. Tatranské Matliare, sept. 2005. ChemZi, Vol. 1/1, s. 285-286, ISSN 1336-7242
4. Vollmannová, A., Lahučký, L., Lazor, P., Hegedusová, A., 2004. Kumulácia ťažkých kovov bôbom vo vzťahu k obsahu ich potenciálne bioprítupných foriem v pôde. In: Chemické Listy 98 (8), 2004, s.532 , ISSN 0009-2770

AKTIVITA GRANULÓZNYCH BUNIEK VAJEČNÍKA KRÁLIKA PO PODANÍ NIKLU A ZINKU

RABBIT OVARIAN GRANULOSA CELL ACTIVITY AFTER AN ADMINISTRATION OF NICKEL AND ZINC

Zemanová, J.¹, Sirotkin, A.V.², Chrenek, P.², Kalafová¹, A., Lukáč¹, N., Rafaj, J.², Capcarová, M.¹, Massányi, P.¹.

¹Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, ²Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Nitra

Abstract

In this study the effect of nickel (NiCl₂), and effect of nickel in combination with zinc (ZnCl₂) on rabbit ovarian granulosa cells was studied. After 24 hour culture concentration of IGF-I was 49.38±6.92 ng.ml⁻¹ and progesterone 93.03±11.67 ng.ml⁻¹ in control group. After single nickel administration decreased level of IGF-I and progesterone was detected, but the differences were not significant. In combination of nickel with zinc the concentration of IGF-I was decreased in the group with lower nickel concentration, but in the group with higher nickel concentration was increased. The level of progesterone was almost the same in comparison with control group. Our results suggest only a weak effect of nickel on the activity of ovarian granulosa cells.

Úvod

Dôležitým ekologickým fenoménom najmä druhej polovice 20. storočia je skutočnosť, že človek musí koexistovať s nadmerným množstvom chemických látok od začiatku embryonálneho vývoja až po smrť. S rastúcim stupňom znečistenia životného prostredia sa záujem o dôsledky pôsobenia toxických látok na živé systémy zvyšuje. Človek sa musí spoliehať na celospoločenskú ochranu, ktorá okrem iného spočíva v monitorovaní výskytu týchto látok v životnom prostredí všeobecne a špeciálne v potravinovom reťazci.

Ťažké kovy sú definované ako kovy, ktorých špecifická hmotnosť je väčšia ako 5 g.cm⁻³. Väčšina z nich je pre organizmus škodlivá. Mnohé sú toxické pre človeka, zvieratá ale aj rastliny. Sú schopné sa v organizme ukladať a akumulovať, čo zvyšuje ich toxický účinok. Hlavným zdrojom znečistenia recipientov kovmi sú odpadové vody z ťažby a spracovania rúd, hutí, z povrchovej úpravy kovov, fotografického, textilného priemyslu a iných odvetví. Ďalším zdrojom môžu byť atmosférické zrážky znečistené exhaláciami vznikajúcimi pri spaľovaní fosílnych palív a vyfukovanými plynmi motorových vozidiel.

Medzi ťažké kovy ktoré negatívne ovplyvňujú reprodukciu patrí nikel. Úloha niklu v tele ešte nie je celkom objasnená. Pripisuje sa mu účasť v transporte kyslíku ku tkanivám, v syntéze enzymatických bielkovín, v premene uhlíkovodíkov, tukov a bielkovín, v tvorbe hormónov. Napriek negatívnym vlastnostiam niklu, zohráva významnú úlohu aj v biologických systémoch, hlavne v aktivite enzýmov, hormonálnej regulácii ako aj funkčnosti RNA, DNA, a proteínov. Pohlavné orgány slúžia ako veľmi citlivý barometer výskytu rizikových prvkov v životnom prostredí. Reprodukčný cyklus samíc predstavuje komplexné interakcie medzi nervovým, endokrinným a reprodukčným systémom, ktorého výsledkom je produkcia zrelých gamét a priaznivého prostredia pre vznik a zachovanie gravidity. Podľa terminológie reprodukcie cyklus má 5 základných cieľov: vývoj zrelých oocytov – folikulogenéza, uvoľnenie zrelých oocytov z vaječníka – ovulácia, transport gamét a zygoty, vývoj endometria vhodného pre implantáciu a podporenie skorých štádií gravidity žltým telieskom. Defekty v ktoromkoľvek z týchto štádií vedú k poruchám reprodukcie (SCIALLI a ZINAMAN, 1993).

U samíc sa účinky ťažkých kovov najčastejšie prejavujú vo zvýšenej atrezií folikulov vo vaječníkoch ako aj zmenami stavby endometria maternice. Mnohé ťažké kovy výrazne negatívne ovplyvňujú steroidogézu. Nikel prechádza cez bariéry placenty, poškodzuje embryo ale aj plody experimentálnych zvierat (Sunderman et al., 1978).

Zinok je známy esenciálny kov potrebný pre funkciu rôznych enzýmov (Elinder, 1986). Nedostatok tohto prvku v potrave vyvoláva komplexnú atrofiu semenníkov, ktorá je ireverzibilná (Gunn a Gould, 1970). Cigánková et al. (1993) pozorovali pri hypozinkémii čiastočnú alebo úplnú depléciu semenotvorného epitelu bez poškodenia ostatných bunkových a intersticiálnych súčasti semenníka.

Cieľom tejto práce bolo popísať sekrečnú aktivitu (IGF – I, progesterón) granulóznych buniek vaječníka kráľika po podaní samotného niklu a v kombinácii so zinkom.

Materiál a metodika

V experimente bolo použitých 25 samíc brojlerových línií Kalifornského kráľika (SCPV, Nitra) o hmotnosti 3,5 – 4,0 kg vo veku 4 mesiace, ktoré boli rozdelené do piatich skupín (P1, P2, P3, P4, K). V prvej skupine (P1) zvieratá (n=5) dostávali nikel (NiCl_2 , Reachem) v dávke 17,5 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ kŕmnej zmesi po dobu 100 dní. V druhej skupine (P2) zvieratá (n=5) dostávali dvojnásobnú dávku niklu v rovnakom časovom období. V ďalšej skupine (P3) sme podávali piatim samiciam nikel v dávke 17,5 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ v kombinácii so zinkom v koncentrácii 30 g ZnCl_2 (ZnCl_2 , Reachem) po dobu 100 dní. V poslednej pokusnej skupine (P4) zvieratá (n=5) samice prijímali krmivo s prímiesou niklu (35 g $\text{NiCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ KZ) a zinku (30 g $\text{ZnCl}_2 \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ KZ) po dobu 100 dní. Na porovnanie výsledkov sme zostavili skupinu piatich samíc (K – kontrolná skupina), ktorá prijímala rovnakú kŕmnu zmes (KKV1) ale bez pridania niklu a zinku. Všetky zvieratá boli umiestnené v klimatizovaných halách, v jednopodlažných individuálnych kovových klietkach typizovaných rozmerov. Voda bola k dispozícii s automatických napájačiek.

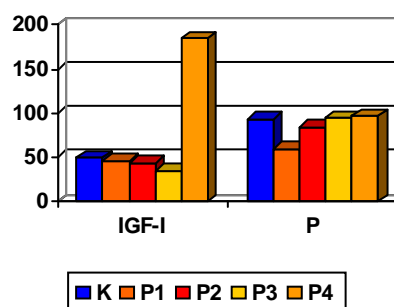
Po ukončení experimentu boli všetky zvieratá odporazené a následne boli odobraté oba vaječníky a uložené vo fyziologickom roztoku. Následne bol z folikulov aspirovaný obsah a granulózne bunky boli kultivované po dobu 24 hodín. Po ukončení kultivácie sa stanovil obsah IGF – I a progesterónu RIA metódou (Sirotkin, 2005).

Dosiahnuté výsledky sme vyhodnotili štatisticky použitím PC programu SAS. Preukaznosť rozdielov bola stanovená F-testom.

Výsledky a diskusia

V kontrolnej skupine sme zaznamenali po 24 hodinovej kultivácii granulóznych buniek koncentráciu IGF-I $49,38 \pm 6,92 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a progesterónu $93,03 \pm 11,67 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. V pokuse len s niklom (P1, P2) sme zistili nižšiu koncentráciu IGF-I ($46,09 \pm 5,75$ a $43,77 \pm 7,59 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) ako aj progesterónu ($59,13 \pm 13,32$; $84,34 \pm 15,22$), ale rozdiely neboli štatisticky preukazné. Pri hodnotení koncentrácie IGF-I po podaní niklu v kombinácii so zinkom bola v skupine P3 koncentrácie nižšia ($34,60 \pm 5,29 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) ale v skupine P4 vyššia ($184,60 \pm 192,92 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou. Hladina progesterónu bola v podstate zhodná v oboch skupinách po podaní niklu so zinkom ($93,93 \pm 8,29$; $96,78 \pm 8,03 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) ako v kontrolnej skupine, z čoho vyplýva, že sledované koncentrácie niklu nemali výrazný negatívny účinok na funkciu ovariálnych granulóznych buniek a len naznačujú mierny a nepreukazný útlm v skupinách s podaním len niklu (Graf 1).

Graf 1 – Koncentrácie IGF-I a progesterónu (P) po podaní niklu a v kombinácii so zinkom



Forgács et al. (1997) študovali účinok NiSO_4 na funkciu vaječníkov potkanov. Použili samice potkanov s pravidelným ovarialnym cyklom, ktorým podávali 10, 20 alebo 40 mg.kg^{-1} NiSO_4 alebo 0,9% NaCl roztok počas 5 cyklov. NiSO_4 až pri dávke 40 mg.kg^{-1} narušil ovarialny cyklus a zvýšenie sekrécie progesterónu po hCG stimulácii. Revesz et al. (2004) sledovali účinok niklu na ľudské ovarialne granulózne bunky *in vitro*. Od koncentrácie závislý pokles hCG a db-cAMP stimulovanej produkcie progesterónu bol pozorovaný pri dávke 15,625 μM alebo vyššej koncentrácii Ni^{2+} , ktorá nie je cytotoxická pre humánne ovarialne granulózne bunky. Kochman et al. (1992) sledovali zvýšené uvoľňovanie LH a FSH z adenohipofýzy vplyvom Cu-, Ni-, a Zn-LHRH komplexov. Účinky týchto komplexov na uvoľňovanie LH a FSH boli určované v *in vivo* pokuse. Sirotkin et al. (2003) sledovali účinok GH a IGF-I na reprodukciu, rast a koncentrácie hormónov v plazme u domestikovanej nutrie. Bolo zistené, že jedna alebo viac dávok GH podaných injekčne spôsobilo signifikantný nárast tyroidných hormónov v plazme, avšak nezvýšila sa hladina progesterónu. Ďalej zistili signifikantný nárast telesnej hmotnosti dospelých a novonarodených mláďat. GH neovplyvňoval dĺžku gravidity a počet mláďat vo vrhu. Injekčné podanie IGF-I spôsobilo nárast koncentrácie IGF-I v plazme a redukciu IGFBP3, tyroidných hormónov v plazme a kratšie trvanie gravidity, ale nezmenil sa počet narodených mláďat. Zistenia poukazujú na to, že GH a IGF-I môžu stimulovať prenatálny a postnatálny rast. Rozdielne účinky týchto látok na tyroidné hormóny a reprodukčné parametre poukazujú na to, že vplyv GH na tieto procesy niesú pravdepodobne sprostredkované IGF-I.

Literatúra

1. ANKEL-FUSCH, D., THAUER, R. K. 1988. „Nickel in biology: Nickel as an essential trace element.“ In: The Bioorganic Chemistry of Nickel. VHC Publishers, NY, 1988, 93-110.
2. CIGÁNKOVÁ, V., MESÁROŠ, P., BÍREŠ, J. 1993. Vplyv zinku na mikroskopickú a submikroskopickú štruktúru semenníkov býkov. In.: XXXV. zjazd Českej a Slovenskej anatomickej spoločnosti a Sekcie bunkovej biológie Čs. biologickej spoločnosti. Nitra, VŠP 1993, 34.
3. COOGAN, T. P., LATTA, D. M., SNOW, E. T., COSTA, M. 1989. Toxicity and Carcinogenicity of Nickel Compounds. In: CRC Critical Reviews in Toxicology, 1989, 341-384.
4. ELINDER, C.G. 1986. Other toxic effects. In.: FRIBERG, L., ELINDER, C.G., KJELLSTROM, T. (ed.): Cadmium and health: a toxicological and epidemiological appraisal. Vol.2. Boca Raton, CRC Press 1986, 159-204.
5. FORGACS, Z., PAKSY, K., VARGA, B., LAZAR, P., TATRAI, E.: Effects of NiSO_4 on the ovarian function in rats. Central Europ. J. Occup. Environ. Med., 1997, 48-57.
6. GUNN, S.A., GOULD, T.C. 1970. Cadmium and other mineral elements. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L.(ed.): The testis, Vol.3. New York. - London, Academic Press 1970, 377-481.
7. REVESZ, C., FORGACS, Z., LAZAR, P., MATYAS, S., RAJCZY, K., KRIZSA, F., BERNARD, A., GATI, I.: Effect of nickel (Ni^{2+}) on primary human ovarian granulosa cells *in vitro*. Toxicol. Mech. Methods 14 (5), 2004, 287-292.
8. SCIALLI, A. R. ZINAMAN, M. J. 1993. Reproductive toxicology and infertility. McGrawHill, Inc., New York, 1993, s.338, ISBN 0-07-106438-3.
9. SIROTKIN A.V. Control of reproductive processes by growth hormone: Extra- and intracellular mechanisms Vet. J., 2005, 170, 307-317.
10. SIROTKIN, A.V., METRIN, D., SUVEGOVA, K., MADAREVICH, A. V., MIKULOVA, E.: Effect of GH and IGF-I treatment on reproduction, growth, and plasma hormone concentrations in domestic nutria (*Myocastor coypus*). Gen Comp Endocrinol, 2003, 296-301.
11. SUNDERMAN JR., F. W., SHEN, S. K., MITCHELL, J. M., ALLIPASS, P. R., DAMJANOV, I. 1978. Embryotoxicity and Fetal Toxicity of Nickel in Rats. Toxicol. Appl. Pharmacol, 1978, 381-390.
12. WHO WORKING GROUP 1991. Environmental Health Criteria 108 – Nickel WHO, Geneva, 1991.

KONTAMINÁCIA RÝB POLYCHLÓROVANÝMI BIFENYLMÍ V SLOVENSKEJ REPUBLIKE

FISH CONTAMINATION BY POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN THE SLOVAK REPUBLIC

Zmetáková, Z., Šalgovičová, D.

Výskumný ústav potravinársky, Bratislava

Abstract

Contamination levels by polychlorinated biphenyls (PCB) of rivers in the area of Chemko Strážske were compared with those of other regions of the Slovak Republic, based on the examination of PCB contents in freshwater fish, including predatory (northern pike, zander, European chub, brown trout) and non-predatory freshwater fish (common carp, goldfish, bream). A total of 318 samples were taken as part of the Monitoring of Hunteable Game and Fish project within 2002 - 2004. The highest average PCB levels in samples from Zemplínska šírava were identified in goldfish ($108.752 \text{ mg.kg}^{-1}$) and the lowest ones in brown trout (13.71 mg.kg^{-1}). The average values measured for the country in general ranged between 0.008 and 5.129 mg.kg^{-1} (northern pike and goldfish); the PCB levels measured for the contaminated area thus were 14 to 6,900 times higher as compared to other regions of the country. Samples from the contaminated area (Zemplínska šírava – Chemko Strážske) showing values exceeding the limits (defined as at least one of the congeners exceeding the limit set by the Food Code of the Slovak Republic) made up as many as 75.8 % (9.5% for the other regions of Slovakia).

Úvod

Polychlórované bifenyly (PCB) sú látky patriace do skupiny perzistentných organických polutantov (POPs), ktoré sú schopné bioakumulácie v rastlinných a živočíšnych tkaninách. Často sú transportované vzduchom alebo vodou do oblastí veľmi vzdialených od miesta ich vzniku, kde sa koncentrujú v živých organizmoch, vrátane ľudí, v množstvách poškodzujúcich ich zdravie.

V bývalej Československej republike sa PCB vyrábali v podniku Chemko Strážske v rokoch 1959 až 1984 pod základnými názvami výrobkov Delor, Hydeler a Delotherm (Chriaštel' a kol., 2004). Počas výroby dochádzalo k značným únikom PCB do životného prostredia, predovšetkým prostredníctvom odpadových vôd. Následkom toho sú kontaminované sedimenty odpadového kanála Chemka, rieky Laborec, ale aj Zemplínskej šíravy, pričom Zemplín je považovaný za jednu z najzaťaženejších oblastí na obsah PCB v celej Európe (Hojsík, 2002).

PCB sa v minimálnych koncentráciách rozpúšťa vo vode a preto sa môže šíriť i vo vodnom prostredí. Tu sa absorbuje na kal a sedimenty. PCB sú vo vodných ekosystémoch zabudované do planktónu a do drobných kôrovcov, ktoré sú začiatkom potravinového reťazca rýb, vtákov a cicavcov. Efekt zabudovania je veľmi účinný a organizmy na konci reťazca prijímajú s potravou toxikologicky významné množstvo PCB (Filkorn, 2000). Ryby žijúce dlhšiu dobu vo vode kontaminovanej stopovými koncentraciami PCB v sebe tieto látky zakonzentrovali až tisíckrát. Distribúcia PCB v telách rýb pritom nieje rovnomerná. U kaprov sa napr. hromadí hlavne v tukových tkanivách, hlave, centrálnej nervovej sústave, žľníku a ďalších vnútorných orgánoch, pričom koncentrácia v krvi a hladkom svale je významne nižšia (Pokorná, 2005).

Najčastejšou cestou, ako sa PCB dostávajú do ľudského organizmu (okrem profesionálnej expozície) sú potraviny a to až 95 % príjmu (Velíšek, 1999). Keďže PCB sa kumulujú v

tukovom tkanive, najviac sa nachádzajú v potravinách s vysokým obsahom tuku, ktoré pochádzajú z oblastí kontaminovaných PCB, predovšetkým z domácich chovov (USEPA, 1980). Ďalším významným zdrojom sú ryby a voľne žijúca zver ulovená v oblasti kontaminovanej PCB (Kočan a kol., 1998, 1999).

Odborníci poukazujú nielen na pozitíva spotreby rýb pre zdravie človeka (obsah n-3 polynenasýtených mastných kyselín, zdroj minerálov - Ca, P, morské ryby I a vitamínov - A, B, D, E) (Garrow, James 1999), ale upozorňujú aj na potrebu ochrany zdravia konzumentov pred toxickými látkami (ťažké kovy, organochlórované látky a PCB), ktoré sa môžu hromadiť v sladkovodných rybách, čím vzniká riziko zvýšenej expozície týmito toxickými látkami z rýb.

Materiál a metódy

V príspevku sme vyhodnotili stupeň kontaminácie rýb polychlórovanými bifenyli, ulovených vo vodách východoslovenského regiónu (okres Michalovce) a porovnali ho so vzorkami rýb ulovených na ostatnom území Slovenskej republiky. Celkovo sa analyzovalo 318 vzoriek svaloviny rýb, ktoré boli na území Slovenskej republiky odoberané od roku 2002 do roku 2004 v rámci riešenia projektu Monitoringu poľovnej zveri a rýb (ďalej MPZ), ktorý je jedným z troch subsystémov projektu Čiastkového monitorovacieho systému Cudzorodé látky v potravinách a krmivách a je súčasťou Monitoringu životného prostredia Slovenskej republiky. Cieľom MPZ je sledovanie prieniku kontaminantov do organizmov voľne žijúcej zveri a rýb, ktoré sú objektívnym indikátorom stavu životného prostredia v sledovanom regióne nakoľko predstavujú primárnych konzumentov vo svojich ekosystémoch.

Realizáciu monitoringu (vypracovanie metodiky, plánu odberov vzoriek, vykonanie analýz a prípravu ročných správ) koordinuje Štátna veterinárna a potravinová správa SR. Na odberoch vzoriek sa podieľali Regionálne veterinárne a potravinové správy a organizácie Slovenského rybárskeho zväzu. Analýzy vykonávali tri akreditované pracoviská Štátnej veterinárnej a potravinovej správy – Bratislava, Dolný Kubín a Košice. Celkovú stratégiu MPZ schvaľuje Výskumný ústav potravinársky, ktorý tiež zabezpečuje koordináciu monitoringu, spracovávanie a vyhodnocovanie získaných informácií a oponentúry ročných správ.

Celkovo sa analyzovali štyri druhy dravých a tri druhy nedravých rýb, pričom termíny odberov vzoriek sa určili mimo ochrannej doby pre jednotlivé druhy rýb platné v Slovenskej republike:

• Dravé ryby:			<i>ochranná doba</i>
Štuka severná	<i>Esox lucius</i>	Exocidae	od 1.1. do 15.5.
Zubáč obyčajný	<i>Lucioperca lucioperca</i>	Percidae	od 15.3. do 15.6
Jalec hlavatý	<i>Leuciscus cephalus</i>	Cyprinidae	od 15.3. do 31.5.
Pstruh potočný	<i>Salmo trutta morpha fario</i>	Salmonidae	od 1.9. do 15.4.
• Nedravé ryby:			<i>ochranná doba</i>
Kapor rybničný	<i>Cyprinus carpio</i>	Cyprinidae	od 15.3. do 31.5.
Karas striebřistý	<i>Carassius auratus gibelio</i>	Cyprinidae	nemá stanovenú
Pleskáč vysoký	<i>Abramis brama</i>	Cyprinidae	od 15.3. do 31.5.

V každej z 318 vzoriek rýb sme sledovali šesť kongenerov PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180), ktoré boli analyzované vo vzorkách svaloviny metódou GC - MS. Pre účely tohto článku sme vyhodnocovali sumu PCB, ktorú sme vypočítali súčtom všetkých šiestich kongenerov PCB. Získané analytické výsledky sme spracovali štatisticky a posudzovali podľa Výnosu Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 981/1996-100 (Výnos MP and MZ SR 1996).

Výsledky a diskusia

Vzorky rýb sa odoberali z územia Slovenskej republiky a cielene z rizikovej lokality východoslovenského regiónu, kde v minulosti dochádzalo počas výroby PCB v podniku Chemko Strážske k ich značným únikom do životného prostredia, predovšetkým prostredníctvom odpadových vôd. V dôsledku toho boli kontaminované sedimenty odpadového kanála Chemka, rieky Laborec, ale aj Zemplínskej šíravy.

Z celkovo odobratých 318 vzoriek rýb 137 vzoriek prekročilo platné limitné hodnoty u jednotlivých kongenerov PCB (ak aspoň jeden z nich prekročil limit Potravinového kódexu SR), čo tvorilo 43,1 %. V rámci toho sa skúmalo 146 vzoriek dravých a 172 vzoriek nedravých rýb. Každá vzorka sa analyzovala na 6 kongenerov PCB. Z celkového počtu odobratých a analyzovaných 161 vzoriek rýb pochádzajúcich z okresu Michalovce 122 vzoriek prekročilo platné limitné hodnoty Potravinového kódexu SR, čo predstavuje až 75,8 %. Počet vzoriek pochádzajúcich z ostatného územia SR prekračujúcich stanovené limitné hodnoty u jednotlivých kongenerov bol podstatne nižší 9,5 % a to z oblasti východoslovenského regiónu z okresov Trebišov a Košice, kam ešte zasahujú toky riek (Bodrog, Tisa, Latorica, Laborec a Hornád) kontaminovaných podnikom v minulosti vyrábajúcim polychlorované bifenyly.

Priemerné nálezy polychlórovaných bifenylov vo vzorkách sladkovodných rýb z oblasti Zemplínskej šíravy sa pohybovali v rozmedzí od 13,671 do 108,752 mg.kg⁻¹, pričom v ostatných regiónoch Slovenskej republiky mali oveľa nižšiu hodnotu od 0,008 do 5,129 mg.kg⁻¹, takže nárast PCB v kontaminovanej oblasti bol v porovnaní s ostatným územím v jednotlivých druhoch rýb 14 (u kapra rybničného) až 6900 násobný (u šťuky severnej). Zo sledovaných druhov rýb sme zaznamenali najvyššie nálezy u karasa striebristého, ktorý je rybou dna, kde sa mohli usadzovať nerozpustné kongenery PCB a to na obidvoch porovnávaných územiach. Na území Slovenska sme zistili najmenej kontaminovanú šťuku severnú a v oblasti Zemplínskej šíravy mal najmenšie nálezy PCB pstruh potočný. Obdobné výsledky sme zaznamenali aj pri 95 % percentile, kedy sa hodnoty z okresu Michalovce pohybovali v rozpätí od 34,331 do 442,594 mg.kg⁻¹ a z územia Slovenskej republiky od 0,012 do 15,256 mg.kg⁻¹.

Pri porovnaní jednotlivých odberov (roky 2002-2004) z lokality Zemplínska šírava sme zistili najväčšie obsahy PCB u karasa striebristého a to 133,716 a 139,554 mg.kg⁻¹ v prvých rokoch sledovania, pričom rok 2003 sa vyznačoval vysokými nálezmi PCB i v ďalších druhoch rýb (šťuka severná, pleskáč vysoký a zubáč obyčajný). V nasledujúcom roku došlo k poklesu hodnôt u všetkých sledovaných druhov (okrem pstruha potočného), pričom toto zníženie sa najvýraznejšie prejavilo u karasa striebristého (na hodnotu 14,485 mg.kg⁻¹). Zo sledovaných druhov sladkovodných rýb mal najnižší obsah PCB pstruh potočný a to 10,829 mg.kg⁻¹ (rok 2002). Od začiatku odberov mali nálezy PCB v nedravých rybách klesajúcu tendenciu, zatiaľ čo u dravých rýb sme zaznamenali najvyššie hodnoty v roku 2003 (okrem pstruha potočného, kde sa nálezy PCB postupne zvyšovali od roku 2002).

Priemerné nálezy PCB z rýb z územia Slovenska dosahovali výrazne nižšie hodnoty oproti rybám zo Zemplínskej šíravy. V roku 2002 sme zaznamenali najvyššie obsahy PCB v telách všetkých sladkovodných rýb až na pleskáča vysokého a pstruha potočného, pričom karas striebřistý dosiahol maximálnu hodnotu až 14,247 mg.kg⁻¹. Najnižšie PCB sme zistili v roku 2003 vo všetkých dravých i nedravých druhoch (okrem šťuky severnej). V nasledujúcom roku došlo k miernemu nárastu sledovaných hodnôt u všetkých druhov rýb okrem pleskáča vysokého, kde sa výraznejšie zvýšila hodnota PCB na 11,426 mg.kg⁻¹. Najnižší nález PCB sme zaznamenali u šťuky severnej v roku 2004 a to 0,003 mg.kg⁻¹.

Na základe závažných nálezov PCB v lovných rybách ŠVPS v Michalovciach v roku 2002 nariadila mimoriadne veterinárne opatrenia a vydala príkaz na zákaz lovu a konzumácie rýb (vrátane športového rybolovu „chyt' a pust'“) pre celú oblasť Zemplínskej šíravy a príkaz na

umiestnenie výstražných tabúl na vstupoch do jednotlivých rekreačných stredísk. Nakoľko ďalšie riešenie týchto závažných problémov spadalo do kompetencie Ministerstva životného prostredia a jednalo sa o závažný ekologický problém (rekreačná oblasť, kúpanie, rybolov, reštaurácie) ŠVPS SR požiadala MŽP SR o urgentnú kontinuitu v riešení, vypracovanie celkovej stratégie a možností zaradenia uvedeného regiónu do medzinárodného projektu na ozdravenie tejto oblasti (Bíreš a kol., 2003).

Záver

Pravidelným Monitoringom poľovnej zveri a rýb, ktorý je súčasťou Monitoringu životného prostredia SR, sa v svalovine dravých i nedravých sladkovodných rýb potvrdila kontaminácia riek polychlorovanými bifenyli v okolí Chemka Strážske, kde bola v minulosti sústredená ich výroba. Kontaminácia je taká rozsiahla, že nálezy prekračujú 14 až 6900 násobok hodnoty PCB na ostatnom území Slovenskej republiky. Najviac kontaminovanou rybou na oboch porovnávaných územiach je karas striebristý. Najnižšie nálezy PCB sa našli na území našej republiky v svalovine šťuky severnej a v rizikovej lokalite Michaloviec pstruh potočný. Ryby ako dobré indikátory znečistenia našej prírody v sebe kumulujú toxické látky, čím ohrozujú zdravie budúcich konzumentov dietetického, ľahko stráviteľného mäsa. Toto nebezpečenstvo hrozí hlavne v povodí riek Bodrog, Tisa, Latorica, Laborec, Hornád ako aj v okolí vodnej nádrže Zemplínska šírava, ktorá je druhou najväčšou vodnou plochou na Slovensku s rozlohou 33 km². Je zrejme, že kontaminácia okolia Chemka Strážske je natoľko rozsiahla, že bude ťažko možné ju úplne odstrániť. Je však potrebné uskutočniť všetky opatrenia, ktoré by zabránili ďalšiemu rozširovaniu kontaminácie a dekontaminovať najhoršie postihnuté oblasti. Súčasne je potrebné uskutočniť opatrenia, ktoré minimalizujú dopad kontaminácie na obyvateľov regiónu.

Literatúra

1. Bíreš, J., Kožutský, J., Rajzák, P., Breyl, I., Miššík, J., Hajduk, J.: Monitoring poľovnej, voľne žijúcej zveri a rýb v Slovenskej republike. Správa za rok 2002, Bratislava. Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky, 2003, 20 s.
2. Filkorn, P.: Stratégia v znižovaní doxínov a polychlorovaných bifenylov v životnom prostredí, krmivách a v potravinách – integrovaný prístup. ÚKSÚP Bratislava, 2000, 9 s.
3. Garrow, J.S., James, W.P.T.: Human Nutrition and Dietetics. Churchill Livingstone, London: 1993, 847 pp.
4. Hojsík, M.: Chemko Strážske – neblahá minulosť s následkami pre budúcnosť. Greenpeace Slovensko, Bratislava, 2002, 38 s.
5. Chriaštel, R. a kol.: Počiatočná pomoc Slovenskej republike pri plnení záväzkov vyplývajúcich zo Štokholmského dohovoru o perzistentných organických látkach (POPs). Návrh národného realizačného plánu pre implementáciu Štokholmského dohovoru o POPs v Slovenskej republike. Technická správa 5. MŽP SR, SHMÚ: 2004, 150 s.
6. Kočan A., Drobná B., Chovancová J., Kočan J., Petrik J., Szabová E.: Zaťaženie životného prostredia a ľudskej populácie v oblasti kontaminovanej polychlorovanými bifenyli, správa za 1. rok riešenia. ÚPKM, Bratislava, 1998, 113 s.
7. Kočan, A., Petrik, J., Drobná, B., Chovancová, J., Jursa, S., Pavuk, M., Kovriznych, J., Langer, P., Bohov, P., Tajtáková, M., Suchánek, P.: Zaťaženie životného prostredia a ľudskej populácie v oblasti kontaminovanej polychlorovanými bifenyli, správa za 2. rok riešenia. ÚPKM, Bratislava, 1999, 216 s.
8. Pokorná, T.: Polychlorované bifenyly. The Waste IV., 2005, p. 9-15.
9. USEPA (United States Environmental Protection Agency): Polychlorinated Biphenyls.

Ambient Water Quality Criteria Document. Washington, D.C.: EPA 440/5-80-068, 1980, pp. C-3.

10. Velíšek, J.: Chemie potravin 3. OSSIS, Tábor, 1999, 368 s.

11. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 981/1996-100 z 20.5.1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá a tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu Slovenskej republiky. Vestník Ministerstva zdravotníctva SR, 44, 9-13, 1996, s. 56-141.

MICROSATELLITE DIVERSITY OF LARGE WHITE PIG IN SLOVAKIA.

Židek, R., Jakabová, D., Trandžík, J., Kozlík, P., Haško, M., Jakab, F., Zurovacová, B., Massányi, P.

State Breeding Institute, Slovak Republic, State Breeding Inspection, Slovak Republic
Mendel University of Agriculture and Forestry, Czech Republic

Abstract

Microsatellite data (*SW24*, *SO107*, *SO68*, *SW936*, *SW353*, *SO386*, *SO355*, *SW72*, *TNFB*, *SO070*) were used for estimation of genetic variability in Large White pig population of Slovak Republic. A total of 174 animals representing the 51 lines of Slovak studs were analyzed in our study. Estimates of average observed and expected heterozygosities, total number of alleles per breed, polymorphism information content, *Fst*, *Fit*, *Fis* were determined. The number of alleles varied from 6 to 13. The highest observed heterozygosity was detected at *TNFB* (0.836), whereas *SO386* showed the lowest heterozygosity (0.724). Mean polymorphism information content was 0.690. Genetic differentiation between lines was moderate with a mean *Fst* value 0.351, which shows high variability level.

Introduction

The main ambition in swine breeding strategy is the highest production of economic relevant traits and properties. Improvement is the purpose of creation of breeding programs focused to quality individual selection, which genes are expanded to main population via modern technology procedures. This kind of process leads to improvement of population, as well as loss of genetic diversity.

Deficit of genetic diversity is thoroughly described in Hammond and Leitch (1996) and Ruane (1999,2000). The discovery of polymorphism in microsatellites has led to the establishment of extremely powerful method for detection of genetic variability in animal populations Laval et al. (2000), Kaul et al. (2001), Li et al., (2004). Our study was focused to between line genetic diversity analysed using ten commercial microsatellite markers in Slovak Large White population.

Material and methods

A total of 174 animals representing the 51 lines of Slovak studs were analysed in our study. Genomic DNA was extracted from whole blood using the Wizard Genomic DNA Purification Kit according to a standard protocol (Promega). DNA Microsatellite markers *S0068*, *SO107*, *SW24*, *SO355*, *SO386*, *SW353*, *SW936*, *SO070*, *SW72*, *TNFB* were combined in multiplex-polymerase chain reaction using fluorescently labelled primers (Putnová et al, 2003). PCR products were separated on capillary sequencer ABI 310 (Applied Biosystems). Fragment size analysis was performed with software GeneScan 3.7 NT (Applied Biosystems). The amount of variation in each population was measured with the average number of alleles per locus and observed (*H_o*) and expected (*H_e*) heterozygosity (Nei, 1978) calculated with the POWERMARKER 3.23 (Liu and Muse, 2003). Population structure was evaluated by the hierarchical F statistic - *Fis*, *Fst* (Weir and Hill, 2002). Calculations of distance measures were estimated by the method of Nei (1973). Neighbour-joining (NJ) tree was constructed by POWERMARKER 3.23 (Liu and Muse, 2003).

Results and discussion

A total of 91 alleles were detected, and 235 genotypes were observed. The average values of gene diversity and heterozygosity were 0.724 and 0.721 respectively. Polymorphic information content (PIC) for each microsatellite system was ranged between 0.488 and 0.836.

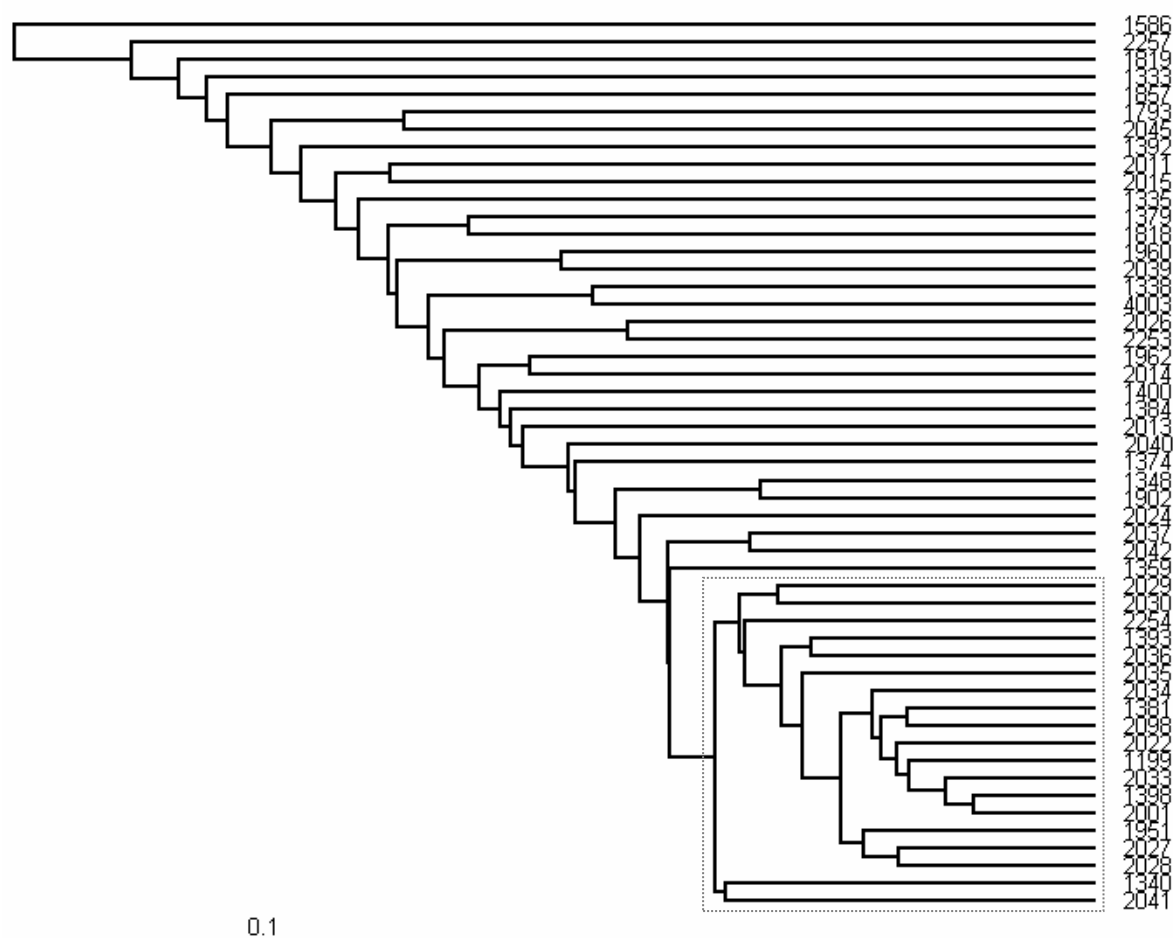
According to PIC value we are able to confirm, the selected microsatellite systems provide sufficient power in genetic diversity observation of selected groups of animals. PIC value is similar to Chinese swine population 0.63 (Li et al., 2004), and is lower than values 0.72 – 0.82 calculated in Indian swine population (Kaul et al., 2001). The gene diversity and observed heterozygosity were higher than average values calculated in European breed of swine (Laval et al., 2000). As we can see, the average value of F_{ST} (0.351) pointed out that 35.1% of genetic variability is caused by between line differences (table 1).

Table 1: Calculated values of genetic diversity in Slovak Large White population

Marker	Genotype No.	No. of observations	Alleles	Gene Diversity	Heterozygosity	PIC	FIS	FIT	F_{ST}
PSW24	28	173	11	0.718	0.786	0.685	-0.570	-0.037	0.339
PSO107	36	162	12	0.841	0.759	0.822	-0.431	0.140	0.399
PSO068	20	171	9	0.622	0.655	0.593	-0.536	-0.020	0.336
PSW936	21	172	8	0.762	0.779	0.726	-0.448	-0.021	0.295
PSW353	11	158	6	0.532	0.525	0.488	-0.571	0.068	0.407
PSO386	17	152	8	0.708	0.651	0.659	-0.453	0.099	0.380
PSO355	17	154	7	0.741	0.714	0.698	-0.450	0.096	0.376
PSW72	16	173	6	0.721	0.688	0.673	-0.510	0.028	0.356
PTNFB	34	171	11	0.800	0.836	0.775	-0.484	-0.044	0.296
PSO070	35	172	13	0.799	0.820	0.775	-0.521	-0.007	0.338
Mean	23.5	165.8	9.1	0.724	0.721	0.690	-0.494	0.030	0.351

In observed population, dendrogram shows several clusters which represented between line relationships in observed population (picture 1). Genetic distance was calculated by Nei (1973), and had ranging from 0.048 to 0.625. The average value based on individual distances between all used animals combinations was 0.263. Dendrogram shows relatively high distances between lines. In small „squared“ part of dendrogram (picture 1) is observable influence of homogenization. According to dendrogram and another biodiversity data, we can resume, the population of Slovak Large White is not affected by loss of genetic diversity.

Picture 1: Dendrogram of between line genetic diversity calculated by Neighbor-Joining method.



References

1. HAMMOND, K. – LEITCH, H. W. 1996. The FAO Global Program for the Management of Farm Animal Genetic Resources. In: XX Beltsville Symposia in Agricultural Research. Biotechnology's Role in the Genetic Improvement of Farm Animals. Savoy, 1996, s. 24 – 42.
2. KAUL, R. - SINGH, A. – VIJH, R.K. – TANTIA, M. S. – BEHL, R. 2001. Evaluation of the genetic variability of 13 microsatellite markers in native Indian pigs. In: Journal of Genetics, vol. 80, 2001, 3, p. 149 – 153
3. LAVAL, G. – IANNUCELLI, N. – LEGAULT, CH. – MILAN, D. – GROENEN, A.M.M. – GIUFFRA, E. – ANDERSSON, L. – NISSEN, H.P. – JORGENSEN, B.C. – BEECKMANN, P. – GELDERMANN, H. – FOULLEY, J. – CHEVALET, C. – OLLIVIER, L. 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. In: Genet. Sel Evol. 32, 2000, p. 187 – 203
4. LI, S.J. – YANG, S.H. – ZHAO, S.H. – FAN, B. – YU, B. – WANG, H.S. – LI, M.H. – LIU, B. – XIONG, T.A. – LI, K. 2004. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. In: Journal of Animal Science. 2004 vol. 82, p 368 – 374
5. LIU, K. 2003. Power Marker : New Genetic Data Analyzis Software, Version 3.25
6. NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided population. In: Proc. Nat Acad. Sci, vol 70, 1973, s 3321 – 3323.

7. RUANE, J. 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. In: *J. Anim. Breed. Genet.*, vol.116, 1999, s. 317 – 323.
8. RUANE, J. 2000. A Framework for Prioritizing Domestic Animal Breeds for Conservation Purposes at the National Level: a Norwegian Case Study. In: *Conservation Biology*, vol.14, č. 5, 2000, s. 1385 – 1393.
9. WEIR, B.S. and HILL, W.G. 2002. Estimating F-statistics. *Annu. Rev. Genet.* 36: 721–750.