

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE  
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

2123836

**VPLYV OLOVA NA CELKOVÚ ANTIOXIDAČNÚ  
AKTIVITU LÁSKAVCA A SLNEČNICE ROČNEJ**

**2011**

**Bc. Jozef Bucher**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE  
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**VPLYV OLOVA NA CELKOVÚ ANTIOXIDAČNÚ  
AKTIVITU LÁSKAVCA A SLNEČNICE ROČNEJ**

**Diplomová práca**

**EFFECT OF LEAD ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
AMARANTH AND SUNFLOWER**

Študijný program:	Biotechnológia
Študijný odbor:	2908800 Biotechnológia
Školiace pracovisko:	Katedra chémie
Školiteľ:	prof. RNDr. Alena Vollmannová, PhD

## Čestné vyhlásenie

Podpísaný Jozef Bucher vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Vplyv olova na celkovú antioxidantnú aktivitu Láskevca a Slnčnice ročnej“ vypracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomý zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 14. apríla 2011

.....

## **Pod'akovanie**

Touto cestou si dovoľujem poďakovať prof. RNDr. Alene Vollmannovej, Phd. za pomoc a cenné rady pri vypracovaní tejto diplomovej práce, ako aj za poskytnutú literatúru.

## Abstrakt

V predkladanej práci sme sa zaoberali vplyvom olova na schopnosť tvorby antioxidantne pôsobiacich látok v ľaskavci chvostnatom a slnečnici ročnej. Pozornosť sme venovali aj vlastnostiam rizikových látok s dôrazom na olovo, ich výskytu v ovzduší, vode, pôde a vplyvom na biotické systémy. Okrem škodlivého a pre životné prostredie toxického olova, je v tejto práci rozobratá aj problematika antioxidantov, ich význam, rozdelenie, výskyt, zdroje a celkové pôsobenie na ľudské zdravie. Skúmané rastliny obsahujú veľké množstvo bielkovín a minerálnych látok v semenách, ale i listoch. Preto sa niektoré druhy a ich hybridy začínajú využívať ako alternatívne plodiny. Naš experiment sme uskutočnili formou nádobového pokusu. V modelových podmienkach stupňovanej metalickej záťaže pôd olovom sme sledovali schopnosť kumulácie olova v rôznych častiach plodín, pričom obe rastliny preukázali značnú schopnosť kumulovať olovo najmä v nadzemnej fytomase. Slnečnica a ľaskavec patria medzi rastliny tvoriace veľký objem biomasy a preto môže ich alternatívne využitie spočívať vo fytoremediácii pôd. So stúpajúcou dávkou olova stúpala aj antioxidantná aktivita slnečnice. Môže to byť dôsledok obrannej reakcie rastliny na olovom vyvolaný stres, pričom sa tvoria polyfenolové zlúčeniny s antioxidantným účinkom. V zrne ľaskavca sa vplyv olova prejavil iným spôsobom, olovo inhibovalo antioxidantnú aktivitu zrna ľaskavca. Naše výsledky naznačujú, že obidve plodiny sú významným zdrojom antioxidantov, avšak význam ľaskavca a slnečnice ako poľnohospodárskych plodín dostáva aj nový rozmer ich využitia a to ako "environmentálnych" rastlín.

**Kľúčové slová:** antioxidanty, olovo, ťažké kovy, slnečnica, ľaskavec, fytoremediácia

## Abstract

In the present work we address the effects of lead on the ability of antioxidant active substances in amaranth (*Amaranthus caudatus red*) and sunflower (*Helianthus annuus*). Attention was paid to the characteristics of hazardous substances, with emphasis on the lead, their presence in air, water, soil and effects on biotic systems. In addition to harmful and environmentally toxic lead, in this work the issue of antioxidants and their importance, distribution, abundance, sources and the overall effect on human health is also addressed. Studied plants contain large amounts of proteins and minerals in seeds, but also in leaves. Therefore, some species and their hybrids are starting to be used as alternative crops. Our experiment was conducted by pot experiment. In model terms of graduation metallic load of the soil with lead, we followed the ability of lead accumulation in different parts of the plant, while both plants showed considerable ability to accumulate lead particularly in the aboveground phytomass. Sunflower and amaranth belong to the group of plants which produce large amounts of biomass and therefore they may be alternatively used in phytoremediation of polluted soils. With increasing dose of lead also the antioxidant activity of the sunflower has grown. This may be a result of plant defence responses to lead-induced stress, which are forming polyphenolic compounds with antioxidant effect. The amaranth grain, the impact of lead showed itself otherwise, lead inhibited antioxidant activity of the amaranth grain. Our results indicate that both crops are an important source of antioxidants; however the importance of amaranth and sunflower as crop plants gets a new dimension to their use as "environmental" plants.

**Key words:** antioxidants, lead, heavy metals, sunflower, amarant, fytoremediation

# Obsah

<b>Obsah .....</b>	<b>7</b>
<b>Zoznam skratiek a značiek.....</b>	<b>9</b>
<b>Úvod .....</b>	<b>10</b>
<b>1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky .....</b>	<b>11</b>
1.1 Ťažké kovy v životnom prostredí .....	11
1.1.1 Vplyv ťažkých kovov na rastliny .....	16
1.2 Olovo v životnom prostredí .....	18
1.2.1 Fyzikálne a chemické vlastnosti olova .....	18
1.2.2 Znečistenie ovzdušia olovom.....	19
1.2.3 Znečistenie vôd olovom.....	19
1.2.4 Znečistenie pôd olovom.....	21
1.3 Olovo v poľnohospodárskych plodinách.....	23
1.3.1 Transfer olova v systéme pôda - rastlina .....	23
1.3.2 Kumulácia olova v konzumných častiach rastlín.....	23
1.3.3 Vplyv olova na človeka .....	24
1.4 Remediácia pôdy kontaminovanej ťažkými kovmi.....	26
1.4.1 Fytoremediácia .....	26
1.5 Antioxidanty .....	27
1.5.1 Príjem antioxidantov výživou .....	32
1.5.2 Antioxidanty vo vzťahu k výskytu civilizačných ochorení .....	34
<b>2 Cieľ práce.....</b>	<b>36</b>
<b>3 Materiál a metodika.....</b>	<b>37</b>
3.1 Forma experimentu.....	37
3.2 Charakteristika plodín .....	37
3.2.1 Láskavec chvostnatý .....	37
3.2.2 Slničnica ročná .....	38
3.3 Odber a úprava pôdnej vzorky .....	38
3.4 Chemická analýza pôdnych vzoriek.....	38
3.4.1 Stanovenie aktívnej pôdnej reakcie (pH/H <sub>2</sub> O).....	38
3.4.2 Stanovenie výmennej pôdnej reakcie (pH/KCl) .....	39
3.4.3 Stanovenie obsahu ťažkých kovov vo výluhu NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> .....	39
3.4.4 Stanovenie obsahu ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej .....	39

3.4.5	Stanovenie „rastlinám prístupných foriem“ pôdneho draslíka, horčíka, fosforu a mobilnej formy pôdneho vápnika v pôdnom výluhu Mehlich II .....	40
3.4.6	Stanovenie C org. a humusu v pôde podľa Ťurina v modifikácii podľa Nikitina .....	40
3.5	Atómová absorbčná spektrofotometria.....	41
3.6	Meranie DPPH – Antioxidačná kapacita.....	41
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskusia .....</b>	<b>44</b>
4.1	Pôda .....	44
4.1.1	Výsledky stanovení makroelementov v sledovaných vzorkách pôdy .....	44
4.1.2	Výsledky stanovení ťažkých kovov v sledovaných vzorkách pôdy .....	44
4.2	Rastliny.....	46
4.2.1	Výsledky stanovenia obsahu olova v zrne slnečnice ročnej .....	46
4.2.2	Výsledky stanovenia obsahu olova v slame slnečnice ročnej.....	47
4.2.3	Výsledky stanovenia obsahu olova v zrne laskavca chvostnatého .....	49
4.2.4	Výsledky stanovenia obsahu olova v slame laskavca chvostnatého.....	50
4.3	Výsledky stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity slnečnice a laskavca.....	52
4.3.1	Celková antioxidačná kapacita slnečnice ročnej.....	52
4.3.2	Celková antioxidačná kapacita laskavca chvostnatého.....	54
<b>5</b>	<b>Návrh na využitie poznatkov.....</b>	<b>58</b>
	<b>Záver .....</b>	<b>60</b>
	<b>Zoznam použitej literatúry .....</b>	<b>61</b>
	<b>Prílohy.....</b>	<b>66</b>



## Zoznam skratiek a značiek

DPPH – stabilný radikál 2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl

HPLC – vysoko účinná kvapalinová chromatografia

Kys. – kyselina

AAS - Atómová absorbná spektrofotometria

mg - miligram

g - gram

kg - kilogram

mol - molekulová hmotnosť

Pb<sup>2+</sup> - olovnatý kation

dm<sup>3</sup> - decimeter kubický

°C - stupeň celzia

Tab - tabuľka

## Úvod

V dôsledku antropogénnej činnosti človeka dochádza ku kontaminácii jednotlivých zložiek životného prostredia, vzduchu, vody, pôdy rôznymi kontaminujúcimi látkami, z ktorých sa v posledných rokoch venuje zvýšená pozornosť ťažkým kovom. Veľmi často sú ťažké kovy, v pôde prítomné vo formách neprístupných pre rastliny.

Vplyvom procesov, prebiehajúcich v pôde, však časť ťažkých kovov prechádza do biologicky prístupných foriem, ktoré sú prijímané rastlinami, čím dochádza ku kontaminácii rastlinnej produkcie. (Szabová, et al., 1998).

S rozvojom ľudskej spoločnosti sa spozoroval aj vznik rôznych civilizačných chorôb, ktoré sú často spôsobované zlými stravovacími návykmi, (mozgová porážka, infarkt miokardu, rakovina tráviaceho ústrojenstva,...). Týmto ochoreniam je možné predchádzať pravidlami racionálnej výživy, do ktorej určite patria aj potraviny s obsahom antioxidantných látok. Na produkciu antioxidantných látok v rastlinách výrazne vplýva aj kontaminácia týchto rastlín ťažkými kovmi, čo sa prejavuje ich vzájomným antagonistickým vzťahom. Ťažké kovy sú nielen pre živé organizmy toxické, ale často je ich pôsobenie karcinogénneho, alebo mutagénneho charakteru, čo výrazne vplýva na ich rizikovosť už pri nízkych koncentráciách. Širokej verejnosti je často prostredníctvom médií predkladaná problematika voľných radikálov a antioxidantov. O nutnosti prijímať antioxidanty čo v najväčšej miere a o ich bezvýhradne pozitívnych účinkoch na ľudský organizmus. Často tak dochádza k míľnej predstave ľudí o voľných radikáloch a pôsobení antioxidantov na ľudské zdravie.

# 1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

V období vedeckotechnickej revolúcie sa veda stáva výrobnou silou, nastáva priame spojenie vedy s výrobou. Objem produkcie, ako aj samotná produkcia sa zrýchľuje, skracuje sa inovačný cyklus, nastupuje automatizácia v priemysle, i v poľnohospodárstve. (Cotton et al., 1966)

To umožňuje intenzifikovať využívanie prírodných zdrojov natoľko, že sa narušuje pôvodná ekologická rovnováha. Industrializácia, ekonomický aj vedeckotechnický rozvoj zapríčinili zvýšenie znečistenia prostredia. Preto sa v súčasnosti musí uprednostniť starostlivosť o životné prostredie. (Blažej et al., 1981)

Zvýšenú pozornosť treba venovať úniku škodlivých produktov a zložiek výroby do životného prostredia. Ktoré môžu značne ohroziť biodiverzitu a mať celkovo negatívny dopad na oblasť rastlinnej, živočíšnej výroby a s tým súvisiacim zdravím človeka. Je preto dôležité, aby sa v priemysle zaviedli také postupy, ktoré umožňujú čo najmenší únik nebezpečných látok do ovzdušia, vôd a pôd. Je potrebné neustále vylepšovať a zavádzať nové pracovné postupy aby nebola ohrozená ekonomická výnosnosť, ale zároveň ani ekologická bezpečnosť.

## 1.1 Ťažké kovy v životnom prostredí

Ťažké kovy ako kontaminanty sa môžu v potravinách vyskytovať len v nevyhnutne najmenšom množstve podľa zásad správnej výrobných praxe, najviac však v najvyššom prípustnom množstve, ktoré predstavuje celkové množstvo ťažkých kovov v jednej časti potravy. Najvyššie prípustné množstvo ťažkých kovov v potravinách predstavuje ich tolerovateľnú hornú hranicu výskytu v potravinách v číselnom vyjadrení, čím zabezpečuje minimalizáciu odhadovaného zdravotného rizika pre ľudí, najmä z hľadiska toxikologického, za predpokladu dodržiavania primeraných stravovacích zvyklostí. Správna výrobná prax má zabezpečovať znižovanie množstva ťažkých kovov v potravinách na také množstvo, ktoré umožňuje minimalizovať aj odhadované zdravotné riziká (Výnos MP SR a MZ SR, 2004).

## Arzén – As

V prírode sa vyskytuje voľný, ale najčastejšie viazaný vo forme sulfidov. Voľný arzén tvorí viaceré alotropické modifikácie, napr. sivý, žltý, čierny a hnedý. Sivý arzén má kovový vzhľad i charakter a vysokopolymérnu štruktúru. Je najstabilnejšou modifikáciou arzénu. (Gažo et al., 1981)

Tab. č. 1 Fyzikálne vlastnosti arzénu: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Relatívna atómová hmotnosť	74,92 g/mol
Bod topenia	817 °C
Bod varu	356,9 °C, subl
Hustota	5,73 g.cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť podľa Mohsovej stupnice	3,5

Arzén je známy vo viacerých oxidačných stupňoch: As<sup>-3</sup>, As<sup>-2</sup>, As<sup>2</sup>, As<sup>3</sup>, As<sup>5</sup>. Zahrievanie arzénu na vzduchu vedie k jeho horeniu sivým plameňom, pričom sa vytvára oxid arzenitý As<sub>4</sub>O<sub>6</sub>, ktorý s vodou reaguje na kyselinu arzenitú H<sub>3</sub>AsO<sub>3</sub>.

(Gažo et al., 1981)

Žíhaním hydratovaného oxidu arzenitého vzniká oxid arzeničný, As<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, ktorý sa vo vode rozpúšťa na kyselinu trihydrogénarzeničnú. Ľahko sa zlučuje s chlóróm, i s ďalšími halogénmi na halogenidy arzenité AsX<sub>3</sub>. Tieto vo vode hydrolyzujú na kyselinu arzenitú. Halogenidy sa dajú pripraviť aj reakciou oxidu arzenitého a halogénovodíka.

Reakciou kyseliny arzenitej a arzeničnej so sulfánom vznikajú sulfid arzenitý As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, resp. arzeničný As<sub>2</sub>S<sub>5</sub>. S alkalickými kovmi dáva arzén arzenidy a ich rozkladom vzniká arzán AsH<sub>3</sub>. S ťažkými kovmi dáva zliatiny. Nerozpúšťa sa v silných kyselinách. (Lazarev, 1959)

## Kadmium - Cd

Kadmium ako prvok podskupiny zinku patrí do II.B podskupiny periodickej sústavy prvkov. Je to mäkký, striebrobiely kov s hexagonálnou štruktúrou. Objavil ho v r. 1817 Stromeyer ako nečistotu v zinkových rudách, vyskytuje sa aj v olovených rudách a v polymetalických meďnato-olovnato-zinočnatých rudách. (Gažo et al., 1981)

Tab. č. 2 Fyzikálne vlastnosti kadmia: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	112,4 g/mol
Bod topenia	320,9 °C
Bod varu	765 °C
Hustota	7,14 g.cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	2,5

Chemické vlastnosti a zlúčeniny kadmia:

Na vzduchu je kadmium pomerne stále, nepodlieha korózii. Pre kadmium je typický druhý oxidačný stupeň. Popísaných je len niekoľko zlúčenín v prvom oxidačnom stupni. Horením na vzduchu dáva kadmium do hnedá sfarbený oxid kademnatý. Po zahriatí reaguje kadmium s viacerými prvkami napr. Te, P, S a Se. S horúcou kyselinou chlorovodíkovou reaguje pomali za tvorby vodíka. Rýchlo sa oxiduje a reaguje v horúcej kyseline dusičnej. (Lazarev, 1959)

### Chróm – Cr

Vzhľadom k svojim vlastnostiam má chróm široké využitie v oceliarskom priemysle. V živých organizmoch je v stopovom množstvách významným esenciálnym prvkom, a to najmä vo forme chromitého katiónu Cr<sup>3+</sup>, na rozdiel od chrómu šesťmocného, ktorý je klasifikovaný ako silná toxická látka. (Lazarev, 1959)

Zlúčeniny šesťmocného chrómu sú známe karcinogény (spôsobujúce rakovinu pľúc), niektoré majú i mutagénne účinky, poškodzujú pečeň, ľadviny a spôsobujú vnútorné krvácania. (Lazarev, 1959)

Tab. č. 3 Fyzikálne vlastnosti chrómu: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	51,9961g/mol
Bod topenia	1906,85°C
Bod varu	2670,85°C
Hustota	7,15 kg·dm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	8,5

## Med' – Cu

Používa sa na výrobu meďenného drôtu, súčiastok prístrojov a rôznych elektrotechnických zariadení. Je zložkou rôznych zliatin: bronzu, mosadze a rôznych zliatin s niklom. Získava sa zo sírnych rúd pražením a potom tavením s kremeňom („čierna meď“), prevedením medi z rúd do roztoku sa už len vyzráža pomocou železa. (Lazarev, 1959)

Tab. č. 4 Fyzikálne vlastnosti medi: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	63,546 g·mol <sup>-1</sup>
Bod topenia	1084,62 °C
Bod varu	2562 °C
Hustota	8,96 g·cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	3,0

Chemické vlastnosti:

Na vzduchu sa pomali pokrýva vrstvou kyselého oxidu, alebo zásaditých solí. Veľmi rýchlo sa oxiduje pri zahrievaní. Je rozpustná v kyseline dusičnej HNO<sub>3</sub> a v koncentrovanej kyseline sírovej H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. (Lazarev, 1959)

## Ortuť – Hg

Ortuť patrí do II.B skupiny periodickej sústavy, do podskupiny zinku, podobne ako kadmium. Pri izbovej teplote je ortuť jediným kvapalným kovom, kvôli svojej pohyblivosti bola v staroveku často nazývaná aj „živé striebro“. Ortuť je ťažká, striebrobiela, veľmi lesklá a na vzduchu stála kvapalina. Už pri nízkych teplotách ortuť intenzívne prchá, uvoľňujúc toxické pary. Pod teplotou tavenia je ortuť biela tuhá látka. (Lazarev, 1959)

Tab. č. 5 Fyzikálne vlastnosti ortuti: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	200,5g·mol <sup>-1</sup>
Bod topenia	-38,83 °C
Bod varu	356,73 °C
Hustota	13,534 g·cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	-

Chemické vlastnosti a zlúčeniny ortuti:

Ortuť je ušľachtilý kov, na vzduchu pri laboratórnej teplote stály. V zlúčeninách sa ortuť vyskytuje v oxidačnom stupni I a II. Pri zvýšenej teplote sa oxiduje na oxid ortuťnatý HgO, ktorý sa však pri ďalšom zvýšení teploty rozkladá. Možno ho pripraviť aj zrážaním ortuťnatých kationov hydroxidovými iónmi. Ortuť tvorí binárne zlúčeniny so sírou HgS a chlóróm HgCl<sub>2</sub>, s kovmi dáva amalgámy. Pri zvýšenej teplote ortuť dobre reaguje s kyselinou sírovou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i s kyselinou dusičnou HNO<sub>3</sub>. Podľa toho, či je v nadbytku ortuť, alebo kyselina, vzniká ortuťná, alebo ortuťnatá soľ. Octan ortuťnatý je vo vode rozpustný biely prášok. (Lazarev, 1959)

### Zinok – Zn

Odhadovaný obsah zinku v litosfére ja 0,02%. Vyskytuje sa v zlúčeninách (mineráloch): ZnS (sfalerit), ZnCO<sub>3</sub> (smithsonit) a ZnO (zinkit). (Poláček et al., 2005) Zinok je mäkký ľahko tavitel'ný kov, používa sa od stredoveku. Slúži ako súčasť rôznych zliatin. Používa sa pri výrobe farbív a jeho prítomnosť v potrave je nevyhnutná pre správny vývoj organizmu, avšak nadmerné množstvo môže byť škodlivé. (dostupné na [www. Wikipedia.sk](http://www.Wikipedia.sk))

Tab. č. 6 Fyzikálne vlastnosti zinku: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	65,409(30) g·mol <sup>-1</sup>
Bod topenia	419,53 °C
Bod varu	907 °C
Hustota	7,14 g·cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	2,5

Chemické vlastnosti:

Vzácné sa v prírode môžeme stretnúť aj s elementárnym , kovovým zinkom. Zinok je pomerne reaktívny prvok, na vzduchu sa pokrýva vrstvou uhličitanu a oxidu zinočnatého. (dostupné na [www. Wikipedia.sk](http://www.Wikipedia.sk))

K ďalším ťažkým kovom, ktoré môžu kontaminovať pôdu, vodu a ovzdušie patria prvky: (Titán- Ti, Kobalt- Co, Telúr- Te, Tálum- Tl, Rubídium- Rb, Stroncium- Sr, Zirkón- Zr, Lítium- Li,...), no sú zaradené do skupiny prvkov so stredným až nízkym stupňom ohrozenia.

Medzi nebezpečné kontaminanty ako sú (As, Cd, Hg, Cr, Zn, Cu,) zaraďujeme aj olovo- Pb. Fyzikálnym a chemickým vlastnosťami olova, ako aj jeho toxicite sú venované nasledujúce state.

### **1.1.1 Vplyv ťažkých kovov na rastliny**

Väčšina rastlín je citlivá na ťažké kovy (Ernst et al. 2004). Ak sa aj objavia na toxickom stanovišti, rastú s menším či väčším poškodením. Na obsah ťažkých kovov reagujú poruchami funkcie prieduchov, potlačením fotosyntézy, narušenou respiráciou a činnosti enzýmov, čo sa prejavuje zabrzdzením rastu až uhynutím. Preto možno nájsť na substrátoch bohatých na ťažké kovy takéto abnormálnosti:

- zakrpatené rastliny, tzv. nanizmy, napr., u klinčeka kartuziánskeho.
- chloróza – porucha metabolizmu chlorofylu (Cu) (Ernst et al., 2004)

Vysoký obsah ťažkých kovov v pôde má silný selekčný tlak na vegetáciu. Väčšina rastlinných druhov nie je schopná sa prispôbiť. Existuje však úzka skupina rastlín - špecialistov, ktoré takéto pôdy znášajú (Ernst 1974; Ernst et al., 1992). Výskumy ukázali, že sa v rámci určitého druhu vytvárajú tolerantné ekotypy, ktoré sú prispôbené na takéto stanovište. Pritom adaptácia sa nemusí na vonkajšom vzhľade rastliny vôbec prejavíť. Vývoj tolerantných ekotypov prebieha veľmi rýchlo. Tolerantné jedince sa môžu vyselektovať v jednej generácii a ich tolerancia je geneticky fixovaná pre ďalšie generácie. Ekotypy rastlín majú toleranciou len k jednému alebo dvom kovom, tolerancia k ďalším kovom nie je automatická. (Ernst et al. 2004)

Za uplynulé roky sa zistilo, že tolerantné ekotypy vytvárajú napr. niektoré druhy tráv (Psinček obyčajný, Psinček výbežkatý, Kostrava červená, Kostrava ovčia, Tomka voňavá), a bylín (Silenka obyčajná, Knotovka červená, Štiavnička obyčajná, Peniaštek



modrastý, Vres obyčajný). Okrem ekotypov spomínaných druhov tráv a bylín, tolerantných voči ťažkým kovom, lišajníkom zabezpečuje toleranciu pravdepodobne riasová zložka (Bačkor et al., 1998; Bačkor, 2002).

Analýzy rôznych orgánov rastlín umožnili zistiť funkčný vzťah medzi príjmom, translokáciou a akumuláciou kovov. Baker (1981) zistil, že rôzny spôsob príjmu kovov súvisí s rôznou toleranciou a toxicitou.

Ióny ťažkých kovov do rastlín môžu vstupovať počas pestovania na pozemkoch s ich vyššími obsahmi v pôde. Po vstupe sú transportované do rastlinnej bunky, kde môžu ovplyvňovať celú radu biologických a biochemických pochodov. Veľkým problémom je potom vznik voľných kyslíkových radikálov. Zvýšený obsah takýchto molekúl môže rastlinu silne poškodiť až zahubiť. Z týchto dôvodov si rastliny boli nútené vytvoriť detoxikačný mechanizmus, vďaka nemu eliminujú ióny toxických kovov. (Baloun, et al., 2006)

(Baker et al., 1990) Opísal tri základné typy tolerantných rastlín:

- Excluders – obmedzenie príjmu, a transportu, imobilizácia kovu v koreni. Pri rôznej koncentrácii kovov v pôde je v nadzemných častiach rastlín relatívne nízky obsah.
- Indikátory – príjem a transport kovov je regulovaný rastlinou. Obsah kovov v rastline presne odráža obsah externého prostredia.
- Akumulátory – keď rastlina, vďaka špecializovanej fyziológii, aktívne koncentruje kovy v nadzemných častiach. Kovy sú oložené v listoch vo vakuolách.
- Hyperakumulátory - rastlina aktívne koncentruje kovy v nadzemných častiach, kde dosahujú výrazne vyššie hodnoty ako v koreňoch a v pôdach.

Väčšina rastlín na banských haldách možno zaradiť rastliny do skupiny so stratégiou indikátorov, alebo excluders (Baker et al., 1990). Ale aj medzi týmito rastlinami sa zistil rozdielny príjem kovov do nadzemných častí.

## 1.2 Olovo v životnom prostredí

V prírode sa nachádza vo forme zlúčenín, v mineráloch: galenit - PbS (leštenec olovnatý), ceruzit - PbCO<sub>3</sub>, krokoit - PbCrO<sub>4</sub>, wulfenit - PbMoO<sub>4</sub>, burnonit - 2PbS.Cu<sub>2</sub>S.Sb<sub>2</sub>S<sub>2</sub> a iných. Olovo a všetky jeho vo rozpustné zlúčeniny sú vysoko toxické. Nebezpečenstvo olova spočíva najmä v tom, že je rozpustný vo vode, rozpúšťa sa v teplej kyseline chlorovodíkovej aj v žalúdočnej šťave. Nachádza sa vo všetkých biologických systémoch. Toxické je nielen samotné olovo, ale jedovaté sú aj jeho oxidy a soli. Z oxidov je známy oxid olovnatý (PbO) a ortoolovičitan olovnatý (Pb<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). (Lazarev, 1959)

Zo solí sú toxicky najnebezpečnejšie pre ľahšiu rozpustnosť vo vode:

- dusičnan olovnatý Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
- chlorid olovnatý PbCl<sub>2</sub>
- chlorečnan olovnatý Pb(ClO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
- chloristan olovnatý Pb(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Osud olova v životnom prostredí je taký, že na vzduchu oxiduje, a vznikajú zvyčajne už jeho oxidy. (Blažej et al., 1981)

### 1.2.1 Fyzikálne a chemické vlastnosti olova

Olovo patrí do IV. skupiny periodickej sústavy prvkov. Je to modrastosivý, na čerstvom reze lesklý a veľmi mäkký, kujný kov, neušľachtilý, dá sa ľahko valcovať na plechy, lisovať na rúry, drôty a tyče. Je zlý vodič tepla a elektriny. (Lazarev, 1959)

Tab. č. 7 Fyzikálne vlastnosti olova: (Zdroj: Daučík et al., 1984)

Rel. atómová hmotnosť	207,2(82) g·mol <sup>-1</sup>
Bod topenia	327 °C
Bod varu	1737 °C
Hustota	11,347 g·cm <sup>-3</sup>
Tvrdosť v Mohsovej stupnici	1,5

Chemické vlastnosti olova:

Na vzduchu sa olovo pokrýva vrstvičkou hydroxidouhličitanu olovnatého, ktorá ho chráni pred ďalšou oxidáciou. Pri zahrievaní reaguje so sírou na sulfid olovnatý, so selénom na selenid olovnatý, s halogénmi na príslušné halogenidy olova. V kyselinách okrem kyseliny dusičnej sa slaboz rozpúšťa. V kyseline dusičnej sa rozpúšťa na dusičnan olovnatý. Voči alkáliám je olovo menej odolnejšie. S mnohými kovmi dáva zliatiny. Použitie olova je preto veľmi široké. Olovo sa vyrába najmä zo sulfidu olovnatého (galenitu). V zlúčeninách má olovo oxidačné číslo II alebo IV. (Gažo et al., 1981)

### **1.2.2 Znečistenie ovzdušia olovom**

Olovo sa donedávna dostávalo do ovzdušia predovšetkým z výfukových plynov benzínových motorov. Olovo sa pridávalo do benzínu vo forme tetrametyl a tetraetylolova ako antidetonačného prostriedku na zvýšenie oktánového čísla benzínu. Z celkového množstva olova v benzíne sa dostávalo exhalátmi do ovzdušia 7 - 80 %. V meste strednej veľkosti sa dostávalo do ovzdušia ročne 10 ton olova len z výfukových plynov z motorových vozidiel. Ďalším zdrojom olova, ktorý uvoľňuje olovo do ovzdušia, sú huty vyrábajúce čisté olovo. Okrem ovzdušia znečisťujú huty na výrobu olova i pôdu a vodu, pretože väčšie častice sedimentujú v blízkom okolí závodu. Výroba mosadze sa podieľa na celkovom znečistení ovzdušia olovom asi 2%. (Blažej et al., 1981)

### **1.2.3 Znečistenie vôd olovom**

Znečistenie vôd patrí ku globálnym problémom. Voda je nenahraditeľná zložka životného prostredia. Využívaním v priemysle a poľnohospodárstve sa znečisťuje najviac. Človek znečisťuje vodu buď priamo, alebo nepriamo. Najväčšou hrozbou pre vodu je priemyselná výroba (ropa, ropné produkty, organické - neorganické látky : olovo , ortuť, arzén, rádioaktívne látky), poľnohospodárstvo (priemyselne, umelé hnojivá; pesticídy; odpadové vody), sídla (produkcia kvapalného a tuhého odpadu) a doprava (exhaláty, ropné produkty). Kyslý dážď vzniká ako dôsledok silného znečistenia ovzdušia. Nečistoty sa absorbujú vzdušnou vlhkosťou a prostredníctvom zrážok sa dostávajú späť na zem. (Pitter, 1990)

Dažďová voda, aj keď nie je znečistená, je slabo kyslá. To znamená, že jej pH má hodnotu nižšiu ako 7. Bežná dažďová voda má pH 5,0 až 5,6. Je mierne kyslá, pretože vo vzduchu sa nachádza oxid uhličitý, ktorý sa absorbuje vzdušnou vlhkosťou.

Podľa pôsobenia rozlišujeme znečistenie :

- zdrojové znečistenie (spôsobuje jeden alebo viacero odtokov odpadových vôd do povrchových tokov alebo vodných nádrží).
- plošné (znečistenie nastáva väčšinou pri aplikácii priemyselných hnojív a pesticídov v poľnohospodárstve, alebo vplyvom priemyselných exhalátov i dopravy).
- havarijné – (náhly a nepredvídaný únik škodlivých látok, ako sú odpady, ropné látky do povrchných a podzemných vôd ). (Švoma, 1983)

Hnojenie kalmi z čistiarní odpadových vôd z verejných kanalizácií sa v celosvetovom meradle pokladá za užitočné. Zmeny v poľnohospodárskej výrobe v našich podmienkach mali za následok znižovanie obsahu organických látok v pôde, a tým aj hľadanie náhradných zdrojov. Práve kaly z čistiarní odpadových vôd predstavujú v priaznivom prípade potenciálne významný zdroj organických látok. Treba si však uvedomiť, že síce na jednej strane obsahujú organické látky, živiny, stopové prvky a skupiny mikroorganizmov, ale na druhej strane aj ťažké kovy, patogény a ďalšie toxické látky, hlavne tenzidy. Z týchto dôvodov sa neodporúča nekontrolovateľne používať kaly z čistiarní odpadových vôd na priamu aplikáciu v poľnohospodárstve, pretože bol dokázaný transfer rizikových prvkov cez pôdu a rastliny do tkanív živočíchov.

(Dufek, 1992)

Dufek (1992) zistil, že na základe analýzy kanalizačných kalov je ich obmedzená použiteľnosť zapríčinená hlavne kontamináciou ťažkými kovmi. Z výsledkov prieskumu vyplýva, že z preverovaných čistiarní odpadových vôd sú pre výrobu kompostov, ale aj na priamu aplikáciu nevhodné kaly z čistiarne odpadových vôd, pre obsah olova (2 960 mg.kg<sup>-1</sup>). Za hlavný zdroj znečistenia kalov olovom sa považuje brusiareň skla. Aj napriek tomu, že tento podnik má regulovaný režim vypúšťania odpadových vôd, nedodržuje ho a opakovane bolo zistené vypúšťanie kontaminovaných vôd do čistiarne odpadových vôd, v dôsledku čoho dochádza k vysokej kumulácii olova v kaloch. (Zsabová et al., 1998)

Čistiarenské kaly sú používané na zlepšenie biologických a fyzikálnych vlastností pôdy, ale aj na zvýšenie úrodnosti. (Blažej et al., 1981)

Poradie kumulácie prvkov v pôde naznačuje aj absolútne množstvo ich mobilných foriem v pôde, je však opačné k poradiu fytotoxicity daných kovov (Strnad et al., 1990).

Zinok a meď sa nezávisle od celkového obsahu v pôde nachádzajú v mobilných formách, zatiaľ čo u olova a kadmia sa podiel mobilných foriem zvyšuje s rastom celkového obsahu. Kadmium je rovnomerne rozdelené medzi prístupnými a potenciálne prístupnými formami (len pri vysokom celkovom obsahu prevažujú prístupné formy), zatiaľ čo olovo a meď sa nachádzajú prevažne v potenciálne prístupnej forme. Zvyšovaním obsahu organických látok v pôdach sa bude zvyšovať aj obsah dusíka ( $\text{NH}_4^+$ ). Amoniakálny dusík sa síce sorbuje pôdou, ale súčasne podlieha oxidácii. (Strnad, et al. 1990)

Z hľadiska ochrany životného prostredia potenciálne nebezpečnými sú oxidované formy dusíka - dusitanový a dusičnanový. Neprimeranými dávkami čistiarenských kalov sa takto nebude zvyšovať iba obsah ťažkých kovov v pôdach, ale aj obsah dusičnanov, ktoré okrem kontaminácie pôd a vôd môžu kontaminovať aj pestované plodiny. (Strnad et al., 1990)

#### **1.2.4 Znečistenie pôd olovom**

Znečistenie ovzdušia a vôd olovom úzko súvisí s nečistením pôd týmto ťažkým kovom, ktorý z atmosféry môže sedimentovať priamo do pôdy. Samotná prítomnosť olova v pôde môže vyvolávať negatívne zmeny fyzikálnych, chemických a najmä biologických vlastností pôdy. (Vilček et al., 2005)

Pôda ako konglomerát minerálnej zložky, organického materiálu – humusu, živých organizmov, vody a vzduchu je životne dôležitá pre zdravú a životaschopnú populáciu. V súčasných urbanistických oblastiach je pôda silne narušená. Medzi najviac postihnuté oblasti patria cesty a ich príľahlé plochy. (Lahučký et al., 2009) Olovo sa v pôde môže vyskytovať v rôznych formách.

Tab. č. 8 Pôdne formy olova: (Zdroj: Vilček et al., 2005)

	% z celkového obsahu olova
Mobilná, výmenná a rozpustná forma	0,05
Čiastočne mobilná, adsorbovaná a fixovaná forma	2,3
Forma viazaná na oxidy Mn	24,4
Forma viazaná v organických látkach	49,2
Forma viazaná na amorfné zlúčeniny	18,7
Forma viazaná na krištálické železo	4,3
Reziduálna forma pevne viazaná na silikáty	1,4

Tab.č. 9 Limitné hodnoty olova v poľnohospodárskych pôdach podľa pôdneho druhu v mg/kg suchej hmoty: (Zdroj: Vilček et al., 2005)

Pôdny druh			
	Piesočnatá, hlinitopiesočnatá pôda	Piesočnatohlinitá až hlinitá pôda	Ílovitohlinitá až ílovitá pôda, íl
Pb	25	70	115

Zotrvávanie olova v pôdach je pomerne dlhšie ako v atmosfére a hydrosfére. Samotná kontaminácia pôdy, zvlášť v povrchovej vrstve rastie úmerne s intenzifikáciou a chemizáciou priemyselnej a poľnohospodárskej výroby. Detoxikácia pôdy technickými prostriedkami je v porovnaní s hydrosférou a atmosférou veľmi obmedzená. (Vilček et al., 2005) Pôda je najsilnejším prírodným pufrum prvkov, preto ich ďalší osud v prírodnom obeh je podstatne viac ovplyvňovaný základnými pôdnymi vlastnosťami ako atmosferickými a hydrologickými podmienkami. (Vilček et al., 2005) Samočistiaca schopnosť pôdy je nižšia ako samočistiaca schopnosť vzduchu a vody. Vzhľadom na kumulatívne účinky ťažkých kovov musí byť ich hodnotenie komplexné a nie izolované. (Vilček et al., 2005)

## 1.3 OLOVO V POĽNOHOSPODÁRSKYCH PLODINÁCH

### 1.3.1 Transfer olova v systéme pôda - rastlina

Príjem minerálnych látok a živín rastlinami z pôdneho roztoku prebieha proti koncentračnému spádu. V koreňoch sú živiny prenesené cez plazmalému pomocou transportných bielkovín. Po tomto procese sú aktívne vložené do xylému a v listoch sú napokon znova obdobnými bielkovinovými nosičmi prenesené do symplastu buniek mezofilu. (Procházka et al., 2003) Hlavnými bariérami blokovania príjmu alebo transportu ťažkých kovov do nadzemných častí rastlín sú koreňová čiapočka a endoderma. (Tóth et al., 2008)

V zásade sa transportné mechanizmy delia podľa (Voet et al., 1995) do týchto skupín:

1. Nešpecifický transport:
  - jednoduchá difúzia
  - uľahčená difúzia
2. Sprostredkovaný transport:
  - primárny aktívny transport
  - sekundárny aktívny transport

V dôsledku okyslovania pôd sa do pôdneho roztoku stále častejšie uvoľňujú ióny olova. Tieto sú s výnimkou veľmi nízkych koncentrácií pre rastliny toxické. Podstata toxicity olova pre rastliny spočíva vo vysokej afinite olova k chemickým skupinám obsahujúcim redukované formy síry, takže inaktivujú enzýmy s voľnými skupinami – SH. (Procházka et al., 2003)

Zvýšený obsah ťažkých kovov, teda aj olova v rastlinných bunkách aktivuje syntézu peptidyckých látok fytochelátinov, ktoré plnia ochrannú funkciu v rastlinných bunkách pri vysokých koncentráciách ťažkých kovov v prostredí. (Procházka et al., 2003)

### 1.3.2 Kumulácia olova v konzumných častiach rastlín

Samotná zvýšená kumulácia ťažkých kovov niektorými druhmi rastlín môže byť výsledkom ich prispôsobenia sa príslušnému substrátu, alebo pejavom ich ochranných mechanizmov proti škodcom. (Procházka et al., 2003)

Druhy rodu *Brassica* (kapustovité) sú známe hromadením síry a selénu, ťažkých kovov, ku ktorým patrí aj olovo. V ekológii sa druhy rastlín vzácne svojim výskytom na pôdach s vyššou koncentráciou ťažkých kovov nazývajú tiež metalofytmi. Okrem rodu *Brassica* môžu olovo kumulovať vo svojich konzumných častiach aj rody *Poaceae* (lipnicovité), medzi ktoré patria *Triticum aestivum*, *Secale cereale*. Zrno týchto plodín je používané v potravinárskom priemysle odkiaľ sa môže dostať priamo ku človeku, ako konzumentovi. (Procházka et al., 2003)

### 1.3.3 Vplyv olova na zdravie človeka

Účinok ťažkých kovov na organizmus sa môže prejaviť po jednorazovom prijatí nadmerného množstva vodorozpustných zlúčenín kovu. Nebezpečenstvo akútnej otravy hrozí aj pri požití zlúčenín (ku ktorým patrí aj olovo), ktoré sa rozpúšťajú účinkom zriedenej kyseliny chlorovodíkovej (prostredie ľudského žalúdka) a bežných organických potravinárskych kyselín (octovej, citrónovej, mliečnej). Prostredníctvom potravinového reťazca prenikajú do rastlín, živočíchov a nakoniec aj do ľudského organizmu. Pre človeka predstavujú ťažké kovy značné nebezpečenstvo, pretože už v malých koncentráciách spôsobujú poškodenie organizmu. Zákernosť ich pôsobenia spočíva v tom, že okrem akútnych intoxikácií, ktoré sú však vzácne, sa tieto látky v tele hromadia, kumulujú a organizmus svojimi účinkami postupne menia. Spôsobujú zdanlivo nebadateľné poruchy, ktoré však môžu vyústiť do vážnych metabolických porúch. (Marhold, 1984)

Akútne otravy olovom sú pomerne vzácne a ich príznaky sú podobné ako pri chronických otravách:

- salivácia - nadmerná tvorba slín
- pocit kovovej chuti v ústach
- nevoľnosť a zvracanie
- bolesti brucha
- zvýšenie krvného tlaku

(Marhold, 1984)

V niektorých prípadoch sa môžu vyskytnúť aj hnačky, zníženie telesnej teploty a studený pot, stavy úzkosti, často vyskytujú aj bolesti hlavy, blúznenie, kŕče a



bezvedomie. Akútna otrava olovom zanecháva na postihnutom trvalé následky. Najčastejšie sa popisuje postihnutie nervovej sústavy a zažívacieho traktu, žltacka a ochorenia obličiek. (Marhold, 1984) V prvých fázach chronickej otravy dochádza ku kumulácii olova v organizme a postihnutý nepocit'uje väčšie ťažkosti. Olovo sa hromadí v mäkkých tkanivách (pečeň, obličky), neskôr sa odtiaľ presúva do kostí, vlasov a zubov. Ďalším miestom, kde sa olovo kumuluje, je mozog, konkrétne sivá mozgová hmota a ganglie. (Marhold, 1984)

Olovo skracuje životnosť červených krviniek, čo sa postupne prejaví aj v zmene krvného obrazu. V tomto období sa postihnutí sťažujú najčastejšie na:

- zhoršenie telesnej kondície a celkovú únavu
- poruchy spánku
- bolesti kĺbov a svalov
- bolesti žalúdka a zníženie chuti do jedla (Marhold, 1984)

Objektívne možno u pacientov pozorovať bledú farbu pleti a prítomnosť tmavého lemu na d'asnách. Aj relatívne nižšia koncentrácia olova v krvi (pod  $40 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) zhoršuje pozornosť, krátkodobú pamäť, u detí sa prejavuje nekoncentrovanosť, nepokoj, popudlivosť, agresivnosť a oneskorený psychický vývoj. (Melicharčík et al., 1997) Druhé štádium je typické prejavmi postihnutia nervovej sústavy pacienta, čo sa prejavuje mučivými bolesťami hlavy, poruchami vedomia až bezvedomím. Okrem priamych toxických účinkov majú viaceré vodorozpustné zlúčeniny olova karcinogénny účinok. (Melicharčík et al., 1997)

Patria sem:

- $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$  fosforečnan olovnatý
- $(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2\text{Pb}$  octan olovnatý

Pri príjme dennej dávky olova 2 mg dochádza k chronickej otrave už po niekoľkých mesiacoch. Svetová zdravotnícka organizácia WHO uvádza však ako dočasne prijateľnú dennú dávku 0,43 mg olova. (Melicharčík et al., 1997)

Ťažké kovy ako kontaminanty sa môžu v potravinách vyskytovať len v nevyhnutne najmenšom množstve podľa zásad správnej výrobnnej praxe, najviac však v najvyššom prípustnom množstve, ktoré predstavuje celkové množstvo ťažkých kovov v

jedlej časti potraviny. Najvyššie prípustné množstvo ťažkých kovov v potravinách predstavuje ich tolerovateľnú hornú hranicu výskytu v potravinách v číselnom vyjadrení, čím zabezpečuje minimalizáciu odhadovaného zdravotného rizika pre ľudí, najmä z hľadiska toxikologického, za predpokladu dodržiavania primeraných stravovacích zvyklostí. Správna výrobná prax má zabezpečovať znižovanie množstva ťažkých kovov v potravinách na také množstvo, ktoré umožňuje minimalizovať aj odhadované zdravotné riziká (Výnos MP SR a MZ SR, 2004).

## **1.4 Remediácia pôdy kontaminovanej ťažkými kovmi**

Pri remediácii ťažkých kovov môžeme použiť tri typy remediačných techník: odstránenie polutantu, stabilizáciu polutantu a prirodzené oslabenie polutantu. Zatiaľ, čo organické polutanty sa nachádzajú predovšetkým v systéme pôdnych pórov, anorganické polutanty sú prevažne asociované na povrchu pôdnych agregátov, prípadne rozpustené v pôdnom roztoku. Anorganické polutanty sú väčšinou chemické prvky a sú teda nedegradovateľné, pri ich remediácii nie je možné využiť metódu biodegradácie. (Dercová, K. et al., 2005)

### **1.4.1 Fytoremediácia**

Fytoremediáciou sa nazýva využitie rastlín pri remediácii znečistenej pôdy. Fytoremediácie boli vyvinuté preširokú škálu aplikácií nielen pre anorganické, ale aj pre organické polutanty. Pre remediáciu ťažkých kovov a rádionuklidov sa využíva predovšetkým fytoextrakcia a fytostabilizácia. V procese fytoextrakcie rastliny extrahujú polutanty z pôdy svojim koreňovým systémom a uskladňujú ich prevažne v zelenej biomase (len čiastočne v koreňoch), pričom celý proces je možné periodicky opakovať až do požadovaného zníženia celkového znečistenia. Získaná biomasa sa následne spracuje tak, aby došlo k zakoncentrovaniu polutantu a to mikrobiálne (kompostovaním), tepelne (spopolnením alebo spaľovaním), alebo chemicky (extrakciou). (Dercová, K. et al., 2005)

Fytoremediácia sa najlepšie uplatňuje v miestach s povrchovým znečistením a je účinná okrem iných aj pre ťažké kovy a hydrofóbne polutanty (benzén, toluén, etylbenzén, xylén, chlórované xenobiotiká, nitrozlúčeniny). (Dercová, K. et al., 2005)

Toleranciu rastlín k ťažkým kovom je možné zdôvodniť:

- väzbou kovu do bunkových stien
- toleranciou membrány ku kovom
- aktívnym transportom kovov v bunkách rastlín
- prítomnosťou metal-tolerantných enzýmov
- kompartmentalizáciou (akumulácia kovov vo vakuolách)
- chelatáciou kovov organickými, alebo anorganickými ligandami (fytocheláty) a precipitáciou kovových zlúčenín s nízkou rozpustnosťou.

(Dercová, K. et al., 2005)

Niektoré rastliny, označované ako tzv. hyperakumulátory, viažu kovy vo veľkých množstvách. Koncentrácia ťažkých kovov v biomase takýchto rastlín prekračuje o jeden až dva rády hodnoty zistené v bežných rastlinách. Jedná sa o viac než 1 mg kovu v 1 g suchej hmoty stoniek a listov. (Dercová, K. et al., 2005)

## 1.5 Antioxidanty

Existuje skupina vitamínov, minerálnych látok, enzýmov a iných látok, ktoré pomáhajú organizmu pred vznikom voľných radikálov. Voľné radikály sú atómy alebo skupiny atómov, ktoré môžu spôsobiť poškodenie buniek, tkanív, imunitného systému a oslabiť organizmus voči infekciám a rôznym degeneratívnym chorobám, akými sú rozne typy rakoviny a srdcové choroby. Voľné radikály spôsobujú starnutie, skracovanie života. Antioxidanty voľné radikály blokujú a ničia. (dostupné na <http://eutrofia.sk>) Exogénne a endogénne voľné radikály, sú pôsobením antioxidantov blokované. Podľa klasickej definície sú antioxidanty molekuly, ktoré ak sú prítomné v malých koncentráciách, by mali chrániť, zabráňovať, alebo obmedzovať oxidačnej deštrukcií látok. (Srkalová et al., 2008)

Antioxidanty možno rozdeliť do niekoľkých skupín:

**Enzýmové antioxidanty:** superoxiddismutáza (SOD), glutatiónperoxidáza.

**Neenzýmové antioxidanty:** vitamíny: C, E (tokoferol), B<sub>3</sub>, karotenoidy, koenzým Q10 (ubichinón), kyselina močová.

**Ďalšou významnou skupinou sú antioxidanty s výskytom síry a dusíka:** glutation, kyselina alfa-lipoová, cysteín, nikotinamid.

**Fenolové antioxidanty:** flavonoidy.

Antioxidanty podľa (Ďuračková, 1998) môžeme deliť aj podľa účinkov ich antioxidantného mechanizmu pôsobenia:

1. mechanizmy, ktoré zabraňujú tvorbe voľných radikálov (xantínoxidáza, kataláza)
2. mechanizmy, ktoré vychytávajú alebo lapajú už vytvorené voľné radikály
  - a. vychytávače („scavengers“) – superoxiddismutáza
  - b. lapače („trappers“) – vitamín E
  - c. zhášače („quenchers“) –  $\beta$ -karotén
3. reparačné systémy, ktoré odstraňujú poškodené molekuly z organizmu – lipofilné enzýmy: fosfolipáza, proteolytické enzýmy, reparačné endonukleázy. (Ďuračková, 1998).

Podľa (Hřebíčková, 2009) možno antioxidanty rozdeliť na:

Tab. č. 10

Látky rastlinného pôvodu	Polyfenoly
	Silymarín
	Vitamín C
	Karotenoidy (karotény a xantofyly)
	Retinol
	Tokoferol
Endogénne antioxidanty	Koenzým Q
	Melatonín
	Kataláza, laktoperoxidáza
	Superoxid dizmutáza
	Redukovaná forma glutationu
Látky syntetického pôvodu	BHA (butylhydroxyanizol)
	BHT (butylhydroxytolluen)
	Dimethylsulfoxid
	Dimethylurea
	Oxidy dusíka
Farmaceutické preparáty	Deriváty kyseliny 5-aminosalicylovej
	Niektoré imunostimulanciá
	Inhibítory oxidáz
	Chelatačné činidlá
	N-acetylcysteín

### Flavonoidy

Flavonoidy, bioflavonoidy sú fenolové látky, ktoré sú v rastlinnej ríši veľmi rozšírené a chránia rastliny pred škodlivými činiteľmi. ([http:// eutrofia.sk](http://eutrofia.sk))

Flavonoidy tvoria pomerne širokú skupinu sekundárnych metabolitov rastlín s mnohými biologickými účinkami. Sú to exogénne nízkomolekulové zlúčeniny, ktorých chemická povaha závisí od štruktúry, stupňa hydroxylácie, ďalších substitúcií a konjugácií a

stupňa polymerizácie (Arhene, 2002). Flavonoidy majú antioxidačný účinok silnejší ako vitamín C a E (Prior et al., 2000). Ovplyvňujú účinok reaktívnych kyslíkových radikálov na rôznych úrovniach:

1. ako účinné lapače alebo zhášače voľných radikálov inhibujú lipidovú peroxidázu.
2. majú chelatačné účinky, tvoria komplexy s kovmi, ktoré by vo voľnej forme mohli viesť k zvýšenej tvorbe reaktívnych foriem kyslíka.
3. inhibujú enzýmy kaskády kyseeliny arachidónovej a aj týmto spôsobom znižujú tvorbu reaktívnych foriem kyslíka.
4. spolupracujú s antioxidačnými vitamínmi (A, E,  $\beta$ -karotén), zvyšujú ich účinok a znižujú ich degradáciu. (Mojžiš et al., 2001)

Flavonoidy sú schopné zachytávať a neutralizovať prebytočné voľné radikály v mnohých tkanivách a pôsobiť synergicky s antioxidačnými vitamínmi C a E (Satué et al., 1997) Do hlavnej skupiny flavonoidov patria flavóny, flavonoly, katechíny, taníny a izoflavóny. (Poluninová, 1998)

### **$\beta$ -karotén**

Jeho hlavnou antioxidačnou funkciou je schopnosť reagovať s kyslíkovými radikálmi a navrátiť molekulu excitovaného kyslíka do základného („nevzbuzeného“) stavu.  $\beta$ -karotén je jedným z provitamínov vitamínu A. Od roku 1965 je známe, že karotenoidy s účinkom provitamínu A štiepia enzým karotenmonooxygenáza na 1 alebo 2 molekuly retinalu (vitamínu A - aldehydu). Karotenoidy v organizme cirkulujú črevným ústrojenstvom, v krvi se nachádzajú v lipoproteínoch a najväčšie množstvo je sústredené v pečeni a v tukových tkanivách. (dostupné na <http://eutrofia.sk>) Karotény patria k významným prírodným oranžovým farbivám, taktiež k dôležitým zložkám stravy (provitamíny, antioxidanty).  $\beta$ -Karoten patrí k najbežnejším farbivám, vyskytuje sa v mrkve (*Daucus carota* subsp. *sativus*) a patrí k významným potravinárskym farbivám. Z mnohých epidemiologických štúdií je známe, že karotenoidy majú významnú úlohu pri prevencii niektorých druhov rakovinových ochorení. (Čopíková, 2005)

Bol dokázaný inhibičný vplyv  $\beta$ -karoténu na peroxidáciu lipidov.  $\beta$ -karotén sa podieľa na odstránení radikálov hydroperoxidu lipidov produkovaných počas propagačného stupňa reakcie. (Piterková J. et al., 2005)

## Vitamín C

Vitamín C (kyselina L-askorbová) - tzv. „telesný strážca“ Pôsobí ako výrazný antioxidant. Chráni proti niektorým formám rakoviny a chorobám srdcovo-cievneho ústrojenstva.

Okrem toho je vitamín C aj neenzýmovým prenášačom vodíka a je nepostrádateľný pre syntézu väziva a odolnosť organizmu.

Antioxidačná funkcia vitamínu C spočíva v:

- redukcii organických radikálov, ktoré vznikajú pri ionizačnom žiarení
- lapaní radikálov O<sub>2</sub>, OH, R, HO<sub>2</sub>, NO
- regenerácii vitamínu E
- regenerácii radikálu kyseliny močovej
- ochrane pred radikálmi v cigaretovom dyme a iných,...

(dostupné na [http:// eutrofia.sk](http://eutrofia.sk))

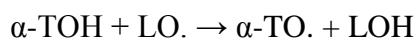
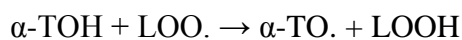
L-askorbát (vitamín C) je dôležitým vitamínom ľudskej stravy vyskytujúcim sa vo väčšine rastlinných buniek. Askorbát hrá hlavnú úlohu v niektorých fyziologických procesoch rastlín, ako je rast, diferenciácia a rad metabolických dráh. Je významným reductantom mnohých voľných radikálov, čím minimalizuje poškodenie spôsobené oxidatívnym stresom. (Piterková J. et al., 2005)

## **$\alpha$ - Tokoferol (vitamín E)**

Najhojnejšie zatúpenie vitamínu je v tukoch, v pečeni a v svaloch. Hlavnou funkciou vitamínu E je jeho antioxidačná schopnosť pri ochrane lipidov bunčných membrán. Zlepšuje využívanie kyslíka, podporuje imunitné reakcie. Má dôležitú úlohu pri liečení sivých očných zákalov spôsobených poškodením šošovky voľnými radikálmi. Vstrebávanie vitamínu E je podporované selénom . Účinok sa zvyšuje ak sa používajú spoločne. Vitamín E patrí do skupiny vitamínov rozpustných v tukoch.

Antioxidačná schopnosť vitamínu E spočíva v tom, že zastavuje radikálové reťazce alebo vychytáva voľné radikály. S vitamínom C vytvára synergický komplex, pričom vitamín C regeneruje vitamín E . (Poluninová, 1998)  $\alpha$ -Tokoferol odstraňuje reťazovo

vznikajúce voľné peroxylové radikály. Vodíkový atóm z  $\alpha$ -tokoferolu prechádza na lipidový peroxy (LOO.) alebo lipoxylový radikál (LO.) za tvorby zodpovedajúceho lipidového hydroperoxidu (LOOH) alebo lipidového alkoholu (LOH):



(Piterková J. et al., 2005)

### 1.5.1 Príjem antioxidantov výživou

Okrem endogenných nízkomolekulárných antioxidantov, ako je glutation, kyselina močová, koenzým Q10 a ďalšie, sa v poslednej dobe do centra pozornosti radia mnohé látky prírodného pôvodu, ktoré sa do ľudského organizmu dostávajú spoločne s potravou. Niektoré potraviny rastlinného pôvodu tak pri svojej nutričnej a energetickej hodnote majú dôležitú rolu ako zdroj antioxidantov. (Srkalová et al., 2008) V poslednej dobe sa však omnoho väčší význam prikláda ďalším prírodným látkam, najmä polyfenolickým zlúčeninám. Medzi ne patria napr. flavonoidy, katechiny a fenolické kyseliny. Zdrojom týchto látok sú zelenina, ovocie, vláknina, čaje, vína a aromatické a liečivé rastliny (Srkalová, 2008) Celkový denný príjem polyfenolov z rôznych zdrojov bol odhadnutý na 1g. Klinické a epidemiologické štúdiá tiež preukazujú koreláciu medzi antioxidačnou aktivitou látok prijímaných v potrave a prevenciou niektorých ochorení napr. kardiovaskulárnych chorôb, karcinogenosti, neurologických porúch alebo procesov stárnutia. Z uvedených dôvodov vzrastá záujem stanoviť antioxidačnú aktivitu rôznych látok rastlinného pôvodu. Jeden z prístupov vo výskume prírodných antioxidantov je testovanie reaktivity individuálnych izolovaných látok voči jednotlivým voľným radikálom. Služi predovšetkým k odvodeniu vzťahov medzi štruktúrou a reaktivitou príslušných zlúčenín. (Srkalová, 2008) Denné doporučané dávky antioxidantov z prírodných zdrojov ako sú ovocie a zelenina nie je s istotou možno stanoviť. Problém spočíva v tom, že zelenina, alebo ovocie toho istého druhu a rovnakého spracovania môžu mať rozdielnu hodnotu antioxidačnej aktivity, či kapacity. Tieto látky sa v biologických systémoch totiž syntetizujú už počas zrenia plodov a ich hladiny závisia aj od klimatických podmienok, od množstva a zloženia biogénnych, alebo abiogénnych mikroživín v pôde a od použitia chemických postrekov na rastliny. (Hřebíčková, 2009)



Z hľadiska racionálnej výživy je potrebné prijímať antioxidanty z prírodných produktov, nakoľko okrem samotných antioxidantov sú ovocie a zelenina významnými zdrojmi rôznych vitamínov, vlákniny a hodnotných organických zlúčenín potrebných pre správny vývoj a funkciu organizmu.

V ostatných rokoch sa pokúsilo niekoľko autorov vyjadriť celkovú antioxidačnú kapacitu potravín a výživových doplnkov. Vychádzalo sa pri tom z množstva rôznych druhov antioxidantov v mmol/100g:

Tab. č . 11 Množstvo antioxidantov v rôznych plodinách: (Zdroj: [http:// eutrofia.sk](http://eutrofia.sk))

Orech kráľovský	20,97
Slničnica rovná	5,31
Lieska	0,49
Fazuľa obyčajná	0,38-1,14
Sója	0,82
Šošovica	0,49
Hrach	0,12
Pohanka	1,99
Jačmeň	1,10
Pomaranč-citrón	1,14-1,02
Ruža šípová	39,48
Čučoriedka	8,23
Ríbezľa čierna	7,35

Tab. č. 12 Obsah antioxidantov (Vit. C, fenolových látok) v Bio produktoch v porovnaní ku produktom získavaných bežným konvenčným spôsobom:

(Zdroj: Martinec, 2009)

Vzorka	Fenolové látky v (mg/100g)	Vitamín C v (mg/100g)
Rajčina Bio	30,44	12,65
Rajčina	21,98	13,01
Paprika červená Bio	107,82	119,58
Paprika červená	109,12	134,70
Paprika žltá Bio	86,61	102,60
Paprika žltá	114,96	141,76
Uhorka Bio	14,28	2,76
Uhorka	12,46	2,38
Citrón Bio	66,09	42,58
Citrón	112,01	65,42
Pomaranč Bio	90,58	65,67
Pomaranč	112,01	85,58
Kiwi Bio	69,90	96,58
Kiwi	70,00	103,83
Cibuľa biela Bio	64,88	13,04
Cibuľa biela	71,10	10,04
Mrkva Bio	32,79	9,54
Mrkva	46,33	8,33

### 1.5.2 Antioxidanty vo vzťahu k výskytu civilizačných ochorení

Antioxidanty, voľné radikály a termíny, ktoré s problematikou týchto látok súvisia ako sú antioxidačná kapacita, antioxidačná aktivita, sú stále preberaným problémom. Predovšetkým vďaka prezentáciám doplnkov stravy v médiách vyvoláva táto téma dojem, že antioxidanty majú výhradne pozitívny efekt pre organizmus, zatiaľ čo voľné radikály sú v tele nebezpečné. A však dôležitá je v skutočnosti rovnováha medzi antioxidantmi a radikálmi. (Hřebíčková, 2009) Voľné radikály sú molekuly, ktoré obsahujú jeden alebo viac nespárovaných elektrónov a následkom toho sú chemicky extrémne reaktívne. Tvorí sa v tele pri dýchaní, ale vznikajú aj pod vplyvom

cudzorodých látok, nadbytku slnečného a iného žiarenia, ako aj pri vdychovaní cigaretového dymu a výfukových zplodín. Voľné radikály sú normálnou súčasťou látkovej premeny a prostredníctvom niektorých svojich foriem, napr. oxidu dusnatého NO, prenášajú rad životne dôležitých informácií do buniek a sú tiež významnou súčasťou imunitných systémov. (Vesmír 72, 255, 1993/5)

Voľné radikály i látky s antioxidantným pôsobením sú produkované vo všetkých živých bunkách. (Hřebíčková, 2009) Za fyziologických podmienok je tvorba voľných radikálov a antioxidantov v rovnováhe. Ideálny pomer voľných radikálov a antioxidantov je 1:3. Problém ale nastáva pri nadlimitných hladinách voľných radikálov. Takýto patologický stav sa nazýva „oxidačný stres“ a môže byť príčinou celej rady ochorení. Na molekulárnej úrovni dochádza k oxidačnému pôsobeniu lipidov, sacharidov, proteínov i DNA. Pôsobenie voľných radikálov sa môže prejaviť aj na zlomoch chromozómov, čo môže mať za následok ich karcinogénne a mutagénne účinky. (Hřebíčková, 2009)

Medzi ochorenia ktoré sú najčastejšie podľa pôvodu považované za voľnoradikálove patria: „ateroskleróza, srdcovo-cievne choroby, infarkt, mozgová príhoda, cukrovka, onkologické choroby, predčasné stárnutie, Alzheimerova aj Parkinsonova choroba“.

## 2 Cieľ práce

Cieľom predkladanej záverečnej práce je:

- sumarizácia poznatkov o účinkoch, zdrojoch a výskyte antioxidantov v poľnohospodárskych plodinách.
- spracovanie prehľadu o zdrojoch, vstupoch a pôsobení olova na biotické systémy.
- spracovanie rôznych pohľadov na obsah antioxidačne pôsobiacich látok v racionálnej výžive.
- sledovanie vzájomného vzťahu stupňovanej metallickej záťaže pôdy olovom a miery jeho kumulácie v rastlinách slnečnice a láskavca v modelových podmienkach vegetačného nádobového pokusu
- pozorovanie vplyvu stúpajúcich dávok olova na antioxidačnú aktivitu slnečnice ročnej a láskavca chvostnatého

## 3 Materiál a metodika

### 3.1 Forma experimentu

Náš experiment sa uskutočnil formou vegetačného nádobového pokusu. Do pokusných nádob bolo navážených 5 kg pôdy zmiešanej s 1 kg kremičitého piesku, do ktorej boli zasiaté skúmané plodiny (*Amaranthus caudatus*, *Helliantus annus* L). Pôda bola odobratá z okolia Topoľčianok. Vzorku z odobranej pôdy sme podrobili chemickému rozboru.

Pôda v pokusných nádobách bola hnojená superfosfátom 13,6 g, KCl 60 % 1,3 g a postupne zaťažovaná rôznymi množstvami olova  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ( 392 mg Pb .  $\text{kg}^{-1}$ , 742 mg Pb .  $\text{kg}^{-1}$ , 1092 mg Pb .  $\text{kg}^{-1}$ ), účinky ktorého sme sledovali na pozorovaných plodinách.

- Plodiny: 1. Slnečnica ročná  
2. Láskevce chvostnatý

Tab č.13 Usporiadanie nádobového pokusu

Varianty	Plodina	
	Slnečnica	Láskevce
Počet zrn	10 ks	2 $\text{cm}^3$
A: PK	1-4	17-20
B: PK + 392 mg Pb. $\text{kg}^{-1}$	5-8	21-24
C: PK + 742 mg Pb. $\text{kg}^{-1}$	9-12	25-28
D: PK + 1092 mg Pb. $\text{kg}^{-1}$	13-16	29-32

### 3.2 Charakteristika plodín

#### 3.2.1 Láskevce chvostnatý – *Amaranthus caudatus*

Čeľaď: *Amaranthaceae* – láskevcovité

Zástupcovia čeľade sú rozšírení najmä v tródoch južnej Ameriky. U nás sa stretáme s láskevcovitými väčšinou na miestach narušených, alebo ovplyvnených človekom (rumoviská, staveniská, okraje polí, záhrady a pod.). Rastliny tejto čeľade sú jednoročné a ľahko sa poznajú

podľa mnohokvetných metlinových súkvetí a drobných kvetov. Stonky sú zhrubnuté a pozdĺžne ryhované, listy jednoduché striedavo postavené. Jedna rastlina je schopná vyprodukovať obrovské množstvo drobných semien s dobrou klíčivosťou, čím vzniká v pôde ich zásoba (pôdna banka semien). Tieto rastliny obsahujú väčšie množstvo bielkovín a minerálnych látok v semenách, ale i listoch. Preto sa niektoré druhy a ich hybridy začínajú využívať ako alternatívne plodiny. (Baranec, et al., 2007)

### **3.2.2 Slničnica ročná – *Helianthus annuus***

*Čeľaď* : *Asterales* – *astrovité*

Veľmi rozsiahla čeľaď, v ktorej prevažujú byliny. Vegetatívne orgány sú utvárané rôzne, preto ich nemožno jednotne charakterizovať. Najtypickejším znakom astrovitých sú súkvetia – úbory. Slničnica ich má až 0,5 m v priemere a jednotlivé. Slničnica ročná (*Helianthus annuus*) je mohutná jednoročná rastlina s jedným veľkým úborom, ktorý sa otáča za slnkom (heliotropizmus). Okrajové jazykové kvety sú jalové. Nažky sa vyvíjajú len z rúrkovitých kvetov, majú olejnaté semená a rôznofarebné oplodie. Slničnica ročná sa pestuje ako olejnina na výrobu potravinárskych olejov, margarínov, mydla i ako krmovina. Pochádza z Ameriky. (Baranec, et al., 2007)

## **3.3 Odber a úprava pôdnej vzorky**

Okrem rastlinného materiálu sme skúmali aj vzorky pôdy, v ktorej sme stanovili základné agrochemické charakteristiky. Pôdne vzorky bolo potrebné pred samotným stanovením najskôr upraviť. Táto úprava pôdy sa uskutočnila vysušením pôdy a jej následným pomletím na pôdnom mlyne na jemnozeme I. (priemer otvorov sita 2mm) a jemnozeme II., ktorá sa získala preosiatím pôdy cez sito s veľkosťou otvorov 0,125 mm. Pre stanovenie pôdnych vlastností si jednotlivé analýzy vyžadovali vzorky s rôznou zrnitosťou pôdy.

## **3.4 Chemická analýza pôdnych vzoriek**

### **3.4.1 Stanovenie aktívnej pôdnej reakcie (pH/H<sub>2</sub>O)**

Pri stanovení aktívnej pôdnej reakcie sme navážili 20 g vopred pripravenej jemnozeme I. a následne sme pridali 50 cm<sup>3</sup> redestilovanej vody. Získanú suspenziu sme nechali trepať na trepačke. Po pretrepaní a usadení suspenzie sme zmerali vo filtráte reakciu na pH metri, ktorý bol pred meraním nakalibrovaný na dva tlmivé roztoky v závislosti od

predpokladanej hodnoty pH 4 až 7, alebo pH 7 až 9. Výsledné hodnoty sme odčítali z displeja pH metra s presnosťou na dve desatinné čísla.

### **3.4.2 Stanovenie výmennej pôdnej reakcie (pH/KCl)**

Pôdnu vzorku pre zistenie výmennej pôdnej reakcie sme pripravili podobným postupom ako pri stanovení pH / H<sub>2</sub>O. Na zalievanie pôdy sme však použili roztok KCl (c = 1 mol.dm<sup>-3</sup>). Pri príprave chloridu draselného dochádza k ochladzovaniu a preto sme pripravený roztok nechali vytemperovať na laboratórnu teplotu, aby sme pripravili roztok s presnou koncentráciou. Po zaliatí pôdy roztokom KCl sme postupovali podobne ako pri zisťovaní aktívneho pH.

### **3.4.3 Stanovenie obsahu ťažkých kovov vo výluhu NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> s c = 1 mol.dm<sup>-3</sup>**

Navážili sme 20 g jemnozeme I. do uzatváracích PE nádob o objeme 100 cm<sup>3</sup>, pridali 50 cm<sup>3</sup> roztoku NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> s c = 1 mol.dm<sup>3</sup>, premiešali a nádobu uzatvorili. Suspenziu sme vylúhovali na trepačke 2 hodiny. Vylúhovanú pôdnu suspenziu sme prefiltrovali cez filtračný papier do suchej odmernej banky o objeme 100 cm<sup>3</sup>. Prvý podiel filtrátu sme odstránili a zvyšok suspenzie sme prefiltrovali. So vzorkami sme súbežne robili aj slepý pokus. Na stabilizáciu filtrátu sme po prefiltrovaní pridali do extraktu 0,5 cm<sup>3</sup> koncentrovanej kyseliny dusičnej. Vzorky sme zmerali na atómovom absorbnom spektrometre.

#### **Príprava 1 mol.dm<sup>-3</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>**

Rozpustenie navážky 80,04 g dusičnanu amónneho v redestilovanej vode na výsledný objem 1000 cm<sup>3</sup> po vytemperovaní roztoku na laboratórnu teplotu.

### **3.4.4 Stanovenie obsahu ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej**

V analyzovanej pôde sme limitné hodnoty rizikových kovov určili v pôdnom výluhu lúčavky kráľovskej. Lúčavka kráľovská je extrakčné činidlo schopné z pôdnej vzorky vytiahnuť takmer všetky ťažké kovy. Kvôli silikátovej a aluminosilikátovej mriežke pôdnych častíc, ktoré nieje schopná rozložiť sa do výluhu nedostanú kovy, ktoré sú v týchto štruktúrach obsiahnuté.

Pracovný postup: Do varných baniek sme navážili 1g jemnozeme II, pridali sme 2 – 3 cm<sup>3</sup> destilovanej vody a následne lúčavku kráľovskú. Zmes sme nechali 24 hodín stáť.

Po dvojhodinovom varení sme vyextrahovali suspenziu, ktorú sme potom prefiltrovali filtračným papierom zvlhčeným 10 %  $\text{HNO}_3$ . Po doplnení filtrátu na objem  $100 \text{ cm}^3$  sme v roztoku stanovovali obsah ťažkých kovov pomocou metódy AAS.

### **3.4.5 Stanovenie „rastlinám prístupných foriem“ pôdneho draslíka, horčíka, fosforu a mobilnej formy pôdneho vápnika v pôdnom výluhu MEHLICH II**

Príprava výluhu MEHLICH II

Do odmernej banky o objeme  $1000 \text{ cm}^3$  sme postupne pridávali  $11,5 \text{ cm}^3$  kyseliny octovej,  $10,7 \text{ g}$  chloridu amónneho,  $0,56 \text{ g}$  fluoridu amónneho,  $1 \text{ cm}^3$  koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Banku sme doplnili po značku destilovanou vodou.

Pracovný postup:

Do uzatváracích plastových nádob o objeme  $100 \text{ cm}^3$  sme navážili  $5 \text{ g}$  jemnozeme I, pridali výluh MEHLICH II, premiešali a nádobu uzatvorili. Extrakcia trvala 10 minút. Pôdnu suspenziu sme prefiltrovali cez filtračný papier FILTRAK 390. Prvý podiel substrátu sa odstánil a súčasne so vzorkami sme urobili aj slepý pokus. Kvôli prítomnosti fluoridového iónu bolo nutné stanoviť do 24 hodín vo filtráte aspoň fosfor a na druhý deň ostatné makroživiny. Pri stanovovaní draslíka, horčíka a vápnika bol výluh zriedený ( $2 \text{ cm}^3$  výluhu do  $50 \text{ cm}^3$  odmernej banky) a doplnený po značku destilovanou vodou. Vzorky sme zmerali metódou AAS.

### **3.4.6 Stanovenie C org. A humusu v pôde podľa Ľurina v modifikácii podľa Nikitina**

Pôdny organický uhlík je oxidovaný kyslíkom z chrómsírovej zmesi. Na základe rozdielu spotrebovanej a nespotebovanej chrómsírovej zmesi sa stanoví množstvo kyslíka spotrebovaného na oxidáciu pôdneho organického uhlíka.

Do Erlenmayerovej banky sme navážili  $0,1 \text{ g}$  jemnozeme II. Po pridaní  $0,11 \text{ g}$   $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  a  $10 \text{ cm}^3$  chrómsírovej zmesi ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ) sme obsah banky opatrne premiešali, tak aby vzorka sa zeminy neprilepila na steny banky. Robili sme tri kontrolné merania bez vzorky (slepé pokusy). Banky sme neskôr vložili do pripraveného termostatu WTC binder na 20 minút pri teplote  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po vybratí z termostatu mal mať obsah baniek hnedú až oranžovožltú farbu, zelené sfarbenie zmesi nám indikovalo nedostatok chrómsírovej zmesi. Po ochladení sme vzorky titrovali Móhrovou soľou ( $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$



roztok  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  a  $\text{FeSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) za použitia difenilamínu ako indikátora (asi 5 kvapiek).

Výpočet % Cox: Získanú hodnotu dosadíme do vzorca na výpočet obsahu % Cox..

$$\%C_{\text{ox}} = \frac{(a - b) \cdot 0,03117 \cdot f_{\text{Mohr}}}{n}$$

Kde: - (a-b) je rozdiel medzi vzorkou a slepým pokusom,

-  $F_{\text{mohr}}$ . Je faktor Móhrovej soli,

- n je navážka vzorky pôdy

$$\% \text{Humusu} = \% C_{\text{ox}} \cdot 1,724$$

Kde: -  $\% C_{\text{ox}}$  je percentuálny obsah oxidovateľného uhlíka

- 1,724 je prepočtový koeficient na obsah humusu vo vzorke pôdy

### 3.5 Atómová absorbčná spektrofotometria (AAS)

Atómová absorbčná spektrofotometria sa používa na kvalitatívne stanovenia kovových prvkov v rôznych vzorkách a to najmä pri nízkych koncentráciách. Citlivosť metódy AAS sa vyjadruje ako charakteristická koncentrácia prvku. Je to koncentrácia prvku v  $\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ , ktorá pri meraní určovaného kovu vyvolá signál rovný 1% absorbancie.

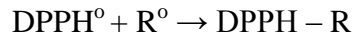
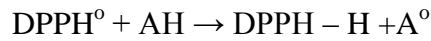
Hranica detekcie je potom definovaná ako koncentrácia prvku, ktorá poskytne signál dvojnásobku smerodajnej odchýlky signálu pri meraní slepého pokusu. Udáva teda najnižšiu koncentráciu, ktorú je možné ešte detegovať. Takto skúmanú vzorku vysušíme a zhomogenizujeme zomletím v mline z inertného materiálu (aby nedošlo ku kontaminácií vzorky).

### 3.6 Meranie DPPH – Antioxidačná kapacita

Princíp metódy:

Na zistenie antioxidačnej kapacity špeciálnych zlúčenín a extraktov je použitá metóda na reakcií antioxidantov so stabilným radikálom 2,2 diphenyl – 1 picrylhydrazil – hydrátom (DPPH<sup>o</sup>) v metanolovom riedení. Pokles absorbancie časom pri príslušnej vlnovej dĺžke ja dôkazom reakcie antioxidantov z extraktov s DPPH<sup>o</sup>, t.j. dôkazom

prejavenie antioxidačnej aktivity spočívajúcej v neutralizácii voľných radikálov. Redukcia DPPH<sup>o</sup> v prítomnosti antioxidantov, alebo radikálov sa prejavuje znížením absorpcie pri 515,6 nm (Brand – Williams, Cuvelier, Berset, 1995)



Antioxidačná kapacita:

EC<sub>50</sub> – množstvo antioxidantu potrebného na zníženie počiatočnej koncentrácie DPPH<sup>o</sup> o 50%.

Antiradikálová sila = 1/EC<sub>50</sub>

Antiradikálová účinnosť = 1/EC<sub>50</sub> · T<sub>EC50</sub>

T<sub>EC50</sub> – čas, za ktorý sa dosiahne 50% zníženie koncentrácie DPPH<sup>o</sup>

Rozdelenie lapačov radikálov na základe doby potrebnej na dosiahnutie ustáleného stavu:

- Do 5 min: rýchle (kys. Askorbová)
- Až 30 min: stredné (kys. Rozmarínová)
- 30 min až 6 hod: pomalé (kys. Kávová, galová, polyfenoly)

Chemikálie:

- Metanol UV čistý
- 2,2 – dyferyl-1-pikrylhydrazyl (0,025g/100 ml v metanole je základný roztok, ktorý sa riedi 10 ml do 100 ml. Zriedený roztok sa používa na meranie).

Prístroj: UV/VIS spektrofotometer

Výpočet: Antioxidačnú účinnosť možno vyjadriť ako:

% inhibície DPPH = [(A<sub>o</sub> – A<sub>t</sub>) / A<sub>o</sub>] \* 100, vyjadrujúce koľko je sledovaná zložka schopná odstrániť DPPH radikálu v danom čase.

Na základné štatistické vyhodnotenie získaných výsledkov sme použili program Excel, ktorého pomocou sme vyhodnotili maximum, medián, minimum a smerodajnú odchylku.

## 4. Výsledky a diskusia

### 4.1 Pôda

#### 4.1.1 Výsledky stanovení makroelementov v sledovaných vzorkách pôdy

Vzorka pôdy bola odobraná z okolia Topočianok a jej pôdny druh sme charakterizovali ako stredne ťažká.

Tab. č.14: Agrochemická charakteristika pôdy

K	Ca	Mg	P	N	C ox.	H <sub>2</sub> O	KCl	Humus
(mg . kg <sup>-1</sup> )	(mg . kg <sup>-1</sup> )	(mg . kg <sup>-1</sup> )	(mg . kg <sup>-1</sup> )	(mg . kg <sup>-1</sup> )	%	pH	pH	%
297	1356	252	51,88	2100	1,474	6,94	5,2	2,541

Agrochemickou charakteristikou pôdy sme zistili, že obsah draslíka vo vzorke bol dobrý, obsah prístupného horčíka bol vysoký, obsah prístupného fosforu pri pôdnej reakcii pH 5,2 bol malý. Výmenná pôdna reakcia (pH/KCl) bola kyslá. Percento humusu bolo podľa kritérií Kódexu správnej poľnohospodárskej praxe Slovenskej republiky určené ako dobré.

#### 4.1.2 Výsledky stanovení ťažkých kovov v sledovaných vzorkách pôdy

Tab. č.15: Stanovenie pôdneho obsahu ťažkých kovov vo výluhu pôdy lúčavkou kráľovskou v mg / kg.

Zn	Cu	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
47,9	22,1	16,45	0,54	14	5,1	9,9

Porovnaním získaných výsledkov obsahu ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej s limitnými hodnotami rizikových prvkov v poľnohospodárskej pôde podľa zákona číslo 220/2004 zbierky zákonov, sme zistili, že skúmaná vzorka pôdy nevykazuje prekročenie limitných hodnôt. Pôda teda nebola kontaminovaná ťažkými kovmi. Celkový obsah rizikových prvkov nie je smerodajným indikátorom ich

biopristupnosti (Linkeš 1997). Z toho dôvodu je potrebné identifikovať obsah mobilných foriem, ktoré sa nachádzajú v pôdnom roztoku a sú teda ľahko prijateľné rastlinami. (Linkeš 1997).

Limitné hodnoty rizikových prvkov v poľnohospodárskej pôde podľa zákona č. 220/2004 Zbierky zákonov. (v mg/kg suchej hmoty, rozklad lúčavkou kráľovskou, Hg celkový obsah).

Tab. č. 16 Limitné hodnoty rizikových prvkov (v mg/kg suchej hmoty, rozklad lúčavkou kráľovskou, Hg celkový obsah).

Pôdny druh	Cd	Co	Pb	Cu	Cr	Ni	Zn
Piesočnato-hlinitá, hlinitá	0,7	15	70	60	70	50	150

Tab. č.17 Stanovenie obsahu ťažkých kovov vo výluhu  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  s  $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$  v mg/kg.

Zn	Cu	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
0,09	0,03	0,015	0,0215	0,195	0,13	0,1

Pri porovnávaní výsledkov získaných zo stanovenia obsahu ťažkých kovov vo výluhu  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  s limitnými hodnotami rizikových prvkov vo vzťahu k poľnohospodárskej pôde podľa zákona 220/2004 zbierky zákonov, sme zistili, že limitná hodnota olova bola takmer dvojnásobne prekročená. (Klinda, J. et al., 2009) zistil, že prekročenie limitnej hodnoty Pb je pozorované vo viacerých lokalitách SR. Pričom u olova sa prejavili nadlimitné hodnoty len v pôdach situovaných vo vyšších nadmorských výškach, podzoly, andozeme, čo mohlo súvisieť s diaľkovým prenosom emisií. Limitné hodnoty rizikových prvkov v poľnohospodárskej pôde podľa zákona č. 220/2004 Zbierky zákonov.

Tab. č. 18: Limitné hodnoty rizikových prvkov (v mg/kg suchej hmoty, vo výluhu 1 mol/l dusičnanu amónneho)

Zn	Cu	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
0,09	0,03	0,015	0,0215	0,195	0,13	0,1

## 4.2 Rastliny

### 4.2.1 Výsledky stanovenia obsahu olova v zrne slnečnice ročnej

Tab. č.19: Obsah olova a vybraných ťažkých kovov v zrne slnečnice (mg/kg)

Nádoba	Variant	Zn	Co	Pb	Cd
1	A	55,16	0,4	0,67	0,24
2		59,72	0,3	0,61	0,25
3		53,67	0,5	0,53	0,14
4		52,71	0,4	0,68	0,20
5	B	58,70	0,3	0,67	0,51
6		54,89	0,3	0,74	0,29
7		58,01	0,4	0,81	0,20
8		56,70	0,4	0,81	0,22
9	C	47,69	0,1	1,00	0,23
10		49,69	0,1	1,00	0,31
11		46,85	0,1	1,07	0,25
12		44,01	0,2	1,07	0,27
13	D	55,63	0,3	0,68	0,34
14		58,53	0,4	0,81	0,32
15		58,18	0,3	0,94	0,27
16		60,36	0,4	1,01	0,32

Zo získaných výsledkov, ktoré sme porovnávali s najvyššími prípustnými hodnotami podľa Potravinového kódexu pre olejninu sme zistili, že hodnoty zinku sú v norme, pričom bolo jeho minimum namerané vo variante C a maximum dosahoval vo variante D. Kobalt nebol Potravinovým kódexom limitovaný, obsah olova prekročil limitné hodnoty v poslednej vzorke variantu D, čo mohlo byť spôsobené cieľovým metalickým zaťažením vzorky pozorovanej pôdy. Mierne prekročené limitné hodnoty kadmia boli namerané vo variante B, kde dosiahlo svoje maximum a najnižšia hodnota kadmia bola nameraná v kontrolnom variante A. Tabuľka so štatistickým vyhodnotením obsahu olova v zrne slnečnice je uvedená v prílohe č. 1.

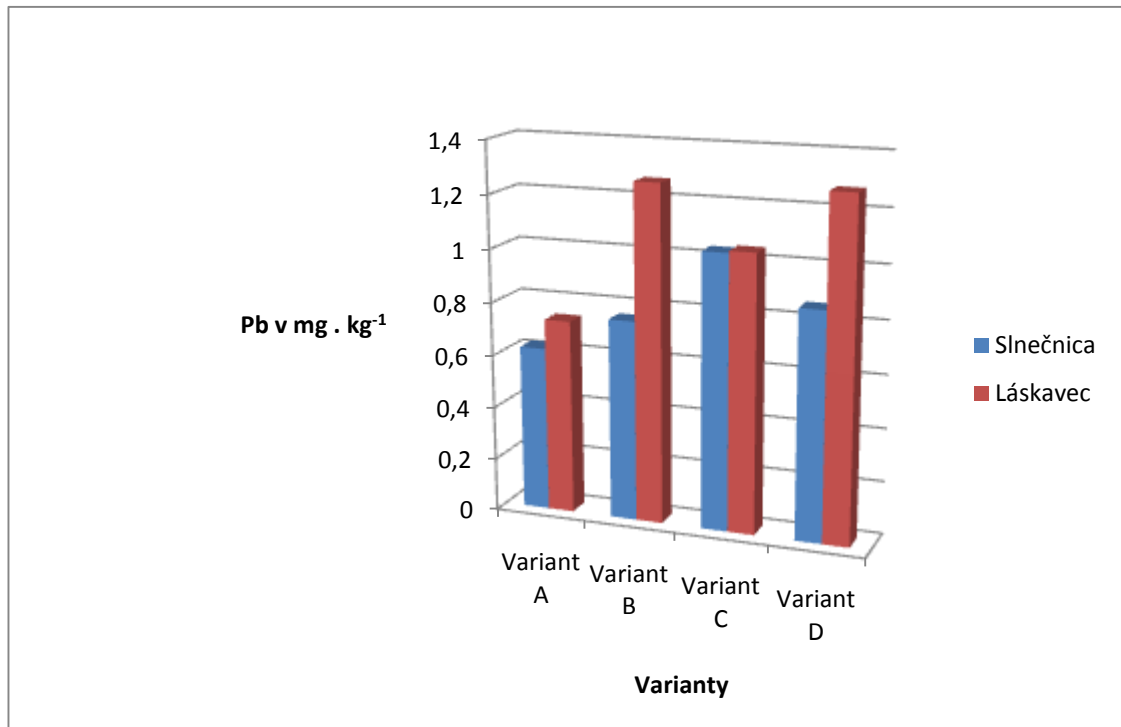
#### 4.2.2 Výsledky stanovenia obsahu olova v zrne láskavca chvostanátého

Tab. č.20 Obsah olova a vybraných ťažkých kovov v zrne láskavca (mg/kg)

Nádoba	Variant	Zn	Co	Pb	Cd
17	A	48,00	1,3	0,87	0,11
18		46,00	1,3	0,67	0,11
19		40,07	1,1	0,67	0,11
20		4839,27	1,5	0,73	0,11
21	B	45,00	1,2	1,13	0,15
22		52,00	1,1	1,00	0,12
23		42,67	1,0	1,87	0,13
24		44,13	1,7	1,07	0,11
25	C	44,27	1,2	1,13	0,13
26		52,13	1,7	0,93	0,11
27		56,67	1,2	1,07	0,11
28		49,60	1,3	1,13	0,10
29	D	43,10	1,7	0,90	0,13
30		49,53	1,6	1,33	0,14
31		56,27	1,9	1,47	0,11
32		48,47	1,6	1,40	0,13

Pri porovnávaní získaných výsledkov s Potravinovým kódexom pre zno láskavca sme zistili, že obsah zinku bol prekročený vo všetkých sledovaných variantoch, pričom svoje maximum dosiahol pri variante A, kde prekročil limitné hodnoty dané Potravinovým kódexom až 96,78 – násobne. Kobalt nebol Potravinovým kódexom limitovaný. Najmenšia nameraná hodnota olova bola v kontrolnom variante A, čo sa dá vysvetliť tým, že v týchto variantoch nebola zvyšovaná metalická záťaž. Naopak najvyššia hodnota olova bola nameraná vo variante B. Kadmium neprekročilo limitnú hodnotu v žiadnom z variantov pokusu, čiže rastliny neboli kadmium kontaminované.

Graf č. 1 Priemerný obsah olova v zrne slnečnice a laskavca (mg/kg)



Pri porovnaní výsledkov obsahu olova v zrne slnečnice a laskavca, sme zistili, že zrno laskavca kumuluje väčšie množstvo olova ako zrno slnečnice a to vo všetkých štyroch variantoch, pričom v prípade nadzemnej fytomasy je to presne naopak (graf č.2).



#### 4.2.3 Výsledky stanovenia obsahu olova v slame slnečnice ročnej

Tab. č.21 Obsah olova a vybraných ťažkých kovov v slame slnečnice (mg/kg)

Nádoba	Variant	Zn	Co	Pb	Cd
1	A	51,7	1,8	4,6	0,56
2		46,5	1,4	3,7	0,5
3		48,7	1,7	7,2	0,6
4		47,6	1,5	5,3	0,38
5	B	37,8	1,7	17,6	0,53
6		46,8	2,2	22,1	0,97
7		25,7	1,3	17,5	0,37
8		27,5	1,3	19,2	0,56
9	C	26,4	1,3	25,9	0,94
10		20,74	0,9	22,7	0,45
11		19,1	1,4	21,5	0,61
12		19,1	1,4	23,5	0,72
13	D	36	1,5	34,1	0,52
14		42,8	1,8	36,6	0,65
15		30,6	1,7	34,4	0,7
16		21,5	1,4	31,1	0,45

Získané hodnoty sme porovnávali s limitnými hodnotami, podľa Nariadenia vlády Slovenskej republiky z 21. júna 2006 o nežiadúcich látkach v krmivách a o iných ukazovateľoch bezpečnosti a použiteľnosti krmív, pričom obsah zinku a kobaltu nebol limitovaný. Hodnoty olova boli najnižšie pri kontrolnom variante A, pričom v ostatných variantoch bola jeho limitná hodnota vysoko prekročená. Maximálna hodnota bola nameraná vo variante D, táto hodnota prekračovala limitnú hodnotu až 3,36 – násobne. Obsah kadmia v slame slnečnice dosahoval takmer limitnú hodnotu len vo variantoch B a C, čo mohlo byť spôsobené tým, že práve pri tejto koncentrácii  $Pb^{2+}$  v sledovanej vzorke pôdy, ho rastlina najlepšie kumulovala. V ostatných variantoch už obsah kadmia nedosahoval také hodnoty.

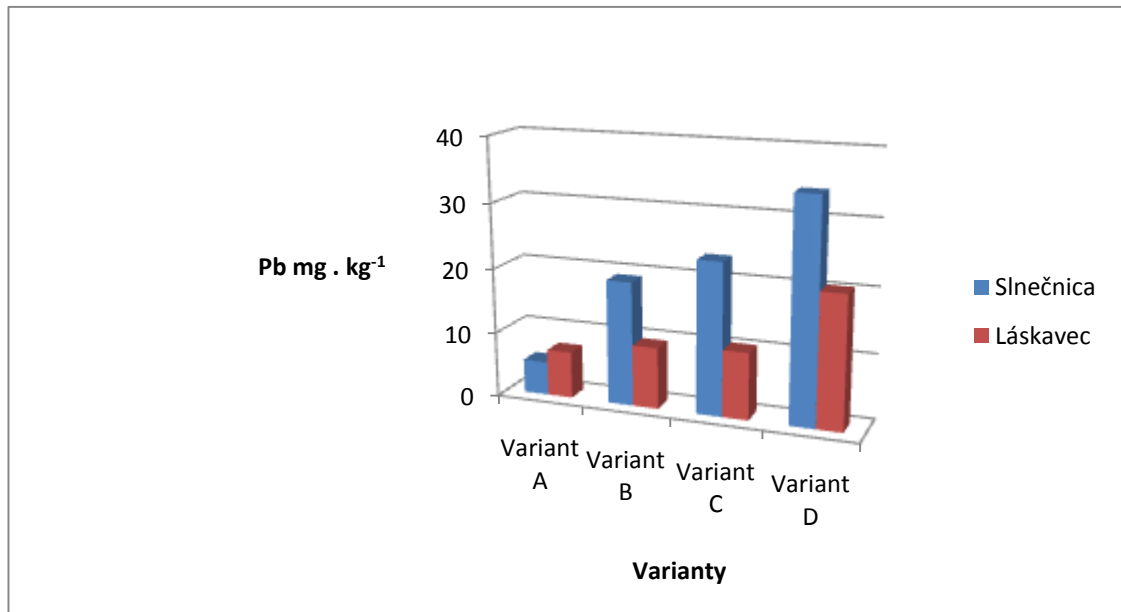
#### 4.2.4 Výsledky stanovenia obsahu olova v slame láskavca chvostanatého

Tab. č. 22 Obsah olova a vybraných ťažkých kovov v slame láskavca (mg/kg)

Nádoba	Variant	Zn	Co	Pb	Cd
17	A	52,2	2	6,8	0,51
18		56,4	2	6,5	0,51
19		66,8	2,5	7,1	0,52
20		75,9	2,1	8,5	0,52
21	B	34,3	1,5	8,1	0,44
22		40,7	1,6	9,6	0,47
23		41,8	2	9,3	0,52
24		53,2	2,2	10,8	0,46
25	C	37,1	2	10,8	0,46
26		59,6	2,3	9,9	0,45
27		50,8	1,6	11	0,4
28		41,1	1,6	9,5	0,49
29	D	67,5	2,1	17,2	0,5
30		60,4	2,5	20,2	0,47
31		40,9	2,1	21,3	0,54
32		47,8	2,1	22,9	0,52

Podľa nariadenia vlády SR z 21. 06. 2006 o nežiadúcich látkach v krmovinách a o iných ukazovateľoch bezpečnosti a použiteľnosti krmív, s ktorým sme porovnávali získané výsledky pri slame láskavca sme zistili, že zinok a kobalt nie sú týmto nariadením limitované. Pri sledovaní olova sme zistili, že láskavec kumuloval tento ťažký kov vo všetkých variantoch so zvýšenou metalickou záťažou v nadlimitných hodnotách, pričom svoje maximum dosiahol pri variante D. Najnižšie hodnoty tohto rizikového prvku sa nachádzali vo variante A, ktorý nebol podrobený cielenej metalickej záťaži. Kadmium ako ďalší sledovaný rizikový prvok neprekročil stanovenú limitnú hodnotu ani v jednom zo sledovaných variantov.

Graf č. 2 Priemerný obsah olova v slame slnečnice a laskavca (mg/kg)



Graf číslo 2 názorne poukazuje na fakt, že slnečnica má väčšiu schopnosť kumulácie olova do nadzemnej fytohmoty, ako laskavec. Naproti tomu, laskavec kumuluje olovo vo vyššej miere v zrnách ako slnečnica (viď. Graf 1.) Objem nadmernej biomasy slnečnice je veľký a vzhľadom k jej významnej schopnosti kumulovať olovo je možné túto plodinu využiť aj na fyto-remediačné účely. K podobnému záveru dospeli aj (Tomáš, J. et al. 2010), kedy bola štatisticky potvrdená zvýšená rizikovosť prijateľnosti ťažkých kovov skúmanými rastlinami.

### 4.3 Výsledky stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity slnečnice a laskavca

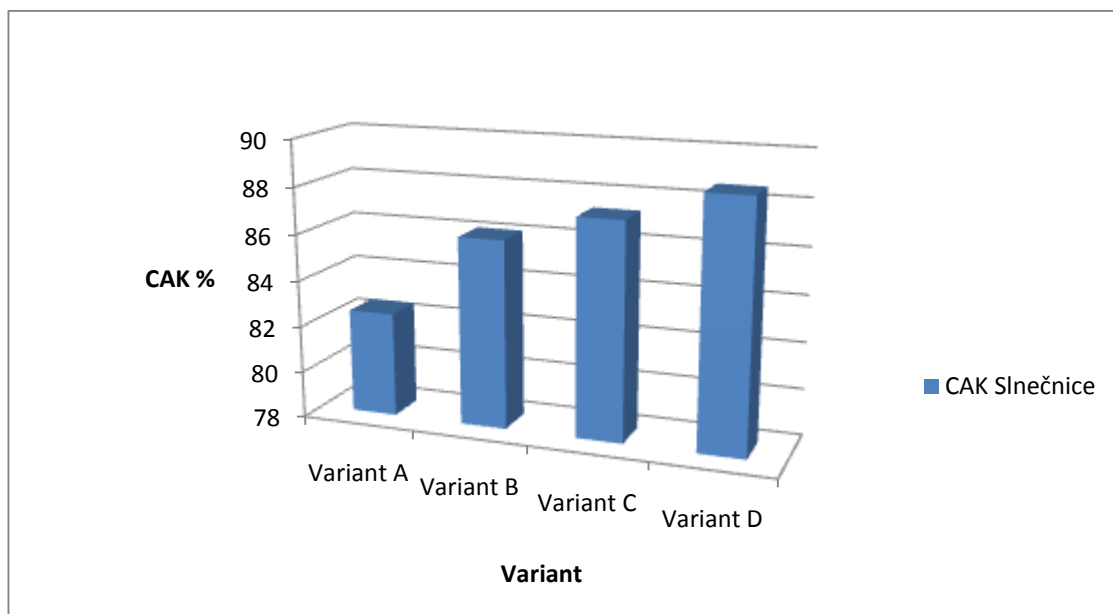
#### 4.3.1 Celková antioxidačná kapacita slnečnice ročnej

Tab. č.23 Celková antioxidačná kapacita slnečnice

	A	B	C	D
DPPH	0,812	0,807	0,804	0,805
0	0,287	0,311	0,399	0,431
1	0,285	0,296	0,356	0,391
2	0,231	0,254	0,312	0,348
3	0,195	0,213	0,287	0,311
4	0,176	0,184	0,241	0,251
5	0,142	0,143	0,198	0,172
6	0,142	0,122	0,152	0,134
7	0,142	0,112	0,115	0,101
8	0,142	0,112	0,102	0,092
9	0,142	0,112	0,102	0,092
10	0,142	0,112	0,102	0,092
CAK %	82,51232	86,12144	87,31343	88,57143

Zo získaných údajov je zrejmé, že celková antioxidačná kapacita slnečnice je pomerne vysoká vo všetkých skúmaných variantoch a to aj pri rôznom zaťažení olovom. Pričom pri zvyšujúcej sa koncentrácii olova sa zvyšovala aj samotná antioxidačná kapacita slnečnice, čo sa dá vysvetliť ako obranný mechanizmus slnečnice proti stresovým podmienkam vyvolaným nadmernou koncentráciou olova.

Graf č. 3 Celková antioxidačná aktivita v zrne slnečnice (%)



Získané výsledky potvrdzujú, že celková antioxidačná aktivita slnečnice priamoúmerne stúpa so zvyšujúcou sa koncentráciou olova v jej zrnách. To sa dá vysvetliť ako obranný mechanizmus slnečnice proti stresovým faktorom spôsobeným zvýšenou koncentráciou olova. Pri porovnaní výsledkov získaných zo stanovenia celkových polyfenolov v zrne slnečnice (viď. príloha č.1) je zrejmé, že táto zvýšená antioxidačná aktivita je spôsobená predpokladanou zvýšenou tvorbou polyfenolových zlúčenín. Práve polyfenolové zlúčeniny sa vyznačujú vysokou antioxidačnou aktivitou. K podobnému záveru dospela aj (Piterková, J. et al. 2005), že pôsobenie stresových faktorov ako napríklad nadlimitná prítomnosť ťažkých kovov môže vyvolať u rastlín oxidatívny stres, čo sa potom prejaví zvýšenou tvorbou látok s antioxidačnou aktivitou.

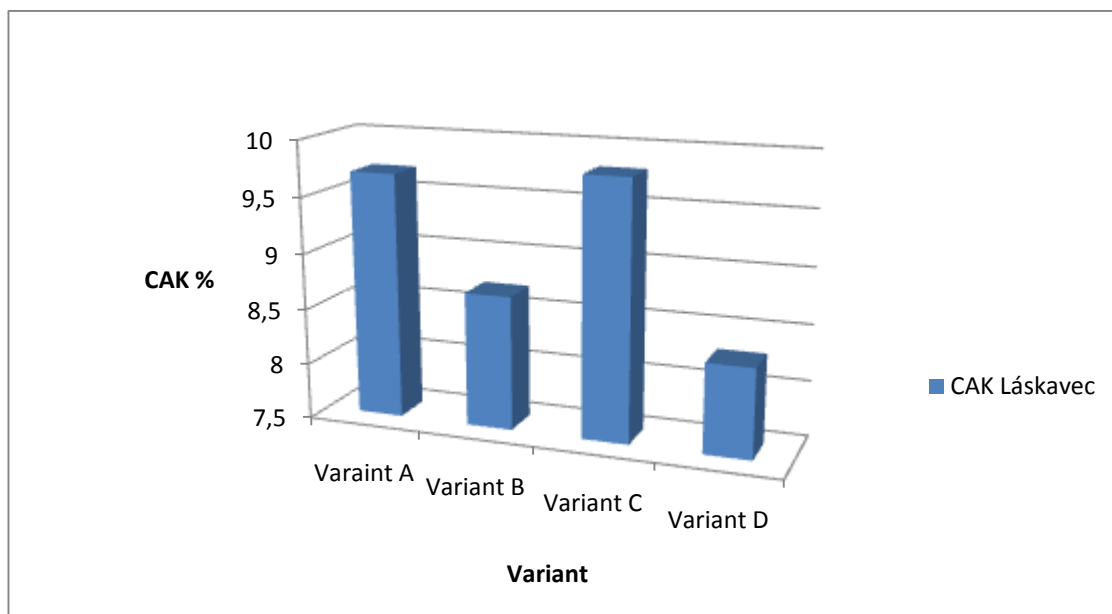
### 4.3.2 Celková antioxidačná kapacita laskavca chvostanatóho

Tab. č. 24 Celková antioxidačná kapacita laskavca

	A	B	C	D
DPPH	0,818	0,84	0,838	0,828
0	0,774	0,803	0,812	0,79
1	0,771	0,8	0,804	0,789
2	0,764	0,798	0,796	0,785
3	0,76	0,785	0,784	0,774
4	0,758	0,779	0,781	0,769
5	0,751	0,773	0,772	0,766
6	0,749	0,77	0,77	0,763
7	0,745	0,768	0,764	0,76
8	0,741	0,767	0,762	0,759
9	0,739	0,767	0,756	0,759
10	0,739	0,767	0,756	0,759
CAK %	9,657702	8,690476	9,785203	8,333333

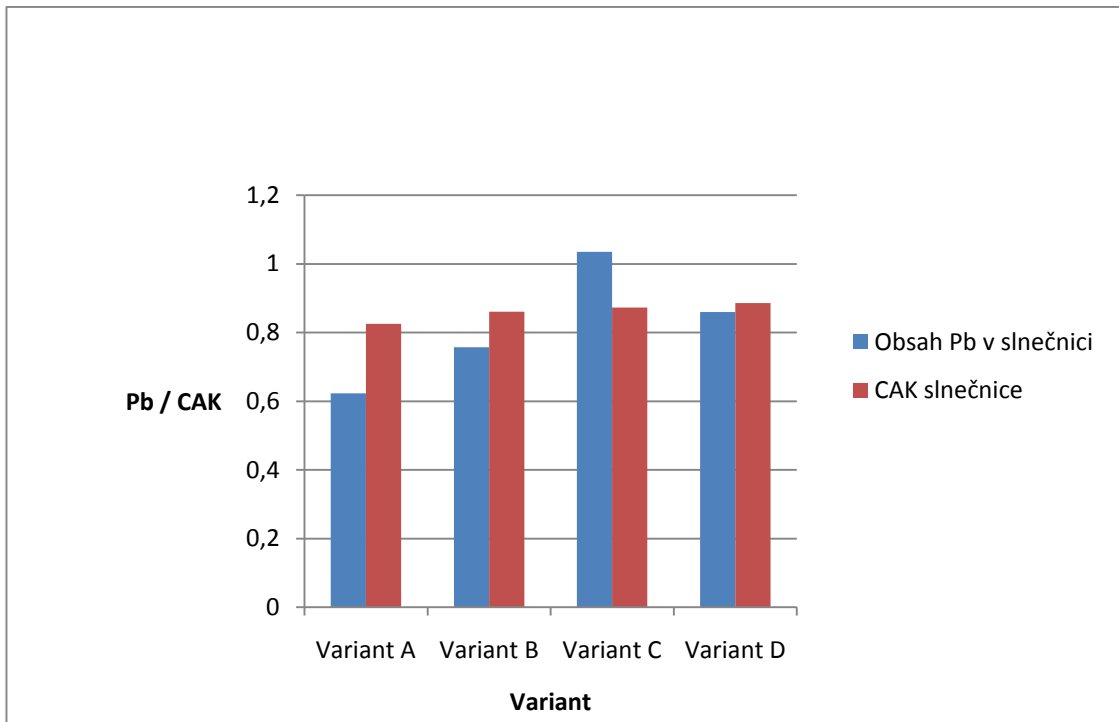
Celková antioxidačná aktivita laskavca dosiahla svoje maximum vo variante C a to 9,78 %. Vo variante D už antioxidačná aktivita klesala, čo môže mať za následok už príliš vysoká koncentrácia olova, pri ktorej sa znižuje aj schopnosť rastliny tvoriť antioxidačne pôsobiace látky. Okrem iného môžu príliš vysoké koncentrácie olova spôsobiť, že rastlina stratí schopnosť tvoriť zrno a pri extrémnych koncentráciách olova dokonca takto kontaminovaná rastlina hynie.

Graf č. 4 Celková antioxidačná aktivita v zrne laskavca (%)



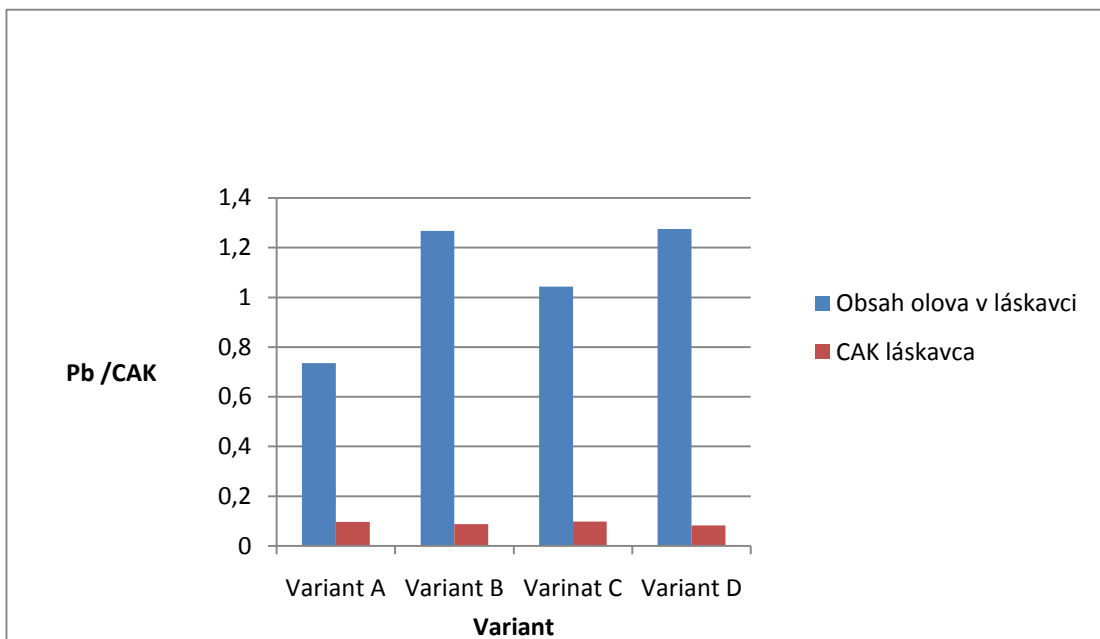
Graf číslo 4 znázorňuje, že so vzrastajúcim obsahom olova v rastline sa znižuje antioxidačná aktivita laskavca, ktorá dosahovala najvyššie hodnoty vo variantoch A a C. Variant A nebol vystavený účinkom metallickej záťaže. Vo variante B sa prejavil vplyv olova na tvorbu antioxidačných látok negatívne, pričom vo variante C pôsobil naopak stimulujuco. Vysvetlenie môže spočívať v tom, že laskavec produkuje látky s antioxidačnou aktivitou vo väčšej miere práve pri takto zvýšenej koncentrácii olova. V poslednom variante bol kriticky prekročený obsah olova, čo malo za následok zníženie produkcie látok s antioxidačnou aktivitou. Štatistické vyhodnotenie získaných výsledkov pre celkovú antioxidačnú aktivitu v zrne laskavca je uvedené v prílohe č. 6.

Graf č. 5 Obsah olova vo vzťahu ku celkovej antioxidačnej aktivite v zrne slnečnice



Zo získaných výsledkov vyplýva, že celková antioxidačná aktivita slnečnice je pomerne vysoká, ba dokonca so stúpajúcim obsahom olova stúpa aj tvorba látok s antioxidačnými vlastnosťami, aj keď oproti rastúcim koncentráciám olova len mierne.

Graf č. 6 Obsah olova vo vzťahu ku celkovej antioxidačnej aktivite v zrne ľaskavca





Celková antioxidačná aktivita sa so vzrastajúcou koncentráciou olova v zrne laskavca skoro vôbec nemnila. Svoje maximum dosiahla vo variante C, pričom obsah olova v tejto rastline klesol. Rastliny v tomto variante menej kumulovali ťažký kov a pri tejto špecifickej koncentrácii olova sa prejavila zvýšená schopnosť tvorby látok vykazujúcich antioxidačnú aktivitu, ktorá vo variante D opäť klesla kvôli zvýšenému obsahu olova. Vo variantoch so zvýšeným obsahom olova v zrne laskavca, sa antioxidačne pôsobiace látky tvorili v menšej miere a naopak. Tento jav sa dá vysvetliť zabudovaním olova do štruktúry polyfenolických zlúčenín s antioxidačnou aktivitou, ktorá sa v dôsledku prítomnosti  $Pb^{2+}$  znižovala.

## 5. Návrh na využitie poznatkov

Z doterajších poznatkov vyplýva, že:

1. Olovo ako jeden z predstaviteľov rizikových, ťažkých kovov v našich pôdach, nie je pre rastliny ľahko prístupným prvkom. Avšak prostredníctvom ekologických faktorov, k akým patrí okysľovanie pôd, sa pre rastliny stáva prístupným.
2. Závažné nebezpečie otravy olovom pre organizmus spočíva v jeho postupej kumulácii v orgánoch a v neskorých prejavoch otravy, keď je naakumulované množstvo olova pre organizmus už kritickým.
3. Je potrebné dôsledne monitorovať obsah rizikových kovov v pôdach.
4. Je nutné zaviesť a dodržiavať prísne ekologické opatrenia, aby sa zamedzilo úniku nebezpečných, toxických a karcinogénnych látok do životného prostredia. K rizikovým látkam patria aj ťažké kovy.
5. Pri riešení otázok znečistenia pôd ťažkými kovmi sa dopopredia dostáva aj problematika bioremediácie pôd znečistených ťažkými kovmi pomocou rastlín, tzv. fytoremediácia.
6. Racionálna výživa sa v dnešnej dobe stáva pre mnohých ľudí nielen otázkou zdravého stravovania sa, ale predovšetkým životným štýlom. Preto je nutné oboznamovať širokú verejnosť s problematikou, do ktorej spadá aj otázka antioxidantne pôsobiacich látok a ich účinku na organizmus.
7. Medzi látky s antioxidantným účinkom patria okrem vitamínov aj rôzne prírodné farbivá (karotény) a synteticky vyrábané látky, ktoré sú doplnkami výživy. Ich cieľom je znížiť oxidačný stres a zamedziť škodlivému pôsobeniu voľných radikálov.
8. Aj pri antioxidantoch sa musí dbať na to, aby nedošlo k ich nadmernému používaniu, zo strany neinformovaných konzumentov. Preto je nutné oboznamovať širokú verejnosť s touto problematikou.
9. Jedným zo zdrojov kvalitných antioxidantov sú určite ovocie a zelenina, ktoré je nutné zahrnúť do stravy každého jedinca.
10. V sledovaných plodinách sa dokázal vplyv ťažkých kovov na schopnosť rastlín produkovať antioxidantne pôsobiace látky, pričom išlo o obranný mechanizmus rastlín voči sorbovaným rizikovým prvkom.

11. Slničnica a láskavec patria medzi rastliny tvoriace veľký objem biomasy a preto môže ich alternatívne využitie spočívať vo fyto-remediácii pôd. Pričom po použití týchto rastlín na fyto-remediáciu účely sa s nimi bude nakladať ako s nebezpečným odpadom.

## Záver

V predkladanej diplomovej práci sme si kládli za cieľ vniknúť do problematiky ťažkých kovov a to konkrétne olova, ktorá je študovaná z rôznych hľadísk. Rizikové ťažké kovy nachádzajúce sa ako kontaminanty ovzdušia, vôd, pôd v životnom prostredí sa môžu stať aj kontaminantmi plodín pestovaných pre potravinárske účely. Ďalej je v tejto práci opísaná aj problematika antioxidantov, ktorým je z hľadiska racionálnej výživy potrebné venovať pozornosť. U rastlín, postihnutých účinkom ťažkých kovov sa výrazne prejavuje zvýšená schopnosť tvorby látok s antioxidantnými vlastnosťami, ako dôsledok ochrany rastlín voči oxidatívne stresu spôsobeného sorbovanými ťažkými kovmi. Obe sledované rastliny preukázali značnú schopnosť kumulovať olovo najmä v nadzemnej fytohmote. Slničnica a ľaskavec patria medzi rastliny tvoriace veľký objem biomasy a preto môže ich alternatívne využitie spočívať vo fyto-remediácii pôd. So stúpajúcou dávkou olova stúpala aj antioxidantná aktivita slnčnice. Môže to byť dôsledok obrannej reakcie rastliny na olovom vyvolaný stres, pričom sa tvoria polyfenolové zlúčeniny s antioxidantným účinkom. V zrne ľaskavca sa vplyv olova prejavil iným spôsobom, olovo inhibovalo antioxidantnú aktivitu zrna ľaskavca. Naše výsledky naznačujú, že obidve plodiny sú významným zdrojom antioxidantov, avšak význam ľaskavca a slnčnice ako poľnohospodárskych plodín dostáva aj nový rozmer ich využitia a to ako "environmentálnych" rastlín.

## Zoznam použitej literatúry

1. AHERNE, S. A. - O'BRIEN, N. M. 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content and metabolism. IN: Nutrition, 18, 2002, s. 75-81.
2. BAČKOR, M. – HUDÁK, J. – BAČKOROVÁ, M. 1998: Comparison between growth response of autotrophic and heterotrophic populations of lichen photobiont *Trebouxia irregularis* (Chlorophyta) on Cu, Hg and Cd chlorides treatment. *Phyton* 28: 239-250.
3. BAČKOR, M. - VÁCZI, P. 2002: Copper tolerance in the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). *Environ. Exp. Bot.* 48: 11-20.
4. BAKER, A. J. M. 1981. Accumulators and excluders – strategies in the response of plant to heavy metals. *J. Plant Nutr.*, 3, 643.
5. BAKER, A. J. M., WALLKER, P. L. 1990: Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw A. J. (ed.). *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects.* CRC Press, Inc., 156-177.
6. BARANEC, T. – POLÁČIKOVÁ, M. – KOŠŤÁL, J. 2007. *Systematická botanika.* Nitra 2007. s. 210 ISBN 979-80-8069-868-3.
7. BLAŽEJ, A. a kol. 1981. *Chemické aspekty životného prostredia.* Bratislava: ALFA 1981. 600 s. ISBN 63-555-81.
8. BALOUN, J. – PETRLOVÁ, J. – PEŘEK, J. – HAVEL, L. – STEJSKAL, K. – VLAŠÍNOVÁ, H. – ZEHNÁLEK, J. – ADAM, V. – TRNKOVÁ, L. – HUBÁLEK, J. 2006. Studium rostlinných detoxikačných peptidů pomocí elektrochemických technik. *Chemické listy. Ročník 100. Číslo 709 – 722, ISSN 1213-7103.*
9. BIELEK, P. 1994. *Kódex správnej poľnohospodárskej praxe Slovenskej republiky ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a VÚP Bratislava.* ISBN 80 – 85361 – 21 – 3.

10. BLIZNAKOV, E.G. 1978. Immunological senescence in mice and its reversal by coenzyme Q10. *Mech. Ageing Dev.*, 1978, 7, s. 189-197.
11. COTTON, F. A. – WILKINSON, G. 1966. *Anorganická chemie*. Praha: Academia 1973. 1104 s. ISBN 509-21-875.
12. ČOPÍKOVÁ, J. - UHER, M. - LAPČÍK, O. - MORAVCOVÁ, J. - DRAŽAR, P. 2005. Přírodní barevné látky. *Chemické listy*. Ročník 99. Číslo 802, ISSN 1213-7103.
13. DAUČÍK, K. a kol. 1984. *Chemické laboratorne tabuľky*, Bratislava: ALFA 1984.
14. DERCOVÁ, K. – MAKOVNÍKOVÁ, J. – BARANČÍKOVÁ, G. – ŽUFFA, J. 2005. Bioremediácia toxických kovov kontaminujúcich vody a pôdy. *Chemické Listy*. Ročník 99. Číslo 682-693, ISSN 1213-7103.
15. DUFEK, J. 1992. Likvidácia kalov kompostovaním. Zborník „Likvidácia kalov a sedimentov vo vodnom hospodárstve“, Banská Bystrica, 28. - 29.4. 1992.
16. ĎURAČKOVÁ, Z. 1998. Voľné radikály a antioxidanty v medicíne (I). Bratislava: Slovak Academic Press, 1998. s. 315
17. ERNST, W. H. O. 1974: *Schwermetallvegetation der Erde*. Gustav Fischer Verl. Stuttgart, 1974, p. 194
18. ERNST, W. H. O., KNOLLE, F., KRATZ, S., SCHUNG, E. 2004: Aspects of ecotoxicology of heavy metals in the Harz region - a quided excursion. *Landbauforschung Völkenrode* 2004, roč. 54, p. 53 - 71.
19. ERNST, W. H. O., VERKLEIJ, A. C., SCHAT H. 1992: Metal tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.* 41. p. 229-248.
20. GAZDÍKOVÁ, K. – GAZDÍK, F. - HOJEROVÁ, J. 2000. Koenzým Q10 – význam, vlastnosti a využitie vo výžive a kozmetike. *Čes. Slov. Farm.*, 2000, XLIX, s. 119-123.

21. GAŽO, J. a kol. 1981. Všeobecná a anorganická chémia, Bratislava: ALFA 1981.
22. HRČKOVÁ, M. - TURDÍK, E. – MALIAR, T. – ZEMANOVIČ, J. 2004 Biochemické vlastnosti proteolytických enzýmov. Chemické listy, ročník 98. 2004. 842 – 850 s. ISSN 1213-7103.
23. HŘEBÍČKOVÁ, Š. 2009. Antioxidanty a volné radikály: rozdělení, jejich kapacita a aktivita. Výživa a potraviny (časopis společnosti pro výživu s přílohou) ročník 64. Číslo 2. 2009.
24. KABATA-PENDIAS, A. – PENDIAS, H. 2001. Trace Elements in Soil and Plants. 3. vydanie. London: CRC Press, 2001, p. 413 ISBN 0-8493-1575-1.
25. KLINDA, J. – LIESKOVSKÁ, Z. a kol. 2009. Správa o stave životného prostredia Slovenskej republiky v roku 2009. 1. vydanie. Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky. s. 280 ISBN: 978-80-88833-54-3
26. LAHUČKÝ, L. – ÁRVAY, J. – BYSTRICKÁ, J. – ČÉRY, J.: The content of heavy metals in crops grew in metallicity polluted region of Slovakia. Agriculture (Poľnohospodárstvo), vol. 55, 2009, N. 3, pp. 156–163.
27. LAZAREYEV, N. V. 1954. Chemické jedy v průmyslu II. Anorganické a organokovové sloučeniny. Praha 1959.
28. LINKEŠ, V. (1997): Monitoring of soil from Slovak republic. In: Present state of monitored soil traits. VÚPÚ : Bratislava, 1997, 128 p. ISBN 80-89012-08-4
29. MARHOLD, J. 1987. Přehled průmyslové toxikologie, Praha: Avicem 1987.
30. MARTINEC, M. 2009. Nutriční hodnota a antioxidační kapacita biopotravin a standardních potravin. Jejich změny po jednotýdenním skladování. In Výživa a potraviny (časopis společnosti pro výživu s přílohou), ročník 64, číslo 2 2009. s. 43-46
31. MELICHERČÍK, M.- MELICHERČÍKOVÁ, D. 1997. Bioanorganická chémia, Bratislava: Príroda 1997.
32. MOJŽIŠ, J., MOJŽISOVÁ, G. 2001. Flavonoidy a ich biologické účinky. Košice: Viena, 2001. s. 134.

33. PITERKOVÁ, J. – TOMÁNKOVÁ, K. – LUHOVÁ, L. – PETŘIVALSKÝ, M. – PEČ, P.: Oxidativní stres : Lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. In Chemické listy, ročník 99, 2005. s. 455 - 466 ISSN 1213-7103.
34. PITTER, P. 1990. Hydrochemie, Praha: STNL 1990. 568 S. ISBN 04-622-90.
35. PROCHÁZKA, S.- MACHÁČKOVÁ, I.- KREKULE, J.- ŠEBÁNKA, J. a kol. 2003. Fyziologie rostlin. Praha : Academia NAVČR, 1998, dotlač 2003. ISBN 80 – 200 – 0586 – 2.
36. PRIOR, R.L.- CAO, G. 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. J AOAC International 83, 2000, s. 950-956.
37. POLÁČEK, Š.- KULICH, J.- TOMÁŠ, J.- VOLLMANNOVÁ, A. 2005. Anorganická chemia. Nitra: 2005. 413s ISBN 80-8069-580-6.
38. POLUMINOVÁ, M. 1998. Potraviny ktoré liečia. Bratislava: PERFEKT, 1998, s. 157. ISBN 80-8046-082-5.
39. SRKALOVÁ, S. – KALÍKOVÁ, K. – TESAŘOVÁ, E. 2008. Výskyt a význam enantiomerů v potravinách. In. Chemické listy. Ročník 102, 2008. S. 480-486. ISSN 1213-7103.
40. STRNAD, V. - ZOLOTAREVA, B.N.- LIISOVSKIJ, A.J. 1990. Vliv obsahu olova, kadmia a mědi v půdě na jejich kumulaci a výnos zemědělských plodin. Rostlinná výroba, 36, 1990, 4, s.411-416.
41. SZABOVÁ, T. – GONDOVÁ, A. – LEŠČINSKÁ, A. 1998. Kumulácia ťažkých kovov po aplikácii čistiarenských kalov. In. Acta Montanistica Slovaca. Ročník 3, číslo 4. (1998) s. 473-477.
42. ŠVOMA, J. 1983. Zkušenosti s monitorováním kvality podzemní vody v rámci její preventivní ochrany před ropným znečištěním. In. Hydrogeochemické problémy znečišťovania prírodných vôd. Bratislava: Geologický ústav Dioníza Štúra. 1983.s. 197.
43. TOMÁŠ, J. – ČÉRY, J. – ÁRVAY, J. 2010. Zraniteľnosť pôdy v oblasti Strážske z pohľadu jej ekologických funkcií vzhľadom na Cd, Pb a Ni. In Chemické listy, ročník 104, 2010. s.572-581. ISSN 1213-7103.
44. TÓTH, T. – VOLLMANNOVÁ, A. – BYSTRICKÁ, J. – JOMOVÁ, K. – MUSILOVÁ, J. – HRUŠKOVIČOVÁ, A. 2008. Antioxidant Q10. In Chemické Listy, ročník 102, 2008. s. 751-759. ISSN 1213-7103.



45. TÓTH, T. - TOMÁŠ, J. - HARANGOZO, L.- LAZOR, P. - LAHUČKÝ, L. – ČÉRY, J. – KULICH, J. 2008. Obsah Cd a Pb v zrne obilnín pestovaných v zaťaženej oblasti. In. Chemické Listy, ročník 102, 2008. s. 751-759. ISSN 1213-7103.
46. VILČEK, J. – HRONEC, O. – BEDRNA, Z. 2005. Environmentálna pedológia. Nitra. 2005. s. 299. ISBN 80-8069-501-6.
47. VOET , D. - VOETOVÁ , J. 1995. Biochemie. Victoria publishing, 1995. 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.

**Internetové zdroje:**

<http://eutrofia.sk/> [cit. 9. mája, 2009]

<http://sk.wikipedia.org/wiki/> [cit. 9. mája, 2009]

<http://www.metasyn.sk/> [cit. 8. mája, 2009]

## **Prílohy**

**Príloha č.1** Štatistické vyhodnotenie tabuliek č. 19 – 24.

Tab. č. 19 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia obsahu olova v zrne slnečnice ročnej

Min	44,01	0,1	0,53	0,14
Median	55,395	0,3	0,81	0,26
Maximum	60,36	0,5	1,07	0,51
Smerodajná odchýlka	±4,965636	±0,123659	±0,173279	±0,082422

Tab. č. 20 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia obsahu olova v zrne láskavca chvostanateho

Min	40,07	1	0,67	0,10
Median	48,235	1,3	1,07	0,11
Maximum	4839,27	1,9	1,87	0,15
Smerodajná odchýlka	±1197,862	±0,270801	±0,317014	±0,013889

Tab. č. 21 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia obsahu olova v slame slnečnice ročnej

Min	19,1	0,9	3,7	0,37
Median	33,3	1,45	21,8	0,56
Maximum	51,7	2,2	36,6	0,97
Smerodajná odchýlka	±11,79146	±0,294887	±10,81351	±0,173165

Tab. č. 22 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia obsahu olova v slame láskavca chvostanateho

Min	34,3	1,5	6,5	0,4
Median	51,5	2,05	9,75	0,495
Maximum	75,9	2,5	22,9	0,495
Smerodajná odchýlka	±12,12683	±0,305232	±4,668659	±0,037925

Tab. č. 23 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity slnečnice ročnej

Min	0,142	0,112	0,102	0,092
Median	0,159	0,1635	0,2195	0,2115
Maximum	0,812	0,807	0,804	0,805
Smerodajná odchýlka	±0,18952	±0,195803	±0,199883	±0,210323

Tab. č. 24 Štatistické vyhodnotenie výsledkov stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity láskavca chvostanateho

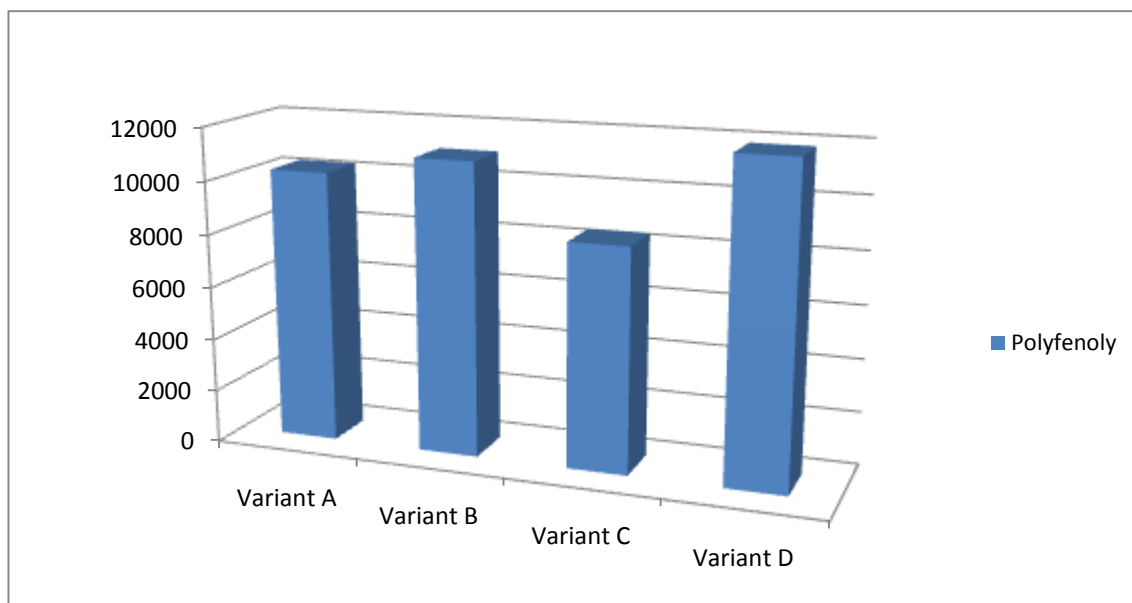
Min	0,739	0,767	0,756	0,759
Median	0,7545	0,776	0,7765	0,7675
Maximum	0,818	0,84	0,838	0,828
Smerodajná odchýlka	±0,022076	±0,022173	±0,025282	±0,020416

**Príloha č. 2** Obsah celkových polyfenolických látok v zrne slnečnice a laskavca

Tab. č. 25 Obsah celkových polyfenolických látok v zrne slnečnice, vyjadrený ako 1 mg kyseliny galovej v 1 kg sušiny vzorky.

Variant	Vzorky	výsledok	
A	41,224	10306	K Y S E L I N A  G A L O V Á
	34,236	8559	
	32,86	8215	
	44,083	11020,75	
	49,699	13424,75	
	40,369	10098,25	
B	46,417	11604,25	
	40,748	10187	
	44,983	11245,75	
	46,571	11642,75	
	42,013	10503,25	
	44,258	11064,5	
C	34,925	8731,25	
	28,307	7076,75	
	34,713	8678,25	
	38,318	9579,5	
	27,407	6851,75	
	38,174	9543,5	
D	44,294	11073,5	
	55,146	13786,5	
	40,959	10239,75	
	57,687	14424,75	
	42,442	10610,5	
	44,356	11089	

Graf č. 7 Grafické znázornenie celkového obsahu polyfenolických látok v zrne slnečnice ročnej vyjadrený ako 1 mg kyseliny galovej v 1 kg sušiny vzorky.



Tab. č. 26 Obsah celkových polyfenolických látok v zrne laskavca, vyjadrený ako 1 mg kyseliny galovej v 1 kg sušiny vzorky.

Variant	Vzorky	výsledok	
A	57,868	1421,225	K Y S E L I N A  G A L O V Á
	60,165	1478,65	
	54,395	1334,4	
	55,036	1350,425	
	52,418	1284,975	
	53,251	1305,8	
B	56,112	1377,325	
	57,913	1422,35	
	50,709	1242,25	
	60,165	1478,65	
	59,204	1454,625	
	58,654	1440,875	
C	48,892	1196,825	
	46,862	1146,075	
	55,571	1363,8	
	43,335	1057,9	
	47,393	1159,35	
	50,236	1230,425	
D	63,27	1556,275	
	66,741	1643,05	
	53,861	1643,05	
	55,036	1350,425	
	51,617	1264,95	
	57,869	1421,25	

Graf č. 8 Grafické znázornenie celkového obsahu celkových polyfenolických látok v zrne laskavca, vyjadrený ako 1 mg kyseliny galovej v 1 kg sušiny vzorky.

