

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Živočišná výroba

9 ✓

ROČNÍK 3 (XXXI) — PRAHA, ZÁŘÍ 1958

CENA 10 Kčs

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

Řídí redakční rada: akademik Vladimír Koželuha (předseda), akademik Karel Koubek, dopisující člen ČSAZV dr. inž. Josef Šmerha, doc. dr. inž. Josef Kopecký, doktor zemědělských věd prof. dr. inž. Jan Podhradský, dopisující člen dr. inž. Jaroslav Herzig, dr. inž. Andrej Karakoz, dr. inž. František Volř, inž. Jan Plesník. — Vedoucí redaktor František Němec.

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

- Gažo M. — Landau L.: Režim vitamínu A a karoténu u kráv v období přechodu z hypovitaminózného krmění na jarné zelené krmění
Режим витамина А и каротина у коров в период перехода от гиповитаминозного зимнего кормления в кесенному зеленому кормлению
Vitamin A and Carotene Metabolism in Dairy Cows in the Period of Transition from the Winter Feeding low in Carotene to the green Feeding . . . 679
- Klimeš I.: Vyloučení ztrát karoténu při chromatografické izolaci na kyslíčnicku hlinitém
Устранение потерь каротина при хроматографической изоляции на окиси алюминия
Die Verlustvermeidung an Karotin bei der chromatografischen Isolation auf dem Aluminiumoxyd . . . 693
- Lautner V.: Výzkum obsahu β -karoténu a vitamínu E v pícninách. I. sdělení: Medicago sativa L. (vojtěška setá)
Исследование β -каротина и витамина Е в корморастениях Medicago sativa L. (люцерна посевная)
Forschung über den β -Karotin- und Vitamin E-Gehalt der Futterpflanzen Medicago sativa L. (Luzernerklée) . . . 707
- Růžička M. — Müller Z.: Nové způsoby úpravy penicilinových solí za účelem zvýšení jejich nutričního účinku a stability v krmivech. I. sdělení
Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их питательного действия и стабильности в кормах
I-ое сообщение
Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln. I. Mitteilung . . . 723
- Müller Z. — Růžička B. — Roedl J. — Mattušová D.: Nové způsoby penicilinových solí za účelem zvýšení jejich nutričního účinku a stability v krmivech. II. sdělení
Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их действия и стабильности в кормах
II-ое сообщение
Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln. II. Mitteilung . . . 739

Režim vitamínu A a karoténu u kráv v období prechodu z hypovitaminózneho kŕmenia na jarné zelené kŕmenie

Режим витамина А и каротина у коров в период перехода от гиповитаминозного
зимнего кормления к весеннему зеленому кормлению

Vitamin A and Carotene Metabolism in Dairy Cows in the Period of Transition from
the Winter Feeding low in Carotene to the green Feeding

M. GAŽO, L. LANDAU

*Laboratórium fyziológie hospodárskych zvierat SAV Ivanka pri Dunaji,
vedúci Dr. L. Landau, člen korešpondent SAV*

Došlo dňa 24. II. 1958

Úvod

Kŕmenie dojníc je v našich súčasných výrobných pomeroch vo väčšine chovov, a to najmä v zimných mesiacoch, veľmi často kvalitatívne deficientné. Štruktúra kŕmnej dávky, ktorá je zložená len z malého množstva sena priemernej akosti, väčšinou však z kŕmnej slamy, kyslých cukrovarníckych rezkov, alebo málo kvalitnej kukuričnej siláže a s prídavkom jaderných kŕmív, nezaručuje požadovanú biologickú hodnotu výživy dojníc. Sú to predovšetkým vitamíny a medzi nimi na prvom mieste karotén, ktoré sú v tomto období u dojníc skoro pravidelne v nedostatku. Rozsah karence tohto provitamínu v zimných mesiacoch bezpečne zistili Gažo a Landau (7) v jednom väčšom typickom chove štátnych majetkov v roku 1955, kde prívod karoténov v kŕmnej dávke dojníc v zimnom období nepresahoval 20 mg na dojnicu denne, t. j. činil len asi $\frac{1}{15}$ normálnej potreby. Pochopteľne, že tento nedostatok sa prejavil v znížení hladiny karoténu (vitamínu A) jak v krvnej plazme dojníc, tak i v mlieku, a to v takom rozsahu, že v krvnej plazme boli zistené sotva stopy vitamínu A, a na celkovej aktivite vitamínu A v krvi participoval iba karotén, a to ešte v malom množstve. Obsah karoténu v mlieku bol koncom hypovitaminózneho zimnej výživy len asi 2,2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ a vitamínu A približne 8,6 m. j./100 g.

Od začiatku zeleného kŕmenia sledovali autori asi 20 dní hladinu karoténu a vitamínu A v mlieku a krvi pokusných kráv a zistili, že zatiaľ čo hladina vitamínu A v mlieku sa, i keď nerovnomerne, predsa len podstatne zvýšila (asi 10násobne s dosiahnutím vrcholu asi v 12. deň), zostal obsah vitamínu A v krvi i pri zelenom kŕmení nezmenený. Hladina karoténu mala však jak v krvi tak i v mlieku jednoznačne rýchlu a rovnomerne vzostupnú tendenciu. Pomalé a nerovnomerné vylučovanie vitamínu A do mlieka začiatkom zeleného kŕmenia vysvetľuje väčšina autorov tým, že po dlhšej hypovitaminóznej výžive organizmus saturuje najprv svoje vyčerpané depôtne zásoby vitamínu A najmä v pečeni a až po ich obnovení vylučuje tento vitamín v plnom rozsahu do mlieka. Tento predpoklad ne-

vylučuje ani skutočnosť, že v jugulárnej venóznej krvi neboli zistené skoro žiadne hodnoty vitamínu A, lebo je ľahko možné, že jeho konverzia z karoténu prebehla v stene črevnej a potom krvným obehom sa ukladal priamo v pečeni. Vzhľadom na to, že dynamika vylučovania vitamínu A i karoténu do mlieka v období prechodu zo zimného (obvykle hypovitaminózneho) kŕmenia dojnic na jarne zelené kŕmenie má značný význam zdravotne preventívny i funkčný, chceli sme v spresnenej forme preštudovať jeho režim práve v tomto období. V úvahu sme brali nielen hladisko celkového hospodárenia organizmu kravy s týmto vitamínom, ale i problém vitamínovej hodnoty mlieka na jar, jednak ako významnej ľudskej potravy a tiež ako hlavného zdroja výživy teliat, kde práve vitamín A môže mať rozhodujúcu úlohu v prípadnej prevencii rôznych katarálnych onemocnení zažívacieho a dýchacieho aparátu u teliat.

Súčasný stav otázky v prehľade literatúry

Problém dynamiky vylučovania vitamínu A a karoténu do mlieka a prechodu do krvi v období zeleného kŕmenia nebol u nás ani v svetovej literatúre podrobne sledovaný. Túto otázku riešil čiastočne Sréter (15), ktorý stanovil obsah vitamínu A a karoténu v krvi a v mlieku kráv v 1., 6., 10., 25. a 37. deň po začiatku zeleného kŕmenia. Našiel pomerne rýchle stúpanie karoténu v krvi a v mlieku, ale silné kolísanie, ba až prechodný pokles vitamínu A v krvi a v mlieku, najmä na začiatku zeleného kŕmenia.

Baumann a spol. (2) udávajú, že obsah vitamínu A v mlieku dosiahol maxima u dojnice, ktorá bola predtým 60 dní na suchom kŕmení, až po 2 týždňoch kŕmenia čerstvou lucerkou. Podľa Davidova a spol. (6) sa pri prechode na zelené kŕmenie najprv naplnia depá vitamínu A a preto jeho obsah napr. v mlieku stúpa len pomaly. Maximálny obsah vitamínu A v mlieku zistili v apríli a v máji, minimálny v novembri. Byers a spol. (5) študovali ukladanie vitamínu A do pečene u kráv rôzne živých. V mesačných intervaloch podrobili rozboru mlieko, krv a pečeň. Z výsledkov uzatvárajú, že kravy chované od narodenia A-hypovitaminózne majú zníženú schopnosť ukladania vitamínu A a karoténu do pečene, do krvi a mlieka, a to aj po zvýšenom prívode karoténu (až 340 μg na kg váhy) alebo po injekcii vitamínu A (až 1250 m. j.). V ďalšej práci toho istého kolektívu Jones a spol. (13) sa poukazuje na veľkú variabilitu plazmatického vitamínu A. Hladina vitamínu A v mlieku a karoténu v plazme a v mlieku odráža prívod karoténu u kráv dobre živých. Nenašli však žiadny vzťah medzi hladinou vitamínu A v pečeni, v krvi a v mlieku. Otelenie neovplyvňuje podľa nich zásoby vitamínu A v pečeni.

Baszynski (1) zistil pri celoročnom štúdiu, a to v mesačných intervaloch, maximálnu hodnotu hladiny vitamínu A v krvi i v mlieku kráv v júli a v auguste, kedy boli značné individuálne rozdiely. Na celkovej aktivite vitamínu A v krvi participoval hlavne karotén, kdežto v mlieku axeroftól. Zatiaľ čo v krvnom séru kolísal v priebehu roku najmä karotén (až 1:12,5), vitamín A vzrástol len 2–3krát proti minimu. Obsah vitamínu A v mliečnom tuku vzrástol z 9,8–18,8 m. j./g tuku v máji na 39–48 m. j./g tuku v auguste.

Haubold a Kolb (9) tiež predpokladajú, že dojnica saturuje po období hypovitaminózneho výživy najprv svoje vyčerpané depá, až potom prechádza vitamín A a karotén do mlieka. Preto hladina vitamínu A začína stúpať v priemere za 15–16 dní a u zle živých dojnic až po 36. dňoch od začiatku zeleného

kŕmenia. Podľa W a g n e r a (17) bolo mlieko v auguste a septembri 10 až 20krát bohatšie na vitamín A ($12-160 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) a karotén ($3-62 \mu\text{g}/\text{ml}$) než mlieko v zimných mesiacoch (január—február).

K o n (14) našiel 33% -ný rozdiel v obsahu karoténoidov medzi letným a zimným mliekom. Ako dôkaz možnosti udržať vysokú a celoročne rovnomernú aktivitu vitamínu A v mlieku dobrým kŕmením je práca B r e n c e a N e l s o n a (3), ktorí našli celkom malé rozdiely medzi zimným a letným mliekom kráv, keď tieto boli v zimnom období kŕmené vyššími dávkami veľmi dobrého sena. Ba dokonca sa v jednom prípade ukázalo mlieko z februára bohatšie na vitamín A, ako mlieko z pastevného obdobia.

Celkove možno konštatovať, že nálezy autorov sú shodné predovšetkým v tom, že existujú značné sezónne rozdiely v obsahu vitamínu A v mlieku i v krvnej plazme, ďalej že v období zimnej hypovitaminózneho výživy sa na celkovej vitamín A aktivite podieľa prevážne karotén a len v malej miere axeroftól a napokon, že v období kŕmennej zimnej výživy naplní organizmus kráv predovšetkým vyprázdnené depá vitamínu A a až potom je tento vitamín vylúčený do mlieka. Preto jeho hladina sa v mlieku ustálila až za určitú dobu, ktorá je do značnej miery odvislá od dĺžky a rozsahu predchádzajúcej na karotén deficientnej výživy. So zameraním bližšie osvetliť niektoré z týchto problémov sme pristupovali i k našej práci.

Vlastný pokus a jeho metodika

Do pokusu bolo vybraných 7 kráv plemena slov. červenostrakatého z jednej maštale, ktoré boli od 1. novembra predošlého roku hypovitaminózne (na karotén a vitamín A) kŕmené. Od 17. IV. boli všetky kravy individuálne sledované, a to denným stanovením dojivosti a rozborom priemernej vzorky mlieka zo všetkých výdojkov na obsah tuku, vitamínu A a karoténu a odberom krve a stanovením obsahu vitamínu A a karoténu v séru dvakrát za týždeň. Denný prívod β -karoténu krmivom sa stanovil z rozboru celej kŕmnej dávky a dennej spotreby krmív vždy na začiatku kŕmneho obdobia, alebo pri akejkoľvek zmene kŕmenia.

Denný prívod β -karoténu v krmive, ktoré sa skladalo hlavne z kŕmnej slamy, kŕmnej repy, menej kvalitnej kukuričnej siláže a prídavku jadernej zmesi (šrot a mlynské odpadky), nedosahoval v pozorovanom období ani celých 20 mg na kravu, čo reprezentuje približne len asi $\frac{1}{5}$ skutočnej potreby.

Pokusné kravy sa postupne telili; dátumy pôrodov ako aj počet laktáčnych dní v období hypovitaminózneho výživy sú uvedené v tabuľke I.

I.

Krava č.	1	14	15	20	52	62	79
Dátum otelenia	24.VI.	17. V.	25. V.	9. V.	9. VI.	17. IV.	20. IV.
Počet laktáčnych dní v hypovitam. výžive	0	37	29	46	14	68	64

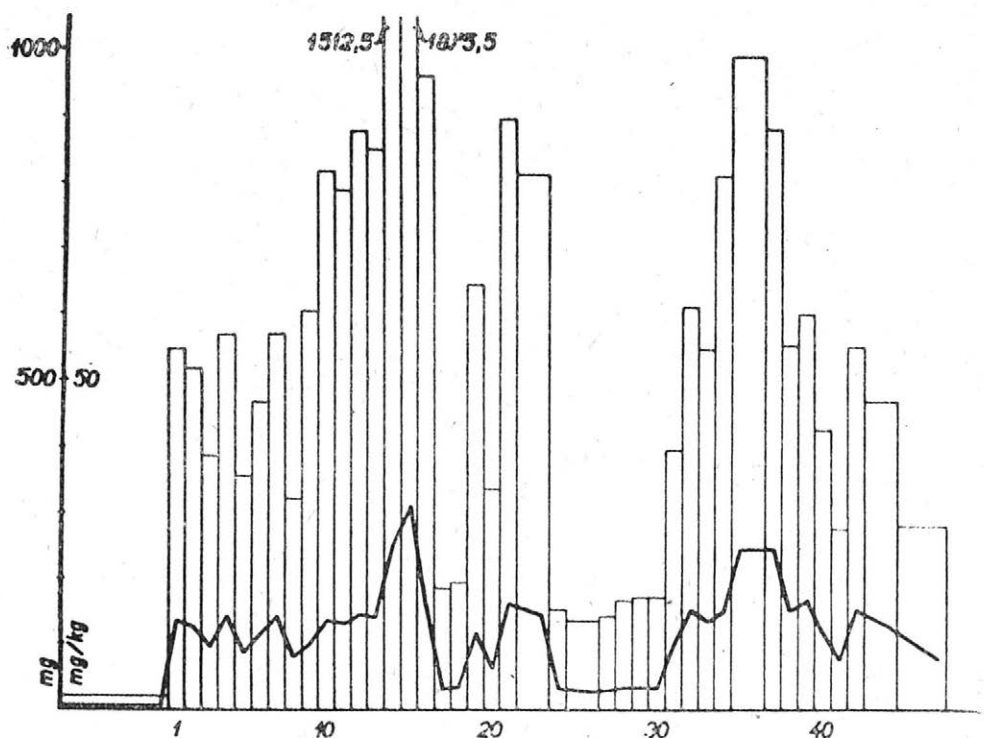
Zelené krmivo sa začalo kravam podávať až 24. VI., pričom obsah β -karoténu v krmive, ako aj jeho množstvo v dennej dávke je uvedený na diagr. 1.

Týždeň pred začatím zeleného kŕmenia až do troch týždňov zeleného kŕmenia okrem denného rozboru priemernej vzorky mlieka na obsah vitamínu A a karoténu stanovovali sme denne tiež množstvo β -karoténu v krmive. Po 3. týždňoch zeleného kŕmenia sa brali priemerné vzorky z dvoch, poťažne troch dní. Krv sa odoberala z jugulárnej vény stále dvakrát za týždeň, a to 19 dní pred začiatkom zeleného kŕmenia až do 47. dňa zeleného kŕmenia. Pri odbere celodennej vzorky mlieka sa postupovalo tak, že z každého pôdoju sa odoberala po dokonalom premiešaní $\frac{1}{10}$ vzorku. Vzorky celého dňa sa zmiešali a nasledujúci deň sa podrobili rozboru.

Vitamín A, karotény v mlieku i v krmive sa stanovili podľa Jednotných analytických metód (12), a to vitamín A kolorimetricky s chloridom antimonitým. Pri analýze mlieka a krvi upustili sme od chromatografického vydelenia β -karoténu a vitamínu A, pretože pri nízkom obsahu karoténov mohli by sa stráty pri chromatografii príliš silne prejavíť. Takisto pri stanovení vitamínu A a karoténov v séru bola použitá bežná metóda (10). Obsah tuku v mlieku sa stanovil bežnou metódou Gerberovou (11).

Výsledky

Denný prívod β -karoténu pred zeleným kŕmením sa pohyboval okolo 13 až 18 mg. Zelené kŕmivo po 24. VI. dodávalo denne okolo 500 mg β -karoténu. Prívod β -karoténu nebol v tomto období rovnomerný a silne kolísal vo vzťahu k zloženiu krmiva a vegetačnému štádiu rastu. Najviac β -karoténu dostávali kravy 14. a 15. deň zeleného kŕmenia. Pomerne málo ho dostali 17., 18. a potom od

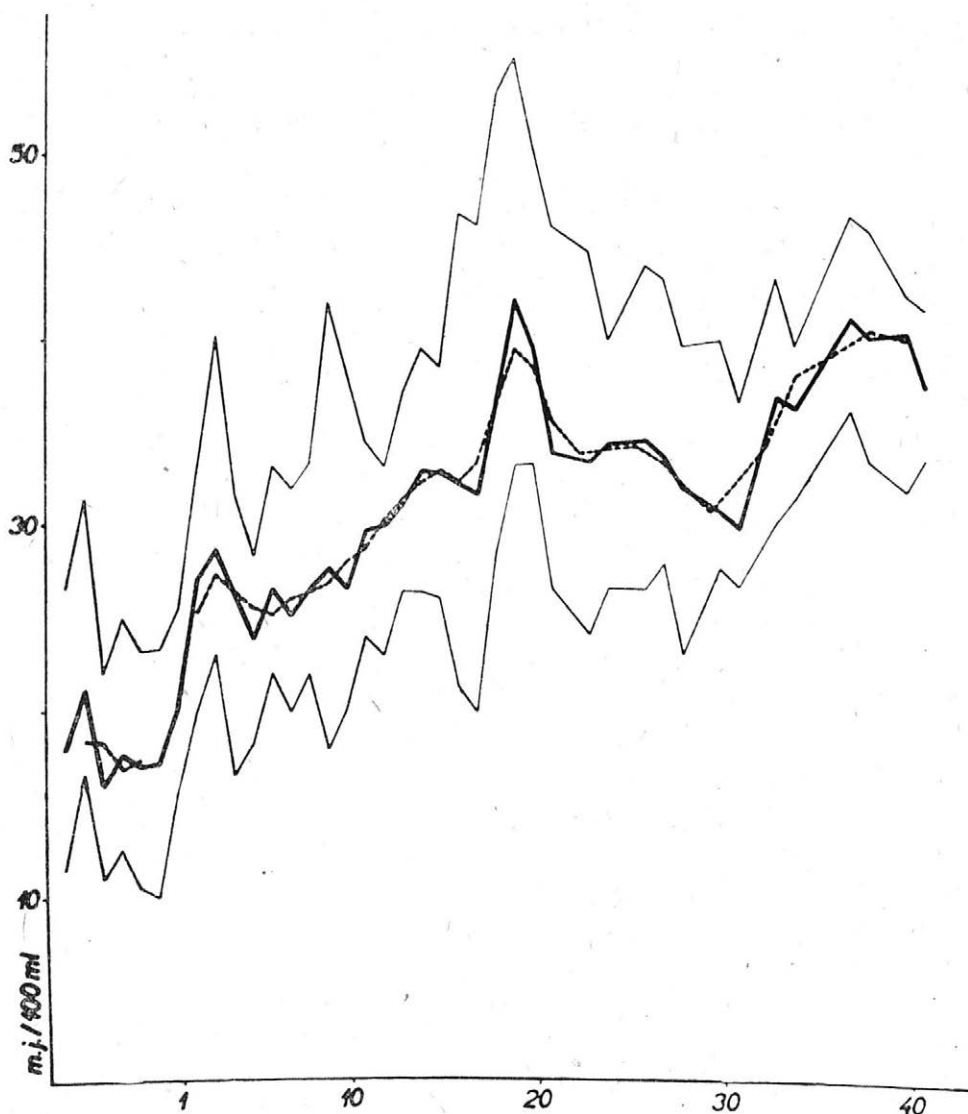


Diagr. 1. Obsah β -karoténu v krmive (polygon) a množstvo β -karoténu v jednej dávke (stĺpcový diagram) v jednotlivých dňoch zeleného kŕmenia.

24. do 30. dňa zeleného kŕmenia. Po 30. dni sa prívod β -karoténu zas zvýšil (pozri diagr. 1.).

Výsledky rozborov od jednotlivých kráv boli spracované do grafov. V grafoch sú vyznačené priemerné, maximálne a minimálne hodnoty a ďalej klzavé priemery zo susedných troch hodnôt pre obdobie pred a po začatí zeleného kŕmenia zvlášť. Krava č. 1. nebola do priemerov pojatá, lebo sa otelila v deň začatia zeleného kŕmenia.

Hneď prvý deň zeleného kŕmenia nastalo náhle stúpnutie obsahu vitamínu A (diagr. 2.) v mlieku, ktoré trvalo až do tretieho dňa. Po nasledovnom miernom poklese obsah vitamínu A v mlieku sa postupne zas zvyšoval. Obsah vitamínu A dosiahol maximum v dvadsiatom dni zeleného kŕmenia, kedy prevyšoval dva a pol



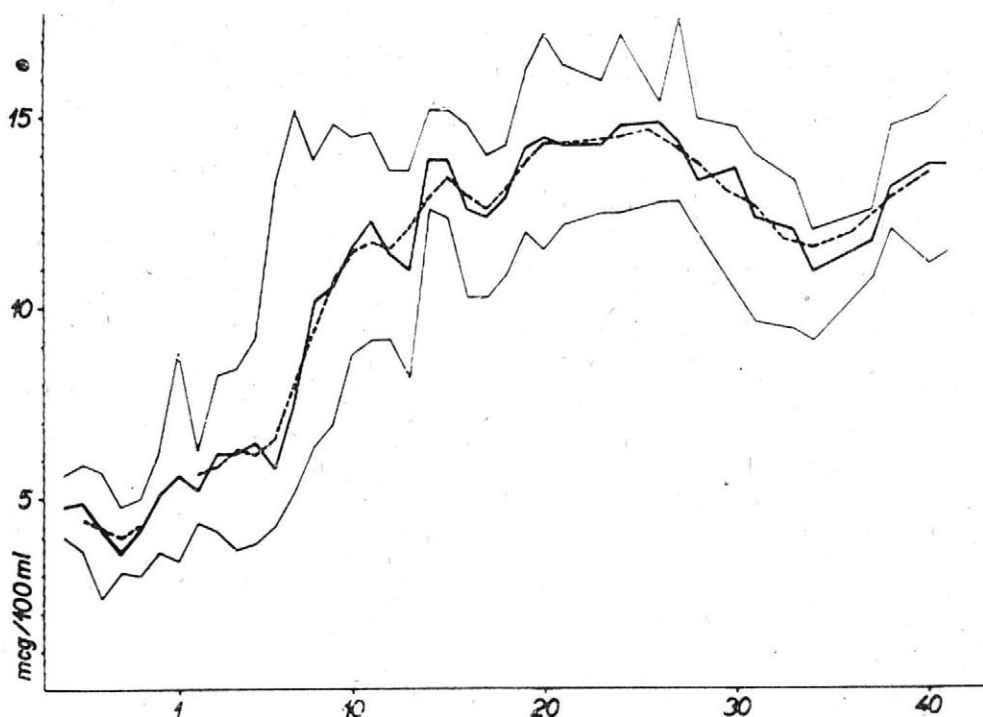
Diagr. 2. Priemerný, minimálny a maximálny obsah vitamínu A v mlieku v jednotlivých dňoch zeleného kŕmenia. - - - - klzavé priemery.

ráz hodnoty z obdobia pred zeleným kŕmením. Priebeh obsahu vitamínu A prepočítaného na mliečny tuk, takisto aj množstva vitamínu A vylúčeného do mlieka za deň bol podobný priebehu obsahu v celom mlieku.

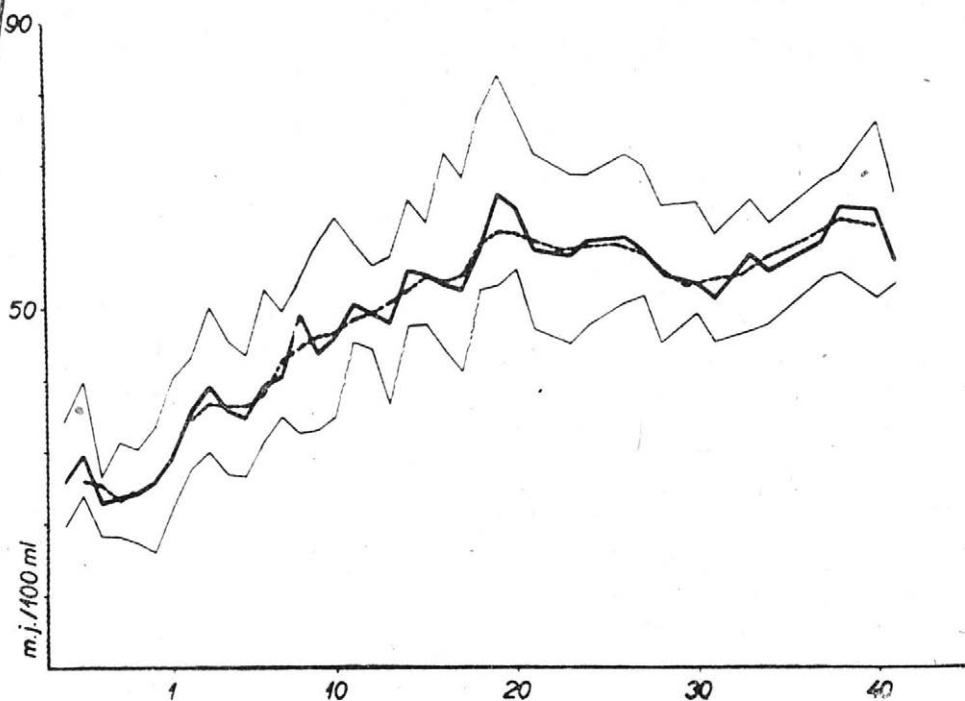
Obsah karoténov v mlieku v období hypovitaminózneho výživy sa pohyboval okolo 4–5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Prvých 6 dní zeleného kŕmenia sa hodnoty zvyšovali len pomaly (diagr. 3) a až potom nastalo rapídne stúpanie. Po 11. dni bolo toto stúpanie zas miernejšie. Po 20. dni zeleného kŕmenia nastala stabilizácia hodnôt. V maxime dosiahol priemerný obsah karoténu v mlieku výšku 14,9 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, t. j. okolo trojnásobok proti obsahu v období zimného kŕmenia. Množstvo karoténov v celodennom výdoji i obsah karoténov v mliečnom tuku sleduje pomerne tesne krivku vyjadrujúcu obsah karoténov v mlieku.

Celková A-vitaminová aktivita mlieka, t. j. obsah vitamínu A a karoténu prepočítaného na m. j., sa zvyšovala po začatí zeleného kŕmenia pomerne rovnomernejšie než obsah vitamínu A a karoténu zvlášť, ak nehľadíme na denné kolísanie, ktoré sa eliminovalo kľzavým priemerom z troch susedných hodnôt (diagr. 4). Aby bolo možné zistiť, kedy odráža obsah vitamínu A a karoténov v mlieku kolísanie v prívode β -karoténu, vyniesli sme spolu na jeden graf (diagr. 5) všetky uvedené hodnoty. Na základe porovnania priebehu kriviek s množstvom privedeného β -karoténu sa ukazuje, že kolísanie v množstve β -karoténu v krmive sa prejavilo na obsahu karoténov v mlieku už na druhý deň, kedy na obsah vitamínu A o 5 dní neskôr.

Aj dĺžka laktácie v období hypovitaminózneho výživy mala určitý vplyv na množstvo vylúčeného celkového vitamínu A (t. j. axeroftólu a karoténu prepočítaného na m. j.). Na trojrozmernom grafe (diagr. 6) sú usporiadané krivky pre jed-

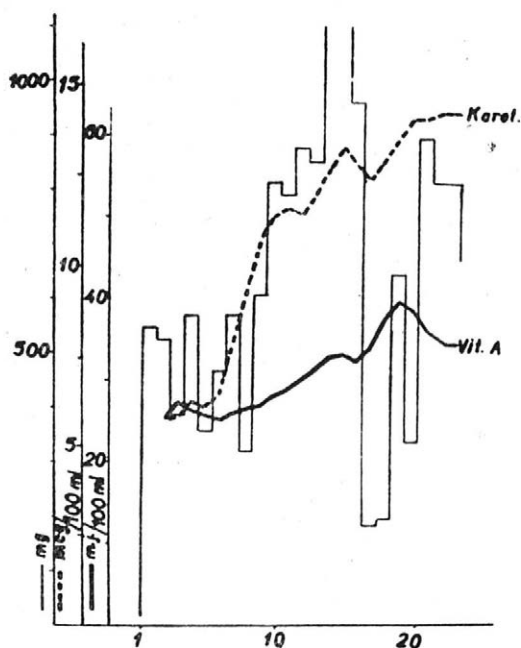


Diagr. 3. Priemerný, minimálny a maximálny obsah karoténu v mlieku v jednotlivých dňoch zeleného kŕmenia. ----- kľzavé priemery.

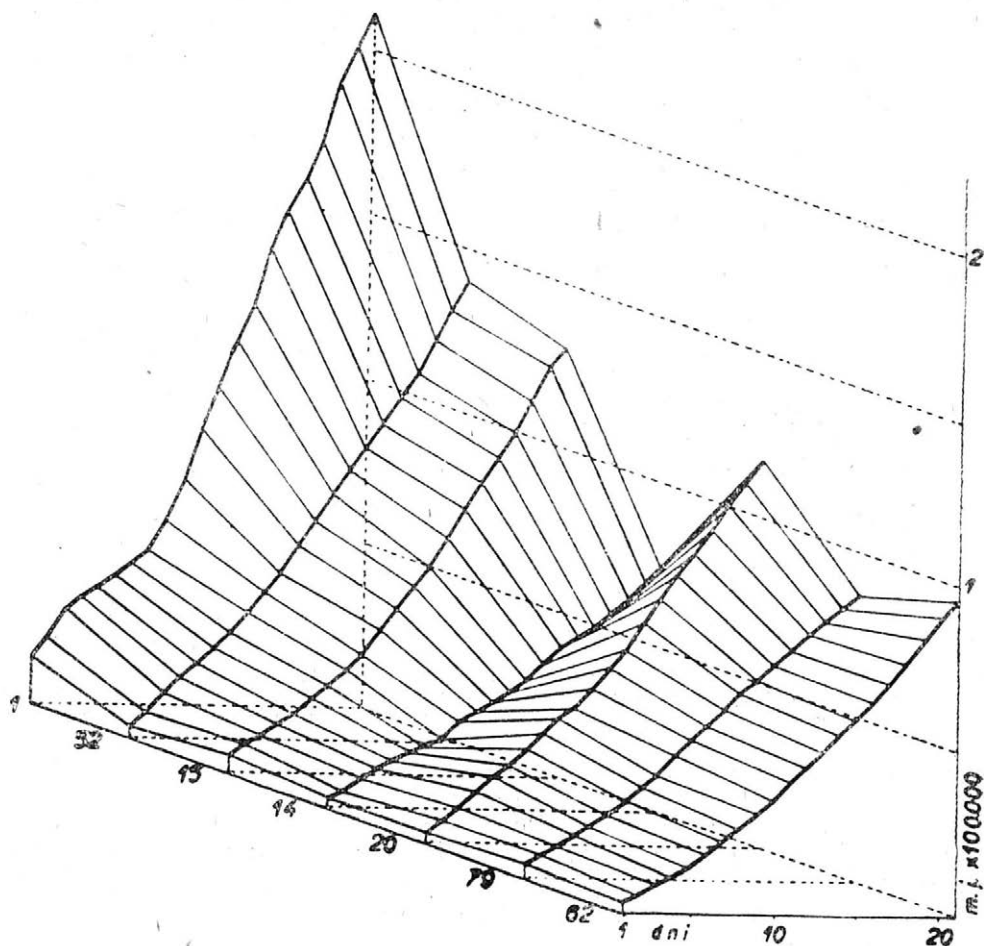


Diagr. 4. Priemerná, minimálna a maximálna celková A-vitaminová aktivita mlieka v jednotlivých dňoch zeleného kŕmenia. ----- kľzavé priemery.

notlivé kravy podľa dĺžky laktácie v hypovitaminóznom období (porovnaj tabuľku I). Na abscise sú vyznačené dni zeleného kŕmenia a na ordináte množstvo celkového vitamínu A (axeroaftól a karotén v m. j.) vylúčeného do mlieka od začiatku zeleného kŕmenia. Z grafu vyplýva, že kravy, ktoré najdlhšie dojili v období hypovitaminóznej výživy vylučovali menej vitamínu A a karoténu do mlieka než kravy, ktoré sa otelili ko koncu zimného kŕmenia. Iba krava č. 14 vylúčila pomerne málo vitamínu A i provitamínu do mlieka. Táto krava mala na vitamín A najbohatšie mliečko (8). Hodnoty u kravy č. 1 sú vysoké, lebo sa otelila v deň začatia zeleného kŕmenia. Napriek tomu, že sa prvý týždeň u nej jednalo o mliečko, vylúčila najviac celkového vitamínu A do mlieka.



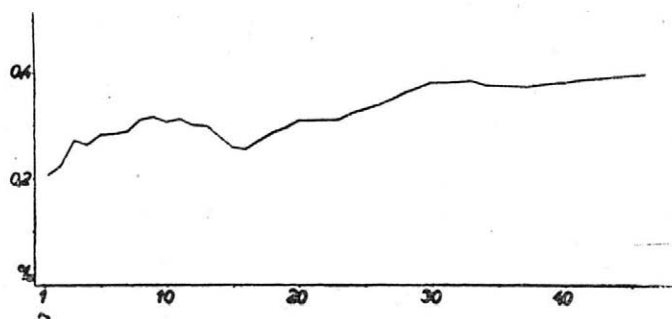
Diagr. 5. Množstvo β -karoténu v krmive, priemerný obsah vitamínu A a karoténu v mlieku v jednotlivých dňoch zeleného kŕmenia.



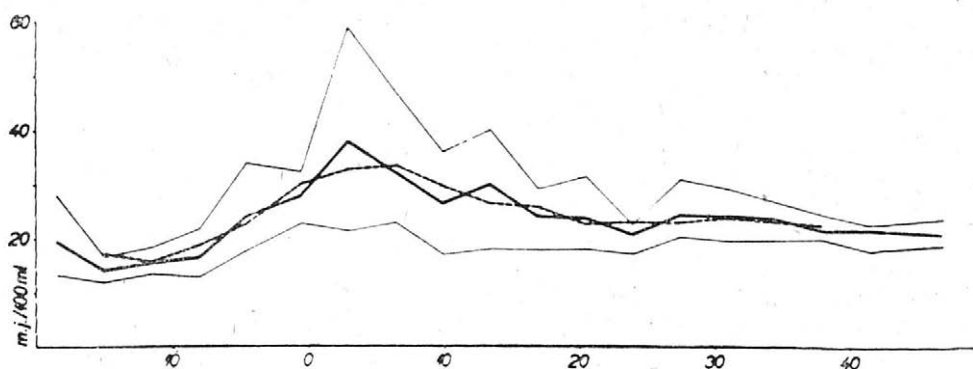
Diagr. 6. Celkové množstvo vitamínu A a karoténu vylúčeného mliekom od začiatku zeleného kŕmenia u jednotlivých kráv.

Z celkového množstva β -karoténu privedeného zeleným krmivom sa vylúčilo mliekom v prvý deň vo forme axeroftólu a karoténov 0,21 % a po tridsiatich dňoch 0,38 % (diagr. 7.).

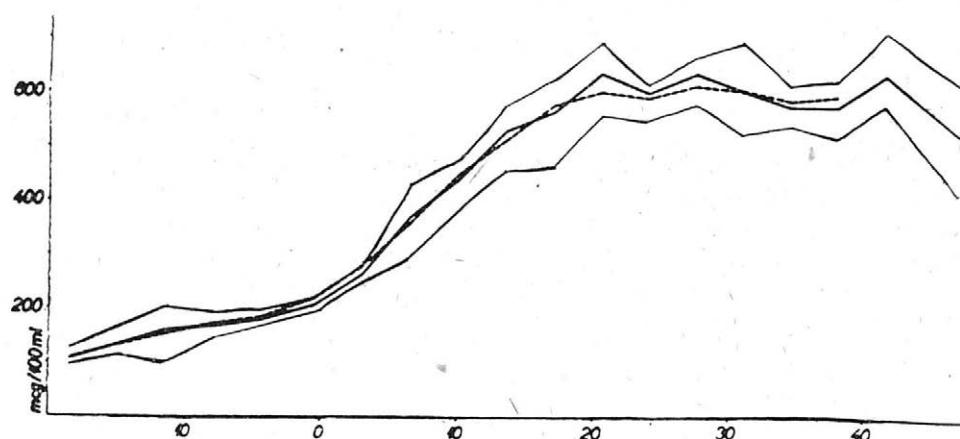
Z celkovej A vitamínovej aktivity mlieka participoval axeroftól v období zimného kŕmenia podielom okolo 70 %. Toto percento sa v priebehu zeleného kŕmenia znížilo na 60 % čo nasvedčuje tomu, že pri zvýšenom prívode β -karoténu sa vylúčilo do mlieka pomerne viac karoténov než vitamínu A.



Diagr. 7. % vylúčeného množstva vitamínu A a karoténu mliekom z prijatého β -karoténu od začiatku zeleného kŕmenia.



Diagr. 8. Priemerný, minimálny a maximálny obsah vitamínu A v séru pokusných kráv v jednotlivých dňoch pred a v období zeleného kŕmenia. ---- kľzavý priemer.



Diagr. 9. Priemerný, minimálny a maximálny obsah karoténu v séru pokusných kráv v jednotlivých dňoch pred a v období zeleného kŕmenia. ---- kľzavý priemer.

Hladina vitamínu A v séru začala 10 dní pred koncom zimného kŕmenia mierne stúpať a dosiahla vrcholu na tretí deň zeleného kŕmenia, kedy hodnoty pre-
vyšovali 2–3 násobne hladinu z obdobia hypovitaminózneho výživy (diagr. 8).
V ďalších dňoch nastal pozvoľný pokles s nasledovným ustálením hodnôt.

Hladina karoténov v séru mala už ku koncu zimného kŕmenia mierne stú-
pajúcu tendenciu a po začatí zeleného kŕmenia stúpala rapídne skoro ve forme
ideálnej biologickej S krivky (diagr. 9). Z celkovej vitamínovej aktivity séra parti-
cipoval axeroftól pred zeleným kŕmením podielom okolo 10 % a po zelenom
kŕmení už iba okolo 2 %.

Diskusia

Obsah vitamínu A a karoténov v mlieku a v krvi nestúpajú po prechode
z hypovitaminózneho výživy na zelené kŕmenie rovnako, ale ukázali sa medzi nimi
rozdiely. Obsah vitamínu A v mlieku stúpol hneď po zvýšenom prívode β -karo-

ténu krmivom a dosiahol prvý vrchol už na tretí deň. Po tomto vrchole nastalo zníženie a ďalšie stúpanie nastalo až po 10. dni zeleného kŕmenia. Najvyššie hodnoty boli v 19. deň. O podobných nálezoch referuje aj Sréter (15), i keď jeho výsledky nemožno celkom porovnávať, keďže hodnoty nestanovoval denne. Obsah vitamínu A v mlieku teda nestúpал rovnomerne, ale stupňovite. Táto stupňovitost sa markantnejšie prejavila pri prepočte na mliečny tuk. Obsah karoténov v mlieku začal rapidne stúpať neskôršie až v šiesty deň. Po šiestom dni stúpanie bolo rapidne, takže za päť dní sa hodnoty zdvojnásobili. Po jedenástom dni zeleného kŕmenia obsah karoténov v mlieku sa zvyšoval len pomaly za dosť značného kolísania. Pri zrovnaní kriviek obsahu vitamínu A a karoténov v mlieku ukázalo sa, že v prvých dňoch zeleného kŕmenia, kedy obsah vitamínu A stúpал strmo, obsah karoténov sa zvyšoval len pomaly. Potom zas, keď stúpanie obsahu karoténov bolo prudké, krivka obsahu vitamínu A zaznamenala akési plató. Zdá sa, že stúpanie obsahu vitamínu A a karoténov v mlieku prebiehalo stupňovite, pričom bola nepriama závislosť medzi ich rýchlosťami. Obdobný stupňovitý priebeh pozoroval aj Sréter (15) a vysvetľuje tento jav vplyvom akéhosi „mechanizmu súťažnosti“ (Kompensationsmechanismus) medzi vitamínom A a karoténom pri rezorpcii v črevnom systéme a vo vylučovaní do mlieka. Takýto mechanizmus v rezorpcii by musel mať nutne za následok stupňovité zvyšovanie hodnôt aj v krvi. Nezdá sa, že je tomu tak, i keď po zvýšenom prívode β -karoténu krmivom nastal pokles hladiny vitamínu A v krvi. To možno skôr vysvetliť prednostným vychytávaním vitamínu A krvi vyprázdnenými zásobárňami. Obdobné zníženie hladiny vitamínu A v séru pozoroval aj Sréter (15) a spomína ho aj Tängl (16). Hladina karoténov v sére stúpala rovnomerne podľa skoro ideálnej S krivky, ktorej stredný úsek možno pokladať za lineárny. Lineárnosť stúpania hladiny karoténov v krvi potvrdzuje aj Sréter (15). Nesúhlasné stupňovité zvyšovanie obsahu vitamínu A a karoténov a vyrovnanie tejto stupňovitosti po prepočte na celkový vitamín A, t. j. axeroftól a karotén vyjadrený v m. j., by naznačoval na možnosť spoločného pôvodu. Týmto spoločným zdrojom by mohol byť karotén séra. V tomto prípade by musela prebiehať konverzia karoténu na vitamín A v tkanive vemea. Sréter (15) túto možnosť nevyklúčuje. Brüggenmann a Niesar (4) našli experimentálne *in vitro* karotenázovú aktivitu tkaniva vemea. Pre tento predpoklad hovorí aj vysoká koncentrácia karoténov v krvi, ktorá dosiahla v maximum po prepočte na m. j. až dvadsaťpäťnásobné vyššie hodnoty než je koncentrácia vitamínu A v mlieku. Obsah vitamínu A v séru len málo prevyšoval hodnoty v mlieku a v ďalšom štádiu zeleného kŕmenia bol aj nižší. Je pravda, že zníženie hladiny vitamínu A v séru v období zeleného kŕmenia by bolo možno vysvetliť aj vychytávaním vitamínu A mliečnou žľazou, ale otázka ostatných úkazov, najmä nesúhlasného stúpania obsahu vitamínu A a karoténov v mlieku pri lineárnom stúpaní hladiny karoténov v séru by ostala otvorená. Stupňovité stúpanie obsahu vitamínu A a karoténov v mlieku by mohlo mať príčinu v „mechanizme súťažnosti“ pri konverzii provitamínov A na vitamín v tkanive vemea.

Pri porovnaní pochodov v období po otelení (8) a v období prechodu z hypovitaminózneho výživy na zelené kŕmenie možno dojsť k predpokladu, že v období zvýšeného prívodu β -karoténu sa prejavuje karotenázová aktivita tkaniva vemea, t. j. vitamín A mlieka pochádza hlavne z karoténu krvi, kdežto v období zvýšenej požiadavky organizmu na vitamín A napr. v kolostrálnom období, mliečna žľaza je prednostne dotovaná z depôtneho vitamínu A cez krv. Tomu by nasvedčoval okrem veľmi vysokého výdaju vitamínu A mledzivom, aj pokles hladiny vitamínu A v krvi a pomerná stálosť obsahu karoténov v krvi pred a po otelení.

U 7 kráv bol sledovaný v období asi 67 dní hypovitaminózneho kŕmenia režim vitamínu A a karoténu, ako aj celkovej A vitamínovej aktivity (t. j. obsah vitamínu A a karoténu prepočítaného na m. j.) so zameraním na ich hladinu v krvi a mlieku, a to pri dennom odchove a spracovaní vzorkov mlieka a odbere jugulárnej venózneho krvi dvakrát za týždeň. Týždeň pred a asi 3 týždne po začiatku zeleného kŕmenia sa stanovoval denne tiež prívod karoténu v krmive.

Zatiaľ čo denný prívod karoténu na dojnicu bol v období suchého kŕmenia len asi 13–18 mg, dodávalo zelené kŕmenia dojniciam denne okolo 500 mg β -karoténu, samozrejme s určitými dennými výkyvmi. Z celkovej vitamínovej aktivity séra participoval axeroftól pred zeleným kŕmením okolo 10 % a po zelenom kŕmení už len 2 %, zatiaľ čo hladina karoténov v séru po začatí zeleného kŕmenia rapidne stúpala takmer vo forme ideálnej biologickej S krivky. Hladina vitamínu A v séru začala sa mierne zvyšovať už 10 dní pred koncom zimného kŕmenia a dosiahla vrcholu na 3. deň zeleného kŕmenia (2–3 násobok), aby zas potom poklesla.

Hladina vitamínu A v mlieku dosahovala pred zeleným kŕmením hodnoty len okolo 20 m. j./100 ml. Hneď prvý deň zeleného kŕmenia náhle stúpala a s ďalším prechodným poklesom (3. deň) dosiahla asi v 19. dňoch zeleného kŕmenia maxima, t. j. asi $2\frac{1}{2}$ násobku hodnoty z obdobia hypovitaminózneho kŕmenia.

Hladina karoténu v mlieku sa zvyšovala prvých 6. dní zeleného kŕmenia len pomaly a až potom začal silný vzostup prerušovaný asi 11. deň a vrcholu dosiahla taktiež 20. deň zeleného kŕmenia, s priemerným obsahom 14,9 μ g/100 ml oproti 4–5 μ g/100 ml v období suchého kŕmenia, t. j. asi 3-násobok.

Celková A-vitamínová aktivita mlieka sa zvyšovala rovnomernejšie v období zeleného kŕmenia, ako obsah vitamínu A a karoténu zvlášť. Kolísanie v množstve β -karoténu v krmive sa prejavilo na obsahu karoténov v mlieku už druhý deň, zatiaľ čo na obsah vitamínu A v mlieku približne o 5 dní neskôr.

Dĺžka laktácie v období hypovitaminóznej zimnej výživy sa tiež prejavila na celkovú A-vitamínovú aktivitu (axeroftól + karotén prepočítaný na m. j.) v mlieku. Kravy, ktoré najdlhšie dojili v období hypovitaminóznej výživy, vylučovali pri zelenom kŕmení menej vitamínu A a karoténu do mlieka, než kravy, ktoré sa otelili napr. ku koncu zimného kŕmenia.

Z celkového prívodu β -karoténu v zelenom krmive sa vylúčilo v mlieku (vo forme axeroftólu i karoténu) prvý deň zeleného kŕmenia len asi 0,21 %, do tridsiatého dňa zeleného kŕmenia 0,38 %.

Celkove možno konštatovať, že stúpanie obsahu vitamínu A a karoténov v mlieku po začiatku zeleného kŕmenia prebiehalo stupňovite, pričom bola nepriama závislosť medzi ich rýchlosťami. Nakoľko takéto stupňovité zvyšovanie hodnôt v krvi nebolo zistené, je dosť ťažko tento úkaz vysvetľovať vplyvom „mechanizmu súťažnosti“ medzi vitamínom A a karoténom pri rezorpcii v črevnom systéme a vo vylučovaní do mlieka, ako to vysvetľuje napr. S r é t e r (15). Skôr možno predpokladať, že vitamín A a karotén mlieka majú spoločný zdroj, a to karotén krvi, ktorý sa mení čiastočne na vitamín A, v tkanive vemena. Toto vysvetlenie je podložené aj nálezom karotenázovej aktivity tkaniva vemena pokusom *in vitro* vykonaným B r ü g g e m a n o m a N i e s a r o m (4).

Zvýšený prívod β -karoténu v období prechodu na zelené kŕmenivo znamená pravdepodobne i zvýšenú aktivitu tkaniva vemena pri prevode krvného karoténu

v axeroftól mlieka, to znamená, že vitamín A vylučovaný v tomto období mliekom pochádza najmä z karoténov krvi, zaiaľ čo napr. po pôrode, mliečna žľaza dotovaná zdá sa hotovým vitamínom A priamo z depôtnych rezerv dojnice cestou krvného obehu.

Z hľadiska praktického možno naše poznatky v podstate zhrnúť v uzáver, že pri prechode zo zimného hypovitaminózneho kŕmenia na zelené kŕmenie sa obsah vitamínu A i karoténu v mlieku zvyšuje stupňovite a dosahuje vrcholu (asi $2\frac{1}{2}$ až 3 násobok množstva pred zeleným kŕmením) približne 19. až 20. deň zeleného kŕmenia. Z celkového prívodu β -karoténu krmivom sa však v A-vitamínovej aktivite mlieka uplatní len asi 0,2–0,4%, z čoho možno predpokladať, že súčasne a pritom asi prednostne sa dopĺňujú v hypovitaminóznom období vyprázdnené depôtne rezervy vitamínu A vo veľkých parenchýmoch, najmä v pečeni. Pritom je zaujímavý poznatok, že na dynamiku vylučovania axeroftólu i karoténu mliekom začiatkom zeleného kŕmenia vplýva do značnej miery predchádzajúca dĺžka laktácie v hypovitaminóznom období výživy, čo by ovšem naznačovalo potrebu regulovať jesenné pripúšťanie kráv so zameraním na prevážne telenie koncom zimy.



Ďakujeme O. Sladkej, prom. farm., V. Špringerovi, prom. farm., A. Kohútovi a M. Moravčíkovi za technickú spoluprácu.

Literatúra

1. Baszynski T.: Acta physiol. pol. 4, č. 4, 1953. — 2. Baumann C. A., Steenbock H., Beeson W. M., Rupel I. W.: J. Biol. Chem. 105, 167, 1934. — 3. Brence L. J., Nelson J. A.: J. Dairy Sci 34, 960-965, 1951. — 4. Brüggemann J., Niesar K. H.: Milchwissenschaft 10, 223-225, 1955. — 5. Byers J. H., Weswing P. H., Bone J. F., Jones I. R.: Dairy Sci. 38, 657-663, 1955. — 6. Davidov P. B., Gulko L. E., Jermakova M. A.: Osnovnyje vitaminy v moloche i moločnych produktach, Moskva 1956. — 7. Gažo M., Landau L.: Veterinársky časopis V., 267-282, 1956. — 8. Gažo M., Landau L.: Veterinársky časopis VII., 253, 1958. — 9. Haubold H., Kolb E.: Milchwissenschaft 10, 375-382, 1955. — 10. Hořejší-Slavík: Základy chemického vyšetřování v lékařství, Praha 1953. — 11. Jednotné analytické metody č. 7, Mléko a tekuté mléčné přípravky, Praha 1955. — 12. Jednotné analytické metody č. 13, Stanovení karoténů (provitaminů A) a axeroftólu (vitamínu A) v potravinovém materiálu, Praha 1957. — 13. Jones I. R., Weswing P. H., Bone J. F., Magill B. F.: Dairy Sci, 38, 623, 1955. — 14. Kon S. K.: Nutrit. Aliment. 5, 211, 1951. — 15. Sréter F.: Acta vet. As. Sc. Hung. 3, 379-400, 1953. — 16. Tangl H.: A vitamínok, hormonok és antibiotikumok szerepe az állattenyésztésben, Budapest 1956. — 17. Wagner K. H.: Milchwissenschaft 7, 250-253, 1952.

Режим витамина А и каротина у коров в период перехода от гиповитаминозного зимнего кормления к весеннему зеленому кормлению

У 7 индивидуально наблюдаемых коров изучался режим витамина А и каротина в период перехода от зимнего гиповитаминозного питания на зеленый корм. Неделю перед и три недели спустя от начала зеленого кормления устанавливалось

ежедневное содержание витамина А и каротина в молоке и количество β -каротина в корме. В то же время два раза в неделю определялся уровень витамина А и каротина в сыворотке. Коровы получали перед зеленым кормом около 13—18 мг. β -каротина в день и из зеленого корма — около 500 мг. Непосредственно после начала зеленого кормления содержание витамина А в молоке поднялось. Содержание каротина в молоке повышалось сперва медленно, а с шестого дня зеленого кормления резко. Между подъемом содержания витамина А и каротина в молоке была определенная несогласованность, которая частично выравнивалась при пересчете на общую А витаминную активность, т. е. аксерофтол + каротин в и. е. Уровень витамина А в сыворотке от начала зеленого кормления снижался, а каротина резко и равномерно поднимался в форме биологической S кривой, достигая при этом в 6 раз большего количества, чем в период гиповитаминозного корма. Несоответствующее поднятие содержания витамина А и каротина в молоке, резко и почти прямо поднятие уровня каротина в сыворотке, и падение уровня витамина А после повышенной подачи β -каротина можно было бы объяснить при помощи какого-нибудь «механизма-соревнования» *Kompetitionsmechanismus* по Сретеру (15), а обращение кровяного каротина на витамин А молока, происходит, по всей вероятности, в ткани вымени. Каротинозная активность ткани вымени, которую обнаружили опытами „in vitro“ Брюггоман и Нисар (4) по всей вероятности проявляется именно во время повышенной подачи β -каротина, когда заполняются витамином А преимущественно освободившееся депо. Во время повышенной потребности организма в витамине А, например во время отела, витамин А молоко подается из резервов через кровь.

Из общего количества усвоенного β -каротина из зеленого корма было выделено молоком в первый день 0,21 % и до 30 дня 0,38 % в форме аксерофтола и каротина. Изменения в подаче β -каротина в корме проявились в содержании каротина в молоке уже на другой день, а в содержании витамина А даже на пятый день. Продолжительность лактации во время гиповитаминозного питания имела влияние на количество общего витамина А (аксерофтол и каротин и. е.) выделенного молоком.

Vitamin A and Carotene Metabolism in Dairy Cows in the Period of Transition from the Winter Feeding low in Carotene to the green Feeding

Seven cows were under individual observation to study the metabolism of vitamin A and carotene in the period of transition from the winter feeding low in carotene to the green feeding. One week before the beginning of the green feeding and three weeks after it, there was being daily determined the contents of vitamin A and carotene in milk and the amount of β -carotene in feed. Simultaneously was twice a week determined the level of vitamin A and carotene in serum. The cows received during the winter feeding daily cca 13—18 mg of β -carotene and with the green feed about 500 mg. Immediately after the beginning of the green feeding the vitamin A contents in the milk rose sharply. In the beginning the carotene contents in the milk increased only slowly and faster only from the sixth day of the green feeding. Between the increase of the vitamin A and carotene contents in the milk there was a certain disproportion which was partly equalized by calculation into the total vitamin A, namely axerophthol and carotene in I. U. After the beginning of the green feeding, the level of vitamin A in serum decreased and the carotene level sharply and equally increased in the form of biological S curve up to the six-fold of the values from the period of winter feeding. The unequal increase of the vitamin A and carotene contents in the milk, the sharp and nearly linear rise of the

carotene level in the serum could be explained by a mechanism of competition (Sréter 15), but in a conversion of blood carotene to vitamin A of the milk which probably takes place in the tissue of the udder. The conversion of carotene in the tissue of the udder, which was found by experiments in vitro of Brüggeman and Niesar (4) probably appears mainly in the period of increased intake of β -carotene, when the depleted stores are advantageously filled up with vitamin A. In the period of higher demand of the organisms for vitamin A, e. g. in the time of reproduction, vitamin A of the milk is released from the liver through the blood.

From the total amount of β -carotene intake by the green feed, it has been the first day 0,21 % secreted into the milk and till the thirtieth day 0,38 % in a form of axerophthol and carotene. The changes of the β -carotene intake were shown in the carotene contents in the milk already on the next day but on the contents of vitamin A only on the fifth. The length of duration of the carotene had an effect on the amount of total vitamin A (axerophthol and carotene in I. U.) secreted in to the milk.

Vyloučení ztrát karoténu při chromatografické izolaci na kysličníku hlinitém

Устранение потерь каротина при хроматографической изоляции
на окиси алюминия

Die Verlustvermeidung an Karotin bei der chromatografischen Isolation auf dem
Aluminiumoxyd

Ing. I. KLIMEŠ

ČSAZV — Výzkumný ústav krmivářský v Brně

Došlo dne 1. IX. 1957

Úvod

Při izolaci karoténu adsorbci na kysličníku hlinitém s následující elucí benzinem nastávají nereprodukovatelné ztráty tohoto provitaminu. Autor hodnotí tento způsob eluce a navrhuje užít k eluci směsi ether-benzin, která umožňuje kvantitativní vymytí karoténu ze sloupce.

Část všeobecná

Pro adsorpciometrické stanovení karoténu v rostlinách je nutno tento provitamin axeroftolu nejdříve izolovat ze složité směsi, kterou je extrakt rostlinného materiálu, ať již čerstvého nebo konzervovaného. V současné době se žádoucí separace dosahuje téměř výhradně chromatograficky. Z pestré řady používaných adsorbentů — kysličník hlinitý, kysličník hořečnatý, rozsvíková hlínka, uhličitán hořečnatý, fosforečnan vápenatý, hydroxyd vápenatý, kostní moučka, směsi různých adsorbentů, papír, vata aj. — se u nás téměř výhradně uplatnil kysličník hlinitý, o jehož volbě v neposlední řadě jistě spolurozhodovala i jeho snadná dostupnost v odpovídající kvalitě, a kterému v následující studii věnujeme svou pozornost.

Otázka selektivnosti jednotlivých adsorbentů a kvantitativní eluce adsorbovaného karoténu byla kriticky zkoumána v pracích mnoho autorů (1, 5–10, 12, 13, 16, 17, 18), z nichž uvedme jen některé nejdůležitější výsledky. Hexted zaznamenal při chromatografii na kysličníku hořečnatém ztráty karoténu od 5 do 42 %. Podobné výsledky získali Wilstädt a With (17), Svanhof a Dam (14) a van Eekelenová (7) při práci s kysličníkem hlinitým.

Gilliam a El Ridi (8, 9, 10) poukázali na nevhodnost použití chromatografické separace při malých množstvích karoténu, neboť ztráty jsou nepřímo úměrné množství separovaného karoténu. Zjistili, že při celkovém množství karoténu nad 150 mcg*) jsou ztráty maximálně 5–10 %, podstatně se však zvyšují při práci s menším množstvím, takže se pohybují od 20–50 % při 30–150 mcg karoténu a při množství menším než 30 mcg dovoluje metoda jen hrubý odhad obsahu. Vastagh (15) zjistil při chromatografii na kysličníku hlinitém 2–6,75 % ztráty karoténu. U nás Fragner a Blattná (3) udávají ztráty asi 15 %.

Někteří autoři (14) doporučují eliminovat dané chyby korekčním koeficientem, což je však při uvážení velké variability výsledků neuskutečnitelné, jak na to již bylo upozorněno (4). Eckelenová (4) proto navrhla adsorbovat průvodní pigmenty na kysličníku hlinitém z roztoku benzen-petroleter 2 : 3, kdy ke ztrátám karoténu nedochází. Tato metoda však neumožňuje separaci neolykopeny, dále pak preparace kysličníku hlinitého, nutná pro tuto metodu, je poměrně zdoluhavá, kromě toho extinkce eluátu je ovlivněna obsahem benzenu a konečně nelze přehlédnout i určitou jedovatost benzenových par obtížnou zejména při sériové práci. To jsou pravděpodobně důvody, proč se navržená metoda neujala.

I když přihlédneme ke skutečnosti, že pro zjednodušení postupu stanovujeme spolu s β -karoténem řadu jeho isomerů, které bez ohledu na jejich různou biologickou hodnotu vyčíslujeme jako β -karotén, přesto nemůžeme být spokojeni se současným stavem, kdy nereprodukovatelné ztráty při chromatografii vnášejí další faktor nepřesnosti a nejistoty podstatného významu. Jak bude dále ukázáno, shledali jsme při naší studii, že výsledky chromatografické izolace karoténu prováděné běžným způsobem (2 aj.), tj. elucí benzinem nebo jeho směsí s acetone, se mohou vzájemně podstatně lišit. Pokusili jsme se proto navrhnout způsob, který by v daleko větší míře zaručoval reprodukovatelnost výsledků.

Experimentální část a výsledky

Přístroje a chemikálie

Přístroj pro chromatografii. Chromatografii jsme prováděli v již dříve popsaném přístroji pro sériové chromatografické rozborů (11), který se nám pro tento účel velmi dobře osvědčil (obr. 1).

Kysličník hlinitý. Jako adsorbční látka byl užit kysličník hlinitý jednak vyráběný Chemickými závody v Kaznějově (dále označen K), u nás běžně užívaný, jednak kysličník hlinitý pro chromatografii, upravený podle Brockmanna (vyrábí Lachema) (dále označený B). Aktivace kysličníků žháním a následující částečná deaktivace přidávkou vody byla provedena podle běžných zvyklostí (2, 11). Z velkého množství provedených šetření uvádíme dále jen několik příkladů, v nichž byly použity preparáty těchto stupňů aktivity.

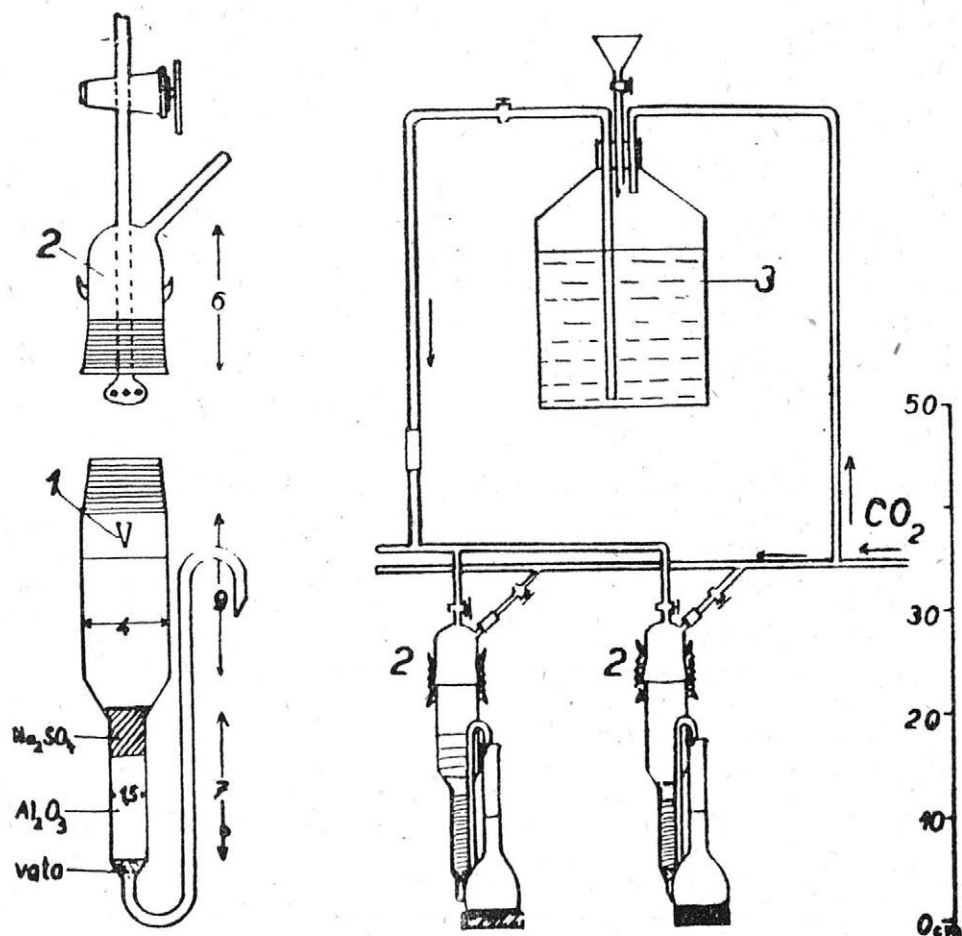
Aktivita podle Brockmanna

K ₁	III—IV	blíže k III
K ₂	III—IV	
K ₃	III—IV	
K ₄	III—IV	
K ₅	III—IV	blíže k IV
K ₆	IV—V	
K ₇	III—IV	
K ₈	III—IV	

Aktivita podle Brockmanna

K ₉	I—II
K ₁₀	I—II blíže k II
K ₁₁	II
K ₁₂	II—III
B ₁	II
B ₂	II

*) mcg = μ g



Vlevo detail, vpravo celkové zapojení. 1. Chromatografická trubice se zábrusem, nahoře rozšířená v zásobník pro chromatografický roztok a eluent. 2. Zvonkovitý nástavec s přívodem eluentu a plynu z bomby. 3. Zásobní láhev s eluentem.

Rozměry jsou uvedeny v cm.

β -karotén francouzské výroby, ve kterém byl spektrofotometricky zjištěn obsah β -karotenu $96 \pm 2 \%$ *, který bylo ovšem nutně přechistit. Srážení a krystalizace nevedla k cíli, proto jsme provedli přechistění karotenu chromatograficky na kysličníku hlinitém (aktivita podle Brockmanna asi II) z benzinového roztoku (b. v. $65-85^\circ \text{C}$) s následující elucí roztokem 1–2 % acetonu v benzinu, která se nám z praktických důvodů pro tento účel nejlépe osvědčila. Chromatografii bylo nutno nejméně dvakrát, často však i vícekrát opakovat, při čemž byly jímány vždy pouze asi první dvě třetiny procházejícího karotenu, zatím co zbytek nebyl pro další práci použit. Čištění je poměrně choulostivá operace, které je nutno věnovat patřičnou péči. Za dostatečně přechistěný karotén lze považovat takový preparát, který při následující chromatografii dále navrženým způsobem nezanechá

* Rozbor provedl laskavě F. Knobloch a E. Svátek z VUFB—Praha.

po eluci karoténu na sloupci žádný nebo jen téměř nezatelný úzký, citronově žlutý proužek. Shodně s jinými autory jsme zjistili, že značně nečistý, zejména nevhodným uskladněním porušený karotén nelze dokonale přecistit. Konečně poznamenáváme, že byla zjištěna velká variabilita ve stabilitě benzinových roztoků karoténu, z nichž některé jevíly znatelné známky rozkladu již po pěti hodinách, jiné však bez jakýchkoli markantních změn mohly být uskladněny v temnu po 24 hod. Toto naše zjištění, jež zaznamenáváme toliko z důvodů metodických, se shoduje s výsledky publikovaným v literatuře.

Další chemikálie — síran sodný bezvodý, ether prostý peroxidů a extrakční benzin (b. v. 65–85° C) — odpovídaly běžným požadavkům.

Extrakty čerstvých, sušených, silážovaných a zmražených rostlin byly připraveny již dříve popsáním způsobem (11). Kolorimetrické vyhodnocení bylo provedeno jednak na Pulfrichově fotometru, jednak na objektivním fotomeru typu Lange, jehož citlivost byla úpravou zvýšena.

Eluce karoténu benzinem

V dalším zaznamenáváme výsledky kontroly dosud běžně užívaného způsobu adsorbce rostlinných barviv z benzinového roztoku na kysličníku hlinitém s následující elucí karoténu benzinem.

Byla provedena chromatografická separace karoténu z následujících roztoků: 1. roztok čistého, chromatograficky jednotného β -karoténu, 2. extrakt zelených rostlin a 3. extrakt silážovaných rostlin. Zatím co v prvním případě jsme provedli kontrolu ztrát srovnáním hodnoty eluátu a původního roztoku, v případě druhém a třetím jsme užili pro srovnání výsledků získaných dále popsanou navrhovanou metodou, která nezpůsobuje ztráty karoténu a odpovídá i daným požadavkům, selektivnosti, jak bude dále podrobně ukázáno (tab. I.).

Tyto a celá řada dalších, zde neuvedených experimentů, u nichž byl úmyslně vyloučen vliv absolutního množství karoténu, potvrzují zjištění dříve uvedených autorů, že ztráty jsou nereprodukovatelné. Pouze u aktivity nižší než IV, kdy karotén postupuje sloupcem bez vytvoření jakéhokoli pásu, nedochází ke ztrátám. Ovšem tato aktivita nezaručuje, jak patrné z výsledků získaných s extraktem čerstvých zelených rostlin a siláže, dokonalou separaci biologicky neaktivních barviv. Zvláště je pozoruhodné, že dva kysličníky (K_2 a K_3) s toutéž aktivitou dávají zcela rozličné výsledky, lišící se vzájemně o 7,2–12,0 %.

I.

Al_2O_3	Čistý karotén			Čerstvé zel. rostl.		Siláž	
	dáno mcg karoténu	získáno mcg karoténu	Δ v %	stanoveno mcg karoténu	Δ v %*)	stanoveno mcg karoténu	Δ v %**)
K_1	150,0	137,7	– 8,2	142,7	– 4,2	136,7	– 10,1
K_2	150,0	129,0	– 14,0	132,8	– 10,8	141,5	– 7,8
K_3	150,0	139,8	– 6,8	150,7	+ 1,2	152,0	– 0,1
K_4	150,0	136,1	– 9,3	141,8	– 4,8	145,6	– 4,3
K_5	150,0	146,3	– 2,5	148,9	0,0	155,3	+ 2,1
K_6	150,0	150,2	+ 0,1	152,3	+ 2,3	162,7	+ 7,0

*) Výsledek (148,9 mcg karoténu) souběžného stanovení navrhovanou metodou (eluce roztokem eter-benzin) vzat pro srovnání jako 100 %.

**) Eluce roztokem eter-benzin = 152,1 mcg karoténu = 100 %.

Při naší práci jsme se setkali s častým zajímavým úkazem, který nelze vysvětlit pouhým vlivem absolutního množství karoténu. Ztráty zjištěné při chromatografii extraktu z rostlin a čistého karoténu neodpovídaly ztrátám zjištěným při chromatografii směsi obou roztoků (tab. II.).

Závěrem poznamenáváme, že ztráty při chromatografii roztoku čistého karoténu se podle našeho zjištění většinou pohybují asi od 4–15 %, řidčeji mohou být na jedné straně prakticky zanedbatelné, na druhé pak dosáhnout až 20 %.

II.

Al_2O_3	Extrakt		Karotén			Extrakt + karotén				
	naleze- no mcg karot.	Δ v %)	dáno mcg karot.	získá- no mcg karot.	Δ v %	teoret. výsle- dek	součet sloup. 1+2 3	stano- veno	Δ v mcg karot. ve srovnání s	
	1			2					sloup- cem 3	teoret. výsled.
K_7	63,5	–8,8	70,0	62,1	–11,3	139,3	125,6	140,1	+14,5	+0,9
K_8	66,0	–4,6	70,0	64,6	–7,7	139,2	130,6	134,6	+4,0	–4,6

*) Při eluci eter-benzin 1 : 3 zjištěno 69,2 mcg karoténu (= 100 %).

Při eluci karoténu 2% roztokem acetonu v benzínu z kysličníku hlinitého příslušně vyšší aktivity jsou ztráty obdobné. Současně jsme při těchto zkouškách zjistili, že velikost ztrát karoténu je do určité míry závislá na množství použitého adsorbentu. Zvýšením váhového množství adsorbentu o 100 % se ztráty zvýší 1–2krát proti ztrátám původním. Tato závislost není však přesně reprodukovatelná. Při eluci benzinem je zmíněný vztah méně výrazný a značně se liší u jednotlivých preparátů kysličníku hlinitého.

Eluce karoténu směsí eter-benzin 1:3

Četnými pokusy s různými eluenty jsme došli k závěru, že pro chromatografickou izolaci karoténu na kysličníku hlinitém velmi dobře vyhovuje eluent složení ether-benzin 1 : 3, který podle našich zjištění zaručuje dokonalé vymytí karoténu ze sloupce. Adsorbce se provádí z benzínového roztoku na kysličníku hlinitém aktivity asi II (podle Brockmanna) a následuje eluce uvedeným eluentem, při níž se eluují pouze karotény (α a β), případně některé jejich stereoizomery, obvykle stanovené jako β -karotén, zatímco ostatní průvodní barevné látky zůstávají na sloupci. Chromatografie byla prováděna již dříve popsáním způsobem (11).

Tento způsob jsme podrobili rozsáhlému studiu, ze kterého zde zaznamenáváme pouze krátký výťah. Především byla sledována možnost případného ovlivnění výsledků různými preparáty kysličníku hlinitého, různým stupněm aktivace od I–II do II–III (podle Brockmanna) a odstupňovaným množstvím použitého karoténu. Kontrolu jsme prováděli s roztokem čistého karoténu (tab. III.), dále s extraktem čerstvých zelených rostlin (tab. IV.) a konečně s extraktem siláže (tab. V.), který reprezentuje velmi složitou, a proto poměrně velmi obtížně analyzovatelnou směs chromatograficky velmi příbuzných barviv, vznikajících složitými rozkladnými procesy během silážování. Vzorky sušených a zmražených rostlin neskýtaly ve srovnání se siláží zvláštních obtíží a anomálií, proto upouštíme od publikování získa-

III. Čistý karotén

Al_2O_3	dáno mcg karoténu	250		100		30	
		získáno	Δ v %	získáno	Δ v %	získáno	Δ v %
K ₉		250,0	0	99,8	-0,2	30,2	+0,7
K ₁₀		249,1	-0,4	99,7	-0,3	30,1	+0,3
K ₁₁		250,4	+0,2	100,00	0	29,7	-1,0
K ₁₂		249,8	-0,1	100,2	+0,2	30,0	0
B ₁		249,5	-0,2	100,1	+0,1	29,8	-0,7
B ₂		250,3	+0,1	99,8	-0,2	29,9	-0,3
Průměr		249,8	-0,1	99,9	-0,1	30,05	-0,2

IV. Extrakt z čerstvých zelených rostlin

Al_2O_3	pipetováno ml roztoku	100		50		25	
		stanoveno	Δ v %*)	stanoveno	Δ v %**)	stanoveno	Δ v %**)
		mcg karot.		mcg karot.		mcg karot.	
K ₁₀		172,2	0	86,3	+0,2	43,1	+0,2
K ₁₁		173,0	+0,5	85,7	-0,5	42,7	-0,7
K ₁₂		171,7	-0,3	85,9	-0,2	42,6	-1,0
B ₁		172,9	+0,4	86,4	+0,3	42,9	-0,3
B ₂		117,3	-0,5	86,0	-0,1	42,7	-0,7
Průměr		172,2(1)	—	86,06	-0,06	42,8	-0,5

* Odchylka od průměru všech stanovení na jednotlivých kysličnících (172,2 mcg karoténu).

** Odchylka od hodnoty průměr (1) : 2 (86,1 mcg karot.) a průměr (1) : 4 (43,02 mcg karot.)

V. Extrakt ze siláže

Al_2O_3	pipetováno ml roztoku	100		50		25	
		stanoveno	Δ v %*)	stanoveno	Δ v %**)	stanoveno	Δ v %**)
K ₁₀		168,3	+0,1	83,4	-0,8	41,5	-1,2
K ₁₁		167,7	-0,2	84,3	+0,2	41,8	-0,5
B ₁		168,6	+0,3	83,7	-0,5	42,0	0
B ₂		167,9	-0,1	83,6	-0,6	42,2	+0,5
Průměr		168,1(1)	0,0	83,8	-0,4	41,9	-0,3

*) Odchylka od celkového průměru (168,1 mcg karoténu [1]).

** Odchylka od hodnoty průměr (1) : 2 (84,1 mcg karoténu) a průměr (1) : 4 (42,0 mcg karoténu).

ných výsledků. Hodnoty v tabulkách uvedené jsou průměry ze 4–6 souběžných stanovení, jejichž vzájemné difference byly zcela zanedbatelné a pohybovaly se v mezích daných přesností fotometrického vyhodnocení.

Výsledky můžeme stručně shrnout takto:

— Chromatografie navrženým způsobem není spojena se ztrátami karoténu.
— Výsledky získané izolací karoténu na „kysličníku hlinitém pro chromatografii“ (K) se shodují zcela přesně s výsledky získanými na „kysličníku hlinitém upraveném podle Brockmanna“ (B).

— Výsledky jsou reprodukovatelné a difference se pohybují v mezích náhodných chyb, kdy nikoli poslední úlohu hraje přesnost fotometrického vyhodnocení. Totéž platí o souběžných stanoveních.

— Kolísání stupně aktivity v mezích od I—II do II—III neovlivní výsledek při chromatografii čistého karoténu a extraktu čerstvých zelených rostlin, z čehož je patrné, že i kysličník hlinitý o vyšším stupni aktivity neadsorbují karotén irreversibilně. Eluce karoténu z kysličníku hlinitého o poměrně vysokém stupni aktivity I—II je však značně zdlouhavá, vyžaduje většího množství eluentu a nelze ji proto doporučit.

Při izolaci karoténu z extraktu siláže obsahujícího celou řadu barevných rozkladných produktů, chromatograficky velmi příbuzných karoténu, je nezbytné přesně dodržet požadovanou aktivitu II (případně nepatrně silnější). Při aktivitě nižší (II—II) byly získány poněkud vyšší výsledky (tab. V—K₁₂), což nasvědčuje nedokonalé izolaci ostatních pigmentů. Nízká aktivita adsorbentu se během analýsy projevuje příliš rychlým sestupováním biologicky neaktivních pigmentů sloupcem, takže nevhodnost aktivace je zřejmá již na první pohled.

— Celkové množství karoténu je bez vlivu, výsledky jsou tedy reprodukovatelné bez ohledu na množství karoténu ve vzorku, pohybující se v obvyklých mezích.

Také vzájemné porovnání výsledků získaných chromatografií čistého karoténu, extraktu a směsi obou dává výborný výsledek.

VI.

Al_2O_3	Extrakt stanoveno mcg karot.	Karotén (v mcg)		Extrakt + karotén (v mcg karot.)	
		dáno	stanoveno	kont. součet	stanoveno
K ₁₁	98,3	42,3	42,1	140,4	140,1
B ₁	98,1	42,3	43,3	140,4	139,9
Průměr	98,2		42,2		140,0

Dále bylo shledáno, že množství adsorbentu varíující v běžných mezích (výška sloupce 5—10 cm), neovlivní výsledek.

Konečně bylo zjištěno, že vakuové zahuštění extraktu před chromatografií není nutné, neboť zředění téhož množství karoténu (extraktu) na 5—150 ml neovlivnilo výsledek. Tím odpadá dosud běžně doporučovaná zdlouhavá a dosti choulostivá operace, spojená s nebezpečím destrukce karoténu.

Pro praktickou práci je nutno připomenout, že při chromatografii musíme postupovat rychle, eluce musí následovat bezprostředně po adsorbci a v procesu nesmí být zbytečné přestávky. Při podstatném prodloužení doby, po kterou je karotén

na sloupci, nad mez obvykle nutnou, by za určitých podmínek mohlo dojít k jeho částečnému porušení. Správná rychlost průtoku adsorbovaného roztoku a eluátu je asi 2 kapky za sec.

Při sledování účinnosti navrženého způsobu chromatografického dělení rostlinných barviv jsme pro nedostatek čistých substrátů a vhodného přístroje byli nuceni užít těchto kritérií: Visuální sledování rozdělení barviv na sloupce, porovnání výsledků získaných navrženou metodou a podle Eekelenové (4) a konečně sledování čistoty eluátu opakovanou chromatografií za různých podmínek. Naše pozornost se soustředila zejména na separaci karoténu z extraktu ze siláží jako na nejkomplicovanější případ.

Při adsorbci látek ze zkoumaného roztoku na kysličníku hlinitém aktivity asi II se veškeré pigmenty zachytí jako úzký (1–2 mm) proužek při povrchu sloupce. Při eluci směsí ether-benzin 1 : 3 se barviva zvolna rozdělují. Karotén sestupuje poměrně rychle jako široký rozmytý pás a za ním, oddělený vrstvou bezbarvého sloupce, zvolna sestupují další více nebo méně ostře ohraničené žluté až hnědě zbarvené proužky (2–5 podle druhu siláže). Oddělení těchto barviv od karoténu je při užití dostatečně vysokého sloupce velmi snadné.

Při paralelních analysách vzorků metodou navrhovanou a metodou podle Eekelenové se výsledky nelišily více než v přípustných mezích náhodných chyb a jen výjimečně byly rozdíly obou stanovení větší než $\pm 1,5\%$.

Při další kontrole byly eluáty získané navrhovanou metodou po příslušné úpravě znovu chromatografovány jednak metodou podle Eekelenové, jednak běžnou metodou navrženou komisí JAM (eluce benzinem). V žádném případě po eluci karoténu nezůstaly na slupcích pruhy nečistot. Při užití metody podle Eekelenové pro opakovanou chromatografií eluátu, získaného navrženým způsobem, prošel karotén kvantitativně, což spolunasvědčuje jeho čistotě. V druhém případě ovšem provedení této kontroly nebylo možné. (Tab. VII.)

VII.

Způsob chromatografie	navrženou metodou		Podle van Eekelenové		Podle komise JAM	
stanoveno mcg karoténu	168,2		169,3		159,8	
eluát znovu chromatografován metodou	van Eekelenové	JAM	navržená	JAM	van Eekelenové	navržená
stanoveno mcg karoténu	168,0	—	168,4	—	158,3	157,9
vzhled sloupce po eluci	čistý		čistý		čistý nebo sotva patrné barevné proužky	

Navrženého způsobu lze použít i k oddělení lykopenu a ostatních barviv biologicky neúčinných při analýse např. rajsých jablíček. Kontrola byla provedena novou chromatografií eluátu na hydroxydu vápenatém (4) a naopak a bylo shledáno, že separace je při navrženém způsobu dokonalá.

Na základě nahore uvedených kritérií považujeme u navrženého způsobu kvalitativní stránku oddělení karoténu od ostatních v rostlinách obsažených pigmentů za plně odpovídající daným požadavkům.

Úprava a kontrola aktivity kysličníku hlinitého

O postupu aktivace a následující částečné deaktivace vodou jsme se již zmínili, je však nutno doplnit postup jejího přezkoušení. Lze je provést dvěma způsoby, a to buď podle Brockmanna nebo podle dále navrženého postupu, který se nám velmi dobře osvědčil, neboť umožňuje citlivější úpravu aktivity.

Připravíme benzivový extrakt z rajsých jablíček nebo protlaku (11) a množství odpovídající asi 40–80 *mcg* karoténu se chromatografuje na 5 *cm* vysokém sloupci zkoušeného kysličníku hlinitého ($\varnothing$ sloupce 1,5 *cm*). Barviva se adsorbují při povrchu sloupce jako úzký intenzivně zabarvený proužek. Při leuci prováděné roztokem ether-benzin 1:3 musí karotén rychle projít sloupcem, takže je 25–40 *ml* eluentu vymyt (okem patrně zbytky), zatím co lykopen a barvivo nacházející se na sloupci pod lykopenem (neolykopen?) sestupují jen zvolna a lze je snadno oddělit od karoténu. Sestupuje-li lykopen a neolykopen rychle a neoddělují se od karoténu, je aktivita kysličníku nízká. Sestupuje-li však karotén velmi zvolna a nelze jej uvedeným množstvím eluentu vymýt, je aktivita kysličníku příliš vysoká.

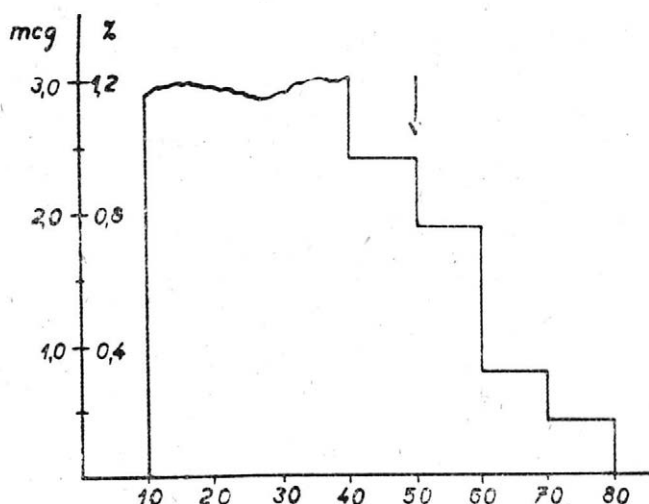
Výška sloupce adsorbentu

Při rozbořech čerstvých zelených rostlin obvykle stačí 5 *cm* vysoký sloupec adsorbentu. Při velkém nadbytku chlorofylu volíme sloupec vyšší zasahující až do rozšířené části trubice. Tímto rozšířením horní části sloupce adsorbentu dosáhneme výborného oddělení karoténu od ostatních látek, mnohem lepšího než pouhým zvýšením sloupce a chlorofyl i při velkém nadbytku se adsorbuje jako velmi úzký proužek při povrchu sloupce. Z toho důvodu také při analýze sušením a zejména silážováním konservovaných rostlin a materiálu s nadbytkem lykopenu dáme přednost vyššímu sloupci. U materiálu s lykopenem kromě toho volíme navážku tak, aby její obsah karoténu nepřesahoval 150 *mcg*, zatímco v jiných případech považujeme za nejvhodnější rozmezí asi od 50–250 *mcg* karoténu.

Eluce

K eluci použijeme asi o 30 *ml* většího množství eluentu (ether-benzin 1:3), než je nezbytně nutné k vymytí posledních viditelných zbytků karoténu. Celkové množství použitého eluentu je tedy u slupců 5 *cm* vysokých asi 60–70 *ml*. Při eluci karoténu z vyšších slupců je ovšem potřebné množství eluentu příslušně větší. U sériových analys téhož typu materiálu doporučujeme z praktických důvodů používat jednotné výšky sloupce a stejného množství eluentu.

Zatím co eluce karoténu při rozboru čerstvých zelených rostlin probíhá zcela automaticky bez nebezpečí průchodu biologicky neaktivních látek, vyžaduje rozbor konzervovaného, zejména silážovaného materiálu občasnou kontrolu. Karotén musí být vymyt dříve než další barviva sestoupí asi do poloviny sloupce. Nelze-li toho dosáhnout, je to známkou buď nízké aktivity adsorbentu nebo nedostatečné výšky sloupce.



Na sloupci kysličníku hlinitého ($\varnothing$ 1,5 cm, $v = 8$ cm) byl chromatografován extrakt siláže s celkovým obsahem karoténu 250 mcg. Poslední viditelné stopy karoténu prošly po promytí 50 ml eluentu.

Osa x: Obsah karoténu v mcg 10 ml eluátu; % z celkového množství karoténu (250 mcg).

Osa y: ml eluátu.

Při rozboru siláží pak zvláště dbáme na správný poměr etheru a benzínu v eluentu.

Závěrem poznamenáváme, že splšky po předestilování a stanovení obsahu etheru (nejpohodlněji refraktometricky s přesností $\pm 0,5 - 1 \%$) znovu použijeme pro přípravu eluentu.

Diskuse

Vzájemným porovnáním navrženého způsobu chromatografické separace karoténu s metodou navrženou Eekelenovou, komisí JAM a chromatografií na $Ca(OH)_2$ bylo prokázáno, že navržený způsob plně zaručuje selektivní separaci β -karoténu spolu s některými jeho isometry od ostatních biologicky neaktivních pigmentů, jak to odpovídá daným požadavkům. Porovnáme-li navržený způsob eluce směsí ether-benzin s elucí benzinem, skýtá nová metoda určité výhody spočívající zejména

- v bezztrátové eluci karoténu ze sloupce, což lze považovat za hlavní přednost navržené metody,

- v neodvislosti výsledku na celkovém množství chromatografovaného karoténu i ředění roztoku,

- v nezávislosti výsledků na množství adsorbentu, což umožňuje volit výšku sloupce s ohledem na vlastnosti analysovaného materiálu,

- navržená metoda v některých případech předčí svou selektivností metodu navrženou Eekelenovou i způsob s elucí benzinem.

Při porovnání výsledků získaných separací karoténu na kysličnicích hlinitých, a to jednak na preparátu speciálně upraveném podle Brockmanna, jednak na preparátu označeném „kysl. hlinitý pro chromatografii“, nebyly mezi výsledky žádné kvantitativní rozdíly, poněvadž však rozdělení pigmentů na adsorbentu preparovaném podle Brockmanna je pravidelnější, dáváme tomuto adsorbentu přednost.

Souhrn

1. Byl přezkoušen způsob chromatografické izolace karoténu z rostlinných extraktů — rostliny čerstvé, sušené, silážované, zmrazené — a roztoku čistého karoténu adsorbci z benzinového roztoku na kysličníku hlinitém s následující elucí benzinem. Shodně s jinými autory bylo zjištěno, že při tomto způsobu nastávají ztráty karoténu, které se pohybují nejčastěji v rozmezí 4—15 %, řidčeji však mohou varírovat od 0—20 % a jsou nereprodukovatelné. Při nižší aktivitě adsorbentu ztráty nenastávají, avšak není zaručena dokonalá izolace karoténu od ostatních barviv.

2. Podobné výsledky byly získány při eluci 2% roztokem acetonu v benzinu, kde se taktéž projevila závislost ztrát karoténu na množství adsorbentu, a to mnohem výrazněji než při eluci benzinem.

3. Byl navržen způsob eluce, který umožňuje kvantitativní vymytí karoténu ze sloupce. Chromatografie se provádí obvyklým způsobem na kysličníku hlinitém pro chromatografii, aktivity asi II (podle Brockmanna). Veškeré pigmenty se adsorbují jako úzká zóna při povrchu sloupce. Karotén se pak eluuje roztokem ether-benzin 1 : 3, a to množstvím o 30 ml větším než je nezbytné pro vymytí okem patrných zbytků karoténu. Výška sloupce adsorbentu se volí podle analysovaného materiálu, u čerstvých rostlin stačí 5 cm vysoký sloupec, při velkém nadbytku chlorofylu nebo lykopenu a u vzorků konzervovaných rostlin, zejména silážovaných, se použije sloupce vyššího, zasahujícího až do rozšířené části trubice (obr. 1.). Tímto rozšířením horní části sloupce dosáhneme výborného oddělení karoténu od ostatních barviv, mnohem výhodněji než pouhým zvýšením sloupce.

4. Na základě podrobného prověření metody zejména s ohledem na varírující základní podmínky — množství chromatografovaného karoténu, ředění adsorbovaného roztoku, množství, úpravu a v určitých mezích se měnící aktivitu adsorbentu, a to vždy při zpracovávání jak čistého karoténu, tak i extraktů z čerstvých, zmrazených, sušených i silážovaných rostlin — bylo konstatováno, že ve všech případech je eluce adsorbovaného karoténu kvantitativní, oddělení biologicky neaktivních pigmentů dokonalé a výsledky jsou plně reprodukovatelné.

5. Bylo shledáno, že přezkoušení aktivity kysličníku hlinitého pro daný způsob lze citlivěji provést pomocí roztoku karoténu a lykopenu (extrakt z rajských jablíček) než metodou Brockmannovou.

6. Výsledky získané izolací karoténu na preparátech označených „kysličník hlinitý pro chromatografii“ a „kysličník hlinitý upravený podle Brockmanna“ jsou shodné, rozdělení barviv je však pravidelnější při užití preparátu upraveného podle Brockmanna.

Literatura

1. Bauernfeid J. C., Baumgarten W., Boruff C. S.: Science 100, 316 (1944). — 2. Blattná J., Fragner J., Pěknice J.: Průmysl potravin 5, 521 (1954). — 3. Blattná J., Fragner J., Pěknice J.: Závěrečná zpráva výzkumného úkolu, Praha, (1954). — 4. Van Eekelen M., Engel Chr., Bos A.: Rec. Trav. Chim. Pays bas, 61, 713 (1942). — 5. Euler H., Ulla G.: Akr. Kem. Mineral. Geol. Abt. B., 10, (14) 1 d. — 6. Fraps G. S., Kemmerer A. R., Greenberg

S. M.: J. Assoc. Off. Agric. Chemists 23, 422 (1940). — 7. Fujita A., Masataro Aoyama: Vitamins (Japan) 5, 346 (1952). — 8. Gillam A. E., Shafik A. E., El Ridi S. M.: Bioch. Journal 31, 1605 (1937). — 9. Gillam A. E., Al Ridi S. M.: Bioch. Journal 30, 1735 (1936). — 10. Gillam A. E., El Ridi M. S.: Nature, London 136, 914 (1935). — 11. Klimeš I.: Věd. práce VÚ krmivářského ČSAZV v Brně, č. 2. (1957). — 12. Savinov B. B.: Trudy Vsesojuz. Sov. chromat., Akad. Nauk SSSR, Otděl. Chim. Nauk, 200 (1950). — 13. Strain H. H.: J. Biol. Chemistry 104, 437 (1934). — 14. Svanhoff F., Dam H.: Vitaminorsch. 11, 361 (1941). — 15. Vastagh G.: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. 86, 393 (1943). — 16. Wilkes J. B.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 18, 7002 (1946). — 17. Willstädt H., With T. K.: Z. physiol. Chem. 253 (1938). — 18. Zechmeister L., Tuzson P.: Biochem. 32, 1305 (1938).

Устранение потерь каротина при хроматографической изоляции на окиси алюминия

1. Проводилось повторное исследование способа хроматографической изоляции каротина из растительных экстрактов — растения свежие, сушеные, силосованные, замороженные — и раствора чистого каротина адсорбцией из раствора бензина на колонке окиси алюминия с последующей элюцией бензином. В согласии с другими авторами было установлено, что при вышеприведенном способе возникают потери каротина, которые колеблются чаще всего в пределах 4—15 %, реже, однако, могут колебаться от 0—20 %, причем они не восстанавливаются. При активности адсорбента низшей IV. (по Брокманну) потери не происходят, однако такая низкая активность не обеспечивает совершенной изоляции каротина от остальных пигментов.

2. Подобные результаты были получены при элюции 2% раствором ацетона в бензине, где тоже проявилась зависимость потерь каротина от количества адсорбента, причем она гораздо выразительнее, чем при элюции бензином.

3. Был предложен способ элюции, который дает возможность количественной промывки каротина из колонки. Хроматография проводится обычным способом на колонке окиси алюминия для хроматографии, активность прибл. II (по Брокманну). Все пигменты адсорбируются как узкая зона при поверхности колонки. Каротин затем промывается раствором эфира и бензина в соотношении 1 : 3, а именно количеством на 20—30 мл большим чем необходимо для промывки остатков каротина, заметных невооруженным глазом. Высоту колонки адсорбента берут в зависимости от анализируемого материала; у свежих зеленых растений достаточно колонки высотой до 5 см, при значительной избытке хлорофилла или ликопина, и у консервированных, особенно силосованных растений применяется высшая колонка, доходящая до расширенной части трубки (картина I). Скорость течения анализируемого раствора и элюэнта составляет приблизительно 2 капли в секунду. В течение процесса надо избежать лишних простоев.

4. На основании подробной проверки метода, особенно с учетом основных варьирующих условий, — количество хроматографированного каротина, разбавление адсорбированного раствора и его количество, подготовка, и в известных пределах меняющаяся активность адсорбента, а именно всегда, при обработке как чистого каротина, так экстрактов из свежих, сушеных, и силосованных растений — мы приходим к заключению, что во всех случаях элюция адсорбированного каротина является количественной, отделение биологически неактивных пигментов является совершенным и результаты вполне повторимыми, что — в особенности ка-

чественная элюция и повторимость результатов — является выгодным по сравнению с до сих пор применяемым у нас способом элюции каротина бензином.

5. Было установлено, что повторное исследование активности окиси алюминия при данном способе элюции, можно произвести при помощи раствора каротина и ликопина (экстракт из томатов) точнее, чем по методу Брокманна.

6. Результаты, полученные изоляцией каротина на препаратах, обозначенных «окись алюминия для хроматографии» и «окись алюминия, подготовленная по Брокманну», являются сходными, но распределение пигментов равномернее при применении препарата, подготовленного по Брокманну, и поэтому мы предпочитаем этот адсорбент.

Die Verlustvermeidung an Karotin bei der chromatografischen Isolation auf dem Aluminiumoxyd

1. Es wurde die Methode der chromatografischen Isolation des Karotins durch Adsorption aus einer Benzinlösung auf Aluminiumoxyd mit nachfolgender Elution mit Benzin von Pflanzenextrakten (frische, getrocknete, silierte, tiefgekühlte Pflanzen) und aus chemisch reinem Karotin nachgeprüft. Übereinstimmend mit anderen Autoren wurde festgestellt, daß bei diesem Arbeitsvorgang Karotinverluste vorkommen, die sich am häufigsten in den Grenzen von 4—15 % bewegen, seltener können sie auch zwischen 0—20 % variieren, sind aber nicht reproduzierbar. Bei niedrigerer Aktivität des Adsorbenten kommen zwar keine Verluste vor, aber diese niedrige Aktivität verbürgt nicht eine vollkommene Isolation des Karotins von den anderen Farbstoffen.

2. Ähnliche Ergebnisse wurden bei der Elution durch 2 % Azetonlösung im Benzin gewonnen, wobei sich aber die Abhängigkeit des Karotinverlustes von der Menge des Adsorbenten viel ausdrucksvoller, als bei der Elution mit Benzin, bemerkbar machte.

3. Es wurde eine Elutionsmethode vorgeschlagen, welche die quantitative Auswaschung des Karotins aus der Säule ermöglicht. Die Chromatographie wird auf übliche Weise mittels Aluminiumoxydsäule (cca II Aktivität nach Brockmann) durchgeführt. Sämtliche Pigmente adsorbieren sich als dünne Oberschichte der Aluminiumoxydsäule. Das Karotin wird dann mit einer Äther-Benzinlösung (1:3) eluiert und zwar mit einer Menge die um 30 ml höher ist als jene, die zur Auswaschung der mit bloßem Auge sichtlichen Karotinüberreste unbedingt notwendig ist. Die Höhe der Säule des Adsorbenten wird nach dem analysierten Material gewählt, bei frischen, grünen Pflanzen genügt eine 5 cm hohe Säule, bei einem großen Überfluß an Chlorophyll oder Lykopin und bei konservierten Pflanzen, insbesondere silierten, benützt man eine höhere Säule, die bis in den erweiterten Teil der Glasröhre (Bild No. 1) hinreicht. Durch die Erweiterung des oberen Teiles der Säule erzielt man eine genaue Abgrenzung des Karotins von den übrigen Farbstoffen viel leichter, als nur durch Erhöhung der Säule. Die Durchgangsgeschwindigkeit der analysierten Lösung und des Eluenten sind cca 2 Tropfen in der Sekunde. Im Verlauf der Arbeit muß man sich vor unnötigen Unterbrechungen hüten.

4. Auf Grund der ausführlichen Überprüfung der Methode, namentlich mit Rücksicht auf die Varlierung von Grundbedingungen wie z. B. Menge des chromatographierten Karotins, Verdünnung der adsorbierten Lösung, Menge, Zubereitung und die in bestimmten Grenzen wechselnde Aktivität des Adsorbenten, was sich sowohl auf die Bearbeitung des reinen Karotins, so auch der Extrakte von den frischen, getrockneten, silierten und tiefgekühlten Pflanzen bezieht, wurde festgestellt, daß

in allen Fällen die Elution des adsorbierten Karotins quantitativ und die Trennung der biologisch inaktiven Pigmente vollkommen ist, sodaß die Ergebnisse voll reproduktabel sind.

5. Es wurde festgestellt, daß man die Aktivität des Aluminiumoxydes für den gegebenen Fall der Elution durch Anwendung der Karotin- und Lykopinlösung (Tomatenextrakt) mit größerer Empfindlichkeit überprüfen kann als mit der Methode nach Brockmann. Die Methode wird in der Arbeit beschrieben.

6. Die gewonnenen Ergebnisse der Karotinisolation auf Präparaten mit der Bezeichnung „Aluminiumoxyd für Chromatographie“ oder „Aluminiumoxyd nach Brockmann standardisiert“ sind übereinstimmend, aber die Trennung der Farbstoffe ist bei Anwendung des nach Brockmann standardisierten Präparates regelmäßiger.

Výzkum obsahu β -karoténu a vitamínu E v pícech

I. sdělení: *Medicago sativa* L. (vojteška setá)

Исследование β -каротина и витамина E в корморастениях *Medicago sativa* L.
(люцерна посевная)

Forschung über den β -Karotin- und Vitamin E-Gehalt der Futterpflanzen
Medicago sativa L. (Luzernerkllee)

Ing. V. LAUTNER

ÚKZÚZ — Laboratoře pro zemědělskou biochemii, ředitel ústavu inž. J. Fořt

Došlo dne 10. III. 1958

Úvod

Význam vitaminů ve výživě hospodářských zvířat stále vzrůstá. Zvláště v intenzivních chovech se ukazuje, že bez dokonalé znalosti těchto látek a hlavně jejich obsahu v krmivech, nemůžeme úspěšně zvládnout problém racionální výživy. Dosa-
vadní hodnoty, které v praxi používá krmný technik — stravitelná bílkovina a škro-
bová hodnota, navíc někdy i obsah minerálních látek — jsou ve světle dnešních
názorů nedostačující a stále více vidíme, že otázku hodnocení krmiv nutno řešit kom-
plexně.

S nedostatkem vitaminů v zemědělské praxi se setkáváme na každém kroku. Nejožehavějším problémem je právě nedostatek nejdůležitějšího vitamínu — axe-
roftolu — případně jeho provitaminů — karoténů. Zodpovědně můžeme prohlásit,
že zimní krmné dávky jsou více než z 50 % deficitní na tento důležitý růstový vita-
min, který však má i význam v reprodukčním systému, a tak jako všechny vita-
miny je řídícím činitelem v celkovém souhrnu látkové přeměny.

Znalosti o obsahu vitaminů v našich krmivech jsou velmi kusé. Nelze zde spo-
léhat jen na zahraniční výsledky s ohledem na naše zvláštní specifické podmínky. Naše laboratoř se zabývá touto problematikou od r. 1950 a v rámci výzkumného
úkolů „Výzkum vitaminů v pícech“ jsme provedli sta analys, zaměřených
k systematickému průzkumu, a rozborů jsou doplněny i základními ukazateli o vege-
tačních fázích a chemických vlastnostech vzorku, z něhož zkoumaný materiál po-
cházel. Spolu s provitaminem A byl v naší práci studován i obsah vitamínu E
v pícech. Všechny vzorky k analysám, uvedené v naší práci, byly odebírány
vesměs ze stejných stanovišť za současného sledování hnojení a předplodin, jakož
i klimatických podmínek.

Vzhledem k tomu, že jde o několikaletou práci, budeme jednotlivé dílčí vý-
sledky uveřejňovat postupně.

Metody stanovení β -karotenu a vitaminu E

Použitá metoda k stanovení β -karotenu

Z analytických metod bylo pro stanovení β -karotenu použito v principu kolorimetrické metody podle *Murriho* (6), částečně námi upravené. Uvedená metoda je vhodná vzhledem ke své rychlosti při zpracování analysovaných vzorků, přesnosti a snadné použitelnosti při sériových stanoveních β -karotenu v rostlinném materiálu v běžných provozních laboratořích.

Princip metody. Odvážené množství rostlinného materiálu se roztírá v třecí misce se skelnou krupicí a současně extrahuje směsí aceton-benzin. Ze získaného extraktu se odstraní aceton promýváním vodou a benzinový roztok zelených pigmentů se čistí na sloupci vhodně aktivovaného kyslíčnicku hlinitého (1). Karotén se pak eluuje směsí 2 0/0 acetonu v benzínu a po doplnění na určitý objem kolorimetruje. Měření bylo provedeno na kolorimetru typu Lange za použití filtru vlnové délky 450 m μ a výsledky odečteny z kalibrační křivky sestrojené s čistým krystalickým β -karoténem.

Použitá metoda k stanovení vitaminu E

Pro stanovení tokoferolu v pícech bylo použito kolorimetrické metody v principu *Furter-Meyer* (3), jakožto metody jednoduché, poměrně specifické a vhodné pro sériová stanovení.

Tato metoda byla námi částečně upravena k stanovení rostlinného materiálu s chromatografickým odstraňováním karotenoidních barviv na hlince *Floridin* (4).

Původně zamýšlená fluorescenceční metoda podle *M. Koflera* (5), která je mnohem citlivější než *Furter-Meyerova* pro stanovení tokoferolů v přirozeném rostlinném materiálu, nemohla být použita, jelikož nebyl k dispozici vhodný fluorescenceční kolorimetr.

Princip metody: Odvážený, řádně zhomogenisovaný vzorek rostlinného materiálu byl zmýdelněn alkoholickým hydroxydem draselným, nezmýdelnitelné podíly vytřepány do éteru a po odpaření éteru ve vakuu v přítomnosti inertního plynu — dusíku — odstraněny karotenoidy na aktivované adsorpční hlince *Floridin* (4). Tokoferoly pak eluovány ze sloupce benzenem a po odpaření rozpustidla provedena reakce s kyselinou dusičnou a kolorimetrické měření na *Langeho* kolorometru a *Pulfrichově* fotometru při použití filtru vlnové délky 500 m μ .

Koncentrace pak byla určena podle kalibrační křivky, sestrojené ze syntetického dl- α -tokoferolacénátu jako standardu.

Metoda stanovení dusíku a stanovení vody (ČSN).

Popis zkoumaného materiálu

Ke studiu obsahu vitaminu E, karotenu a dusíkatých látek, jakož i ke studiu z hlediska botanického byla užita z čeledě *Fabaceae* (bobovité), *Medicago sativa* L. — vojtěška — odebraná ze státního statku Kyje u Prahy a vojtěška stupická ze šlechtitelské stanice Stupice.

První byla zkoumána v I. seči ve vegetačních fázích „mladá“ a „před květem“, v II. seči ve fázích „před květem“ a „v květu“ a ve III. seči ve vegetační fázi „v květu“. Pod pojmem vegetační fáze „mladá“ se rozumí stáří vojtěšky, ve kterém ještě nedošlo k nasazení pupenů (zelené nerozvité). Vegetační fáze „před květem“ je období vyvíjení zelených pupenů, rovněž ještě nerozvitých.

Uvedené vegetační fáze i jednotlivé seče byly stanoveny podle normální sklizně vojtěšky tak, jak se vyskytuje z praxe.

Z odrůdy vojtěšky stupické odebrané ze šlechtitelské stanice Stupice byly vybrány tři varianty označené čísly 30/6, 16/6 a 29/3, zvláště odděleně vysazené a pěstované, které se navzájem od sebe lišily barvou a velikostí listů, barvou květů, vzrůstem, odnožováním atd.

Tyto varianty pak byly podrobeny analýzám v různých vegetačních fázích v I. a II. seči tak, jak je později uvidíme v tabulkách. Průzkumem uvedených variantů jsme chtěli poukázat na nestejnorodost v praxi přicházejících porostů a na rozdílnost tak získaných výsledků z jedinců lišících se od sebe již vnějšími botanickými znaky.

Odběr a úprava vzorků

Vzorky vojtěšek v jednotlivých vegetačních fázích a sečích byly odebírány pro analýsy z přesně vyznačených parcel vždy ve stejnou ranní dobu. Z pokoseného porostu pak byly odebrány obvyklým způsobem průměrné vzorky ve váze asi 6–10 kg. Po řádném smíchání bylo množství 3–5 kg píce rozřezáno na řezačce a opět důkladně promícháno. 100 g zelené hmoty bylo pak jemně rozetřeno, zhomogenisováno a použito ke stanovení provitaminu A, vitaminu E, dusíkatých látek a obsahu vody.

K jednotlivým stanovením bylo odvažováno 5–20 g homogenní rozetřené hmoty.

Dále pak ze vzorků vojtěšek v jednotlivých vegetačních fázích bylo vybráno 20 průměrných rostlin, jež byly individuálně odlistěny. Listy, stonky, kvítky a plody byly jednotlivě zváženy, po případě měřeny.

Metodika

Způsob analytických metod ke stanovení karoténu a vitaminu E, jakož i veškerých látek dusíkatých a obsahu vody byl již uveden vpředu.

Časový postup: V r. 1955 byly odebrány vzorky vojtěšky ze státního statku Kyje u Prahy, a to tak, jak jsou prakticky v zemědělství v jednotlivých fázích sklizeny.

V r. 1956 byly provedeny rozbory u vojtěšky stupické ze šlechtitelské stanice Stupice. V píci byly zkoumány jednotlivé varianty této vojtěšky v různých vegetačních fázích a sečích, aby se tak poukázalo na nestejnorodost porostu a chyby vznikající při odebírání neprůměrných vzorků k analýzám. Kromě toho byly některé vzorky odebrány v pozdějších fázích růstu než by se vyskytovalo v praxi, a to proto, abychom zachytili kolísání, na př. karoténu, způsobené stárnutím rostlin, délkou vegetace nebo případné přírůstky (u vitaminu E).

V odebraných vzorcích byl především sledován obsah provitaminu A a vitaminu E, obsah veškerých dusíkatých látek a obsah vody v čerstvé zelené hmotě. Výsledky pak byly přepočteny na absolutní sušinu, abychom tak mohli jednotlivé zkoušené vzorky navzájem porovnávat. Dále bylo sledováno kolísání v obsahu β -karoténu v jednotlivých vegetačních fázích, vznikající během vegetace. Zároveň byla studována hladina vitaminu E během různých vegetačních období.

Organický rozbor vzorků byl pak doplněn sledováním z botanického hlediska, a to v těchto ukazatelích: výška porostu, váhové zastoupení listů, stonků, 1ozvítých a nerozvítých květů a plodů v čerstvé zelené hmotě.

Agrotechnický průzkum: Zkoumaná vojtěška dobrovická ze statku Kyje byla hnojena pouze fosforečnými hnojivy, a to superfosfátem a Thomasovou moučkou, tj. 65 kg P na 1 ha; předplodina — vojtěška; hnojení k předplodině — superfosfátem.

Vzorky vojtěšek ze šlechtitelské stanice Stupice byly hnojeny 15 kg N, 60 kg P, 70 kg K na 1 ha; předplodina — vojtěška 5 let po sobě.

Výsledky a jejich hodnocení

Varianty vojtěšky stupické z r. 1956 z hlediska botanického.

Délkový přírůstek variant vojtěšky stupické označené čísly 30/6, 29/3 a 16/6 (tabulka Ia, Ib a Ic) činí u 30/6 (Ia) od vegetační fáze „mladá“ do fáze „v květu“ od 30 do 84,5 cm v I. seči a od 32,5 do 98,5 cm ve vegetační fázi „mladá“ do fáze „po odkvětu“ v seči II.

Barva listů této varianty byla světle zelená a květy světle fialové. Listy byly úzké, mírně kadeřavé.

Varianta č. 29/3 (tab. Ib) ve svém růstu se pohybovala od vegetační fáze „mladá“ do fáze „v květu“ v rozmezí od 40 do 99,6 cm v I. seči a od 39,8 do

Ia. Varianta 30/6 *Medicago sativa* L. (vojtěška),

Varianta vojtěšky č. 30/6 ve veg. fázi	Seč	H ₂ O	Suš.	Doba sběru	Výška porostu v cm		
						listů	stonků
mladá	I	79,98	20,02	24/5	30,0	0,88	1,13
před květem	I	75,24	24,76	7/6	50,0	1,65	1,67
v květu	I	71,74	28,26	6/7	84,5	3,08	5,39
mladá	II	77,64	22,36	29/6	32,5	0,86	1,15
před květem	II	71,29	28,71	13/7	55,0	1,68	1,85
v květu	II	70,88	29,12	23/8	86,3	3,07	5,30
po odkvětu	II	65,85	34,15	9/9	98,5	3,53	5,45

Ib. Varianta č. 29/3 *Medicago sativa* L. (vojtěška),

Varianta vojtěšky č. 29/3 ve veg. fázi:	Seč	H ₂ O	Suš.	Doba sběru	Výška porostu v cm		
						listů	stonků
mladá	I	83,29	16,71	21/5	40,0	0,95	2,18
před květem	I	74,55	25,45	5/6	71,0	3,19	6,60
v květu	I	70,49	29,51	27/6	99,6	5,46	11,45
mladá	II	81,08	18,92	23/6	39,8	0,98	2,19
před květem	II	70,45	29,55	11/7	76,0	2,28	4,85
v květu	II	66,12	33,88	10/8	89,0	2,49	5,08
po odkvětu	II	64,74	35,26	28/8	98,2	3,62	7,12

98,2 cm u vegetační fáze „po odkvětu“ ve II. seči. Listy uvedené varianty byly tmavozelené barvy, široké; barva květů byla tmavě fialová.

Varianta č. 16/6 (tab. Ic) vykazovala výšku porostu od 37 no 95,6 cm v I. seči a od 42 do 101 cm ve fázi „po odkvětu“ v II. seči. Listy byly široké, světle zelené, barva květů byla světle fialová.

Délkový přírůstek v II. seči u všech variant je menší než v seči I., což činí v průměru o 36 % více v II. seči proti seči I.

Hodnoty karoténu jednotlivých variant vojtěšky stupické

V obsahu provitaminu A, po přepočtení na sušinu (tab. II, graf 1, 2, 3), vykazuje varianta 29/3 ve vegetační fázi „mladá“ jak v I. seči tak ve II. seči nejvyšší obsah karoténu, pohybující se v průměru kolem 33 mg %. Nejmenší obsah vykazuje č. 16/6 — průměrně 25,5 mg % mezi I. a II. seči ve vegetační fázi „mladá“ a střed zaujímá varianta 30/6 — v průměru s 31 mg % β -karoténu.

Při studiu ztrát v obsahu karoténu v jednotlivých vegetačních fázích variant stupické vojtěšky během vegetace (tab. III) zjišťujeme, že varianta 30/6 ve vegetační fázi „před květem“ obsahuje o 16 % méně β -karoténu než ve fázi „mladá“ I. seče a ve vegetační fázi „v květu“ o 47 % méně. Činí tedy pokles v obsahu β -karoténu mezi vegetační fázi „před květem“ a vegetační fázi „v květu“ 31 %.

čeleď *Fabaceae* (bobovité) z r. 1956

Obsah v 1 rostlině v g				%					
květů		listů suchých	plodů	listů	stonků	květů		listů suchých	plodů
rozvit.	nerozvit.					rozvit.	nerozvit.		
—	—	—	—	43,81	56,19	—	—	—	—
—	0,06	—	—	48,93	49,22	—	1,85	—	—
0,74	0,41	0,07	—	31,73	55,59	7,65	4,30	0,73	—
—	—	—	—	42,79	57,21	—	—	—	—
—	0,08	—	—	46,53	51,25	—	2,22	—	—
0,59	0,14	—	—	33,74	58,24	6,48	1,54	—	—
0,40	—	—	0,50	35,73	55,16	4,05	—	—	5,06

čeleď *Fabaceae* (bobovité) z r. 1956

Obsah v 1 rostlině v g				%					
květů		listů suchých	plodů	listů	stonků	květů		listů suchých	plodů
rozvit.	nerozvit.					rozvit.	nerozvit.		
—	—	—	—	30,33	69,67	—	—	—	—
—	0,14	—	—	32,15	66,42	—	1,43	—	—
1,01	0,47	—	—	29,67	62,25	5,53	2,55	—	—
—	—	—	—	30,91	69,09	—	—	—	—
—	0,17	—	—	31,21	66,51	—	2,28	—	—
0,74	0,43	—	—	28,46	58,15	8,50	4,89	—	—
0,21	—	—	0,64	31,23	61,43	1,82	—	—	5,52

Varianta vojtěšky č. 16/6 ve veg. fázi:	Seč	H ₂ O	Suš.	Doba sběru	Výška porostu v cm		
						listů	stonků
mladá	I	84,79	15,21	21/5	37,0	2,01	3,17
před květem	I	79,14	20,86	5/6	63,0	5,87	10,65
v květu	I	74,57	25,43	3/7	95,6	6,08	14,33
mladá	II	83,72	16,28	28/6	42,0	1,04	2,12
před květem	II	73,78	26,22	11/7	61,0	1,56	2,80
v květu	II	67,84	32,16	28/8	87,5	2,72	3,97
po odkvětu	II	64,72	35,28	13/9	101,0	4,10	7,96

V II. seči pak činí pokles 29 % ve fázi „před květem“, 69 % ve fázi „v květu“ a 75 % „po odkvětu“ ve srovnání s fází „mladá“.

Pokles karoténu ve fázi „v květu“ činí tedy 40 % proti fázi „před květem“ a 6 % ve vegetační fázi „po odkvětu“ proti fázi „v květu“.

U varianty 29/3 činí snížení obsahu karoténu 48 % ve vegetační fázi „před

II. Obsah vody, veškerých látek dusíkatých, β -karoténu a vitamínu E v původní substanci (v čerstvém stavu) a sušině variant — *Medicago sativa* L. (vojtěšky), čeleď *Fabaceae* (bobovitě) z r. 1956

Varianty vojtěšek ve vegetační fázi:	Seč	H ₂ O	Suš.	N $\times$ 6,25 v %		β -karotén v mg %		E-vitamin v mg %	
				v		v		v	
				p. s.	suš.	p. s.	suš.	p. s.	suš.
30/6 mladá	I	79,98	20,02	4,77	23,87	6,01	30,02	4,49	22,42
	I	75,24	24,76	5,57	22,50	6,28	25,36	6,42	25,93
	I	71,74	28,26	4,87	17,36	4,55	16,12	11,06	39,16
	II	77,64	22,36	5,58	24,98	7,19	32,16	4,94	22,10
	II	71,29	28,71	6,69	23,32	6,54	22,77	11,20	39,01
	II	70,88	29,12	5,43	18,75	2,93	10,06	12,77	43,85
	II	65,85	34,15	5,50	16,20	2,81	8,25	15,74	46,12
29/3 mladá	I	83,29	16,71	4,18	25,25	5,47	32,73	4,05	24,23
	I	74,55	25,45	4,62	18,22	4,35	17,09	6,97	27,40
	I	70,49	29,51	4,21	14,28	4,15	14,06	11,21	38,00
	II	81,08	18,92	4,68	24,87	6,45	34,12	3,64	19,25
	II	70,45	29,55	5,52	18,70	6,20	20,98	6,27	21,21
	II	66,12	33,88	5,62	16,68	5,57	16,44	12,75	37,63
	II	64,74	35,26	5,25	15,00	3,66	10,38	13,82	39,19
16/6 mladá	I	84,79	15,21	3,87	25,69	3,85	25,31	5,02	33,00
	I	79,14	20,86	3,18	15,31	4,19	20,09	7,96	38,16
	I	74,57	25,43	3,43	13,51	2,88	11,32	10,88	42,80
	II	83,72	16,28	4,25	26,19	4,27	26,28	5,06	31,12
	II	73,78	26,22	4,70	17,93	4,49	17,12	8,99	34,28
	II	67,84	32,16	4,56	14,28	3,92	12,20	14,24	44,30
	II	64,72	35,28	4,37	12,50	3,26	9,26	16,40	46,53

Obsah v 1 rostlině v g				%					
květů		listů suchých	plodů	listů	stonků	květů		listů suchých	plodů
rozvit.	nerozvit.					rozvit.	nerozvit.		
—	—	—	—	38,83	61,17	—	—	—	—
—	0,17	—	—	35,18	63,80	—	1,02	—	—
0,90	0,30	0,12	—	27,96	65,86	4,17	1,42	0,59	—
—	—	—	—	32,91	67,09	—	—	—	—
—	0,12	—	—	34,93	62,40	—	2,67	—	—
0,25	0,06	—	—	38,87	56,71	3,60	0,82	—	—
0,05	—	—	0,79	31,78	61,71	0,39	—	—	6,12

III. Ztráty β -karotenu v jednotlivých vegetačních fázích variant *Medicago sativa* L. (voj-
těšky), čeleď *Fabaceae* (bobovitě) z roku 1956 způsobené dobou vegetace (v /sušině)

Vegetační fáze:	Seč:	Varianta vojtěšek číslo							
		30/6		29/3		16/6		pokles během dnů	β -karotén v sušině v %
		pokles během dnů	β -karotén v sušině v %	pokles během dnů	β -karotén v sušině v %	pokles během dnů	β -karotén v sušině v %		
mladá	I	—	100 %	méně	—	100 %	méně	—	100 %
			— %				— %		— %
před květem	I	13	84	—16	14	52	—48	14	79
v květu	I	42	53	—47	36	42	—58	42	44
mladá	II	—	100 %	—	—	100 %	—	—	100 %
			— %				— %		— %
před květem	II	14	71	—29	18	61	—39	13	65
v květu	II	54	31	—69	47	48	—52	60	45
po odkvětu	II	70	25	—75	65	30	—70	75	35

květem“, 58 % ve fázi „v květu“ u I. seče proti fázi „mladá“, což je pokles o 10 % mezi fázemi „v květu“ a „před květem“.

V II. seči této varianty ve srovnání s vegetační fází „mladá“ činí pokles ve fázi „před květem“ 39 %, „v květu“ 52 % a ve fázi „po odkvětu“ 70 %.

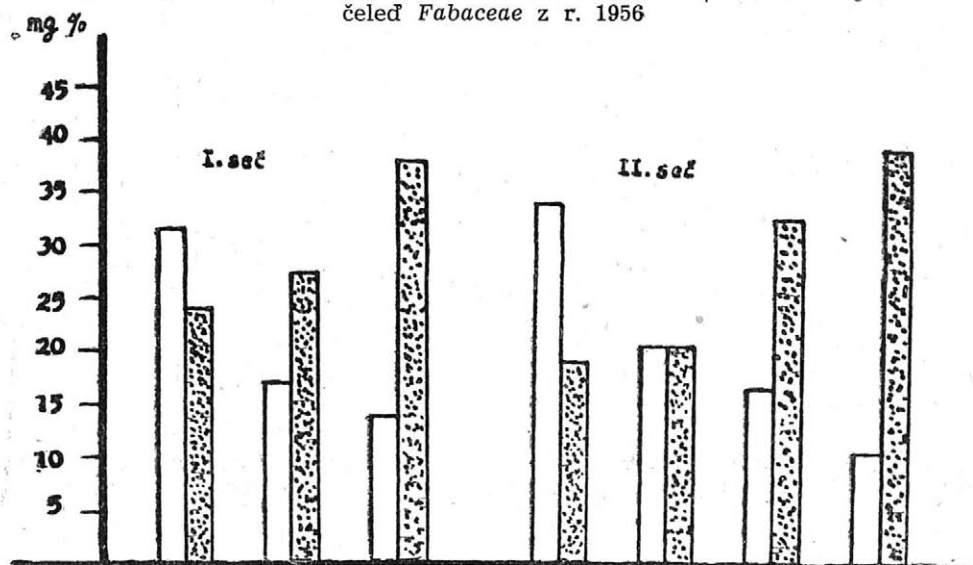
Varianta 16/6 v I. seči vykazuje ve vegetační fázi „před květem“ pokles obsahu karotenu o 21 %, ve fázi „v květu“ 56 % ve srovnání s vegetační fází „mladá“.

Ve II. seči činí rozdíl v obsahu β -karotenu proti vegetační fázi „mladá“ 35 % u vegetační fáze „před květem“, ve fázi „v květu“ 55 % a ve fázi „po odkvětu“ 65 %.

Při hodnocení jednotlivých variant vojtěšek největší ztráty vykazovala varianta č. 29/3 v I. seči jak ve vegetační fázi „v květu“ tak i „před květem“, zatím co zbývající dvě varianty měly ztráty přibližně stejné.

V II. seči nejmenší ztráty v obsahu karotenu byly zjištěny ve vegetační fázi „před květem“ u varianty č. 30/6, největší u č. 29/3; ve fázi „v květu“ byly nejmenší u č. 29/3 a největší u č. 30/6. Celkově v průměru uvedených variant činily ztráty karotenu ve vegetační fázi „před květem“ I. seče 28 %, „v květu“ 53 %, v II. seči pak ve fázi „před květem“ 34 %, „v květu“ 52 % a ve fázi „po odkvětu“ 70 % — ve srovnání s vegetační fází „mladá“.

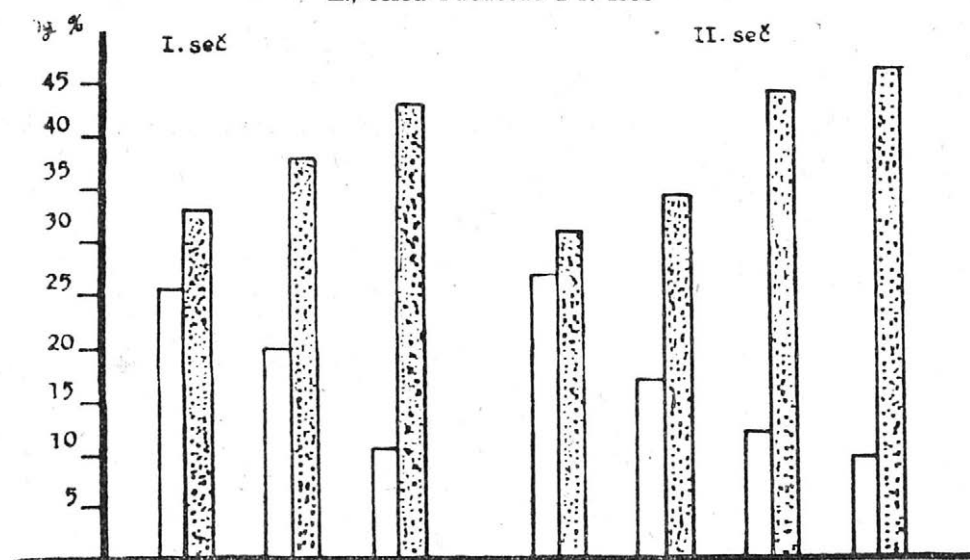
Graf 1. Obsah β -karoténu a vitaminu E v sušině. Varianta 29/3 — *Medicago sativa* L.,
čeleď Fabaceae z r. 1956



Bílé sloupce ukazují hodnoty β -karoténu, tečkované sloupce hodnoty vitaminu E.

První dvojsloupec od leva značí vegetační fázi — *mladá*, druhý dvojsloupec vegetační fázi — *před květem* a třetí dvojsloupec vegetační fázi — *v květu*. Další dvojsloupec (čtvrtý) v II. seči značí vegetační fázi *mladá*, pátý vegetační fázi *před květem*, šestý *v květu* a sedmý *po odkvětu*.

Graf 2. Obsah β -karoténu a vitaminu E v sušině. Varianta 16/6 — *Medicago sativa* L.,
čeleď Fabaceae z r. 1956



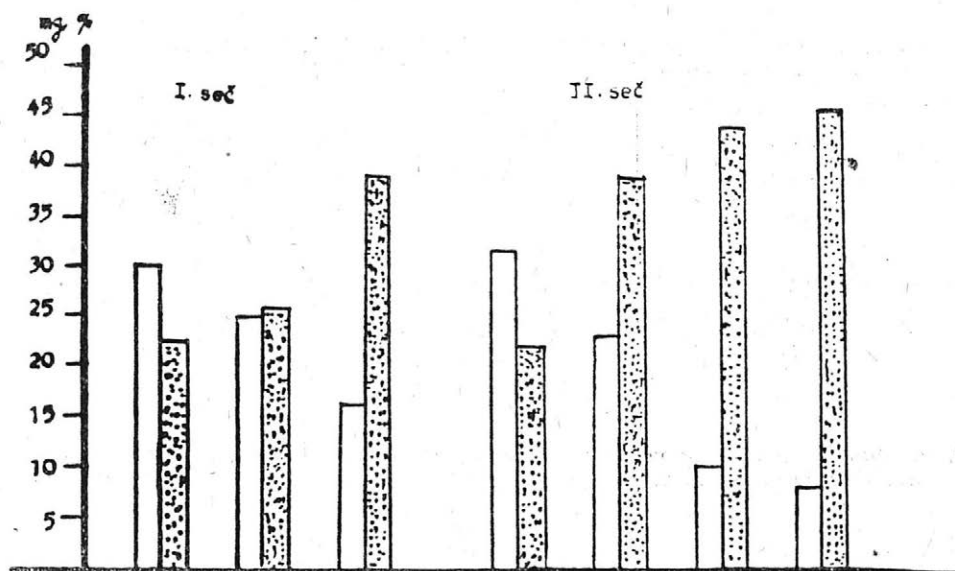
Bílé sloupce ukazují hodnoty β -karoténu, tečkované hodnoty vit. E.

První dvojsloupec od leva značí vegetační fázi — *mladá*, druhý dvojsloupec vegetační fázi — *před květem* a třetí dvojsloupec vegetační fázi — *v květu*. Další dvojsloupec v II. seči (čtvrtý) značí vegetační fázi *mladá*, pátý vegetační fázi *před květem*, šestý *v květu* a sedmý *po odkvětu*.

Mezi fází „před květem“ a „v květu“ činí rozdíl ztrát v obsahu karotenu 25 %, mezi fází „v květu“ a „po odkvětu“ 11 %.

Z uvedeného je patrné, že ztráty v obsahu karotenu v II. seči jsou značně vyšší než v seči I., a to vlivem biochemických pochodů v rostlinách.

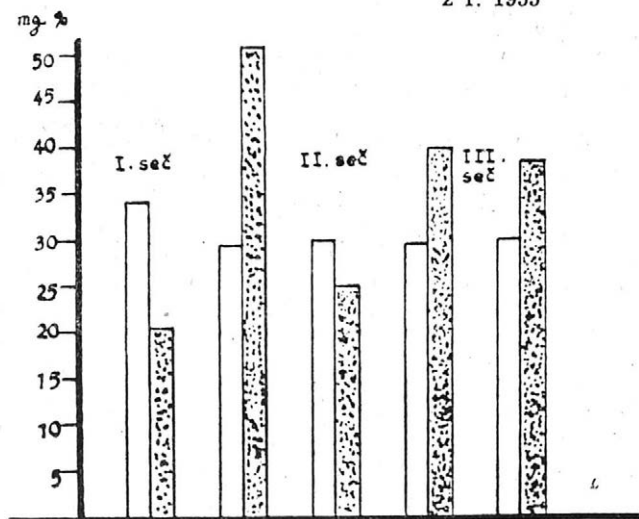
Graf 3. Obsah β -karotenu a vitaminu E v sušině. Varianta č. 30/6 — *Medicago sativa* L., čeleď Fabaceae z r. 1956



Bílé sloupce ukazují hodnoty β -karotenu, tečkované sloupce hodnoty vitaminu E.

První dvojsloupec od leva značí vegetační fázi — *mladá*, druhý dvojsloupec vegetační fázi — *před květem* a třetí dvojsloupec vegetační fázi — *v květu*. Další dvojsloupec v II. seči (čtvrtý) značí vegetační fázi *mladá*, pátý vegetační fázi *před květem*, šestý *v květu* a sedmý *po odkvětu*.

Graf 4. Obsah β -karotenu a vitaminu E v sušině. *Medicago sativa* L., čeleď Fabaceae z r. 1955



Bílé sloupce ukazují hodnoty β -karotenu, tečkované sloupce hodnoty vitaminu E.

První dvojsloupec od leva značí vegetační fázi — *mladá*, druhý dvojsloupec vegetační fázi — *před květem* (v I. seči). Třetí dvojsloupec značí vegetační fázi — *před květem*, čtvrtý — *v květu* (obě vegetační fáze v II. seči). Pátý dvojsloupec značí vegetační fázi — *před květem* (v III. seči).

Hodnoty vitamínu E variant vojtěšky stupické

Srovnáme-li jednotlivé varianty vojtěšek se zřetelem k obsahu vitamínu E (v sušině) — tab. II a graf 1, 2 a 3 — ukazují se jako nejlepší varianta č. 16/6, a to jak v jednotlivých sečích tak i v jednotlivých vegetačních fázích.

V průměru obou sečí činí obsah vitamínu E ve vegetační fázi „mladá“ 32 mg 0/0, ve fázi „v květu“ 43 mg 0/0 a „po odkvětu“ 46,5 mg 0/0.

IV. Kolísání vitamínu E v jednotlivých sečích variant *Medicago sativa* L. (vojtěšky), čeleď *Fabaceae* (bobovité) z r. 1956 ve vegetační fázi „mladá“ (v sušině)

Varianta č.:	Seč	Vitamin E v sušině	
16/6	I	100 %	méně o %
	II	100 %	méně o %
30/6	I	67	—33
	II	71	—29
29/3	I	73	—27
	II	61	—39

V. Vzestup vitamínu E v jednotlivých vegetačních fázích variant *Medicago sativa* L. (vojtěšky), čeleď *Fabaceae* (bobovité) z r. 1956 způsobené dobou vegetace (v sušině)

Vegetační fáze:	Seč:	Varianta vojtěšky číslo:								
		30/6			29/3			16/6		
		během dnů	E vitamin v sušině v %		během dnů	E vitamin v sušině v %		během dnů	E vitamin v sušině v %	
mladá	I	—	100%	více o % +	—	100%	více o % +	—	100%	více o % +
před květem	I	13	115	+15	14	113	+13	14	115	+15
v květu	I	42	174	+74	36	156	+56	42	129	+29
mladá	II	—	100%	+%	—	100%	+%	—	100%	+%
před květem	II	14	176	+76	18	110	+10	13	110	+10
v květu	II	54	198	+98	47	143	+43	60	142	+42
po odkvětu	II	70	208	+108	65	203	+103	75	149	+49

VI. *Medicago sativa* L. (vojtěška), čeleď *Fabaceae*

Pícnina	Vegetační fáze	Seč	H ₂ O	Suš.	Ø výška porostu v cm	Doba	Místo
						sběru	
Vojtěška	mladá	I.	80,60	19,4	57	1/6	Kyje
	před květem	I.	80,44	19,56	72	14/6	Kyje
	před květem	II.	80,89	19,11	52	14/7	Kyje
	v květu	II.	78,28	21,72	70	27/7	Kyje
	před květem	III.	78,20	21,80	53	24/8	Kyje

Nejmenší obsah tohoto vitamínu v průměru obou sečí vykazuje varianta č. 29/3, a to 21 mg 0/0 ve vegetační fázi „mladá“, 37 mg 0/0 ve fázi „v květu“ a 39 mg 0/0 ve vegetační fázi „po odkvětu“. Střed zaujímá varianta č. 30/6 průměrem obou sečí 22 mg 0/0 ve vegetační fázi „mladá“, 41 mg 0/0 ve fázi „v květu“ a 46 mg 0/0 ve fázi „po odkvětu“.

Přihlédneme-li k vegetačním fázím, ve kterých se obvykle vojtěška sklízí, a vezmeme-li si nejlepšího jedince za základ (= 100 0/0), obdržíme pro obsah vitamínu E tyto relativní ukazatele:

varianta č. 16/6	I. seč, veg. fáze „před květem“	100 0/0
varianta č. 30/6	I. seč, veg. fáze „před květem“	67 0/0
varianta č. 29/3	I. seč, veg. fáze „před květem“	71 0/0
varianta č. 16/6	II. seč, veg. fáze „v květu“	100 0/0
varianta č. 30/6	II. seč, veg. fáze „v květu“	98 0/0
varianta č. 29/3	II. seč, veg. fáze „v květu“	84 0/0

Z analyzovaných variant vojtěšky stupické s ohledem na obsah vitamínu E vykazoval největší obsah jedinec č. 16/6 jak v jednotlivých vegetačních fázích tak i v sečích, naproti tomu jedinec 29/3 měl nejmenší obsah tohoto vitamínu. Koli-
sání obsahu vitamínu E u jednotlivých variant ve vegetační fázi „mladá“ (tab. IV.) se projevuje u č. 30/6 v I. seči menším obsahem tohoto vitamínu o 33 0/0 a v II. seči o 29 0/0 proti č. 16/6 a č. 29/3. Ve srovnání s nejlepší variantou, č. 16/6, činí tento rozdíl v obsahu vitamínu E v I. seči 27 0/0 a v II. seči 39 0/0.

Stoupání obsahu vitamínu E u jednotlivých variant uvádíme podrobně v tab. V.

Ze všech uvedených rozborů jednotlivých variant vojtěšky stupické je zřejmé, že nejvyšší přírůstky v obsahu vitamínu E vykazovala varianta č. 30/6 proti ostatním dvěma.

Zatím co stoupání obsahu vitamínu E je nejvyšší v II. seči, nastávají u karoténu v této seči značně vyšší ztráty proti seči I.

Obsah veškerých látek dusíkatých uvedených variant (tab. II.) klesá spolu s obsahem karoténu během vegetace.

Hodnocení vojtěšky dobrovické z hlediska botanického

Délkový přírůstek vojtěšky dobrovické (tab. VI.) činil od vegetační fáze „mladá“ do fáze „před květem“ od 57 cm do 72 cm v I. seči; od fáze „před květem“ do fáze „v květu“ v II. seči od 52 cm do 70 cm a v seči III. ve fázi „před květem“ 53 cm. Listy středně široké, barvy tmavozelené, květy barvy tmavě fialové.

(bobovitě) z r. 1955 ze st. statku Kyje

Obsah v 1 rostlině v g					%				
listů	stonků	květů		plodů	listů	stonků	květů		plodů
		rozvit.	nerozvit.				rozvit.	nerozvit.	
1,96	2,71	—	—	—	41,96	58,04	—	—	—
2,20	3,90	—	0,16	—	35,20	62,30	—	2,50	—
1,93	3,34	—	0,28	—	34,77	60,15	—	5,08	—
2,33	5,42	0,95	0,28	—	25,90	60,40	10,58	3,12	—
1,21	1,55	—	0,05	—	43,07	55,16	—	1,77	—

Hodnoty karoténu a vitamínu E u vojtěšky dobrovické

Největší obsah β -karoténu po přepočtení na sušinu (tab VII., graf 7) vykazuje tato vojtěška ve vegetační fázi „mladá“ v I. seči, a to 33,8 mg %, zatímco v ostatních fázích je patrný pokles. Ve vegetační fázi „před květem“ I. seče

VII. Obsah vody, veškerých látek dusíkatých, β -karoténu a E-vitamínu v původní substanci (v čerstvém stavu) a v sušině. *Medicago sativa* L. (vojtěška), čeleď Fabaceae (bobovitě) z r. 1955, ze st. statku Kyje

Pícnina	Vegetační fáze:	Seč	H ₂ O	Suš.	N × 6,25 v %		β -karotén v mg %		E vitamín v mg %	
					v		v		v	
					p. s.	suš.	p. s.	suš.	p. s.	suš.
Vojtěška	mladá	I	80,60	19,40	4,81	24,93	6,56	33,82	3,98	20,52
	před květem	I	80,44	19,56	4,18	21,43	5,8	29,65	9,96	50,92
	před květem	II	80,89	19,11	4,31	22,63	5,73	29,98	4,8	25,12
	v květu	II	78,28	21,72	4,06	18,93	4,44	29,64	8,7	40,05
	před květem	III	78,20	21,80	5,31	24,56	6,5	29,81	8,36	38,35

činí obsah karoténu 29,6 mg %; v II. seči 29,88 mg %; ve fázi „v květu“ II. seče 29,64 mg % a v III. seči ve fázi „před květem“ 29,81 mg %.

Zato však obsah vitamínu E ve fázi „před květem“ vykazuje dvakrát více než ve fázi „mladá“ v I. seči a skoro stejně ve II. seči ve vegetační fázi „před květem“ a „v květu“. Porovnáme-li jednotlivé seče ve vegetační fázi „před květem“, získáme tyto relativní hodnoty:

I. seč = 100 % vitamínu E v sušině,

II. seč obsahuje 50 % vitamínu E v sušině,

III. seč obsahuje 73 % vitamínu E v sušině.

I zde je patrný vzestup obsahu vitamínu E během vegetace proti klesání obsahu karoténu stářím rostliny.

Rovněž obsah veškerých látek dusíkatých stářím rostliny klesá spolu s obsahem karoténu.

Souhrn

Byla analysována vojtěška stupická, zastoupená třemi variantami, a vojtěška dobrovická a byl zjišťován obsah β -karoténu, vitamínu E, veškerých látek dusíkatých a obsah vody v jednotlivých vegetačních fázích a sečích. Zároveň byly sledovány vojtěšky z hlediska botanického. V následující souhrnné tabulce uvádíme nejdůležitější hodnoty.

Rozdíly výsledků v obsahu vitaminů svědčily o nestejnorození porostu, a tím o vznikajících chybách při odebírání neprůměrných vzorků z příslušného porostu.

U uvedených vojtěšek bylo zjištěno, že největší tvorba vitamínu E nastává až po maximálním nahromadění karoténu.



Varianty vojtěšek (Stupice) Vegetační fáze:		Seč	H ₂ O %	N × 6,25 v % v sušině	β-karotén v mg % v sušině	E vitamin v mg % v sušině
30/6	mladá před květem v květu	I	79,98	23,87	30,02	22,42
		I	75,24	22,50	25,36	25,93
		I	71,74	17,36	16,12	39,16
	mladá před květem v květu po odkvětu	II	77,64	24,98	32,16	22,10
		II	71,29	23,32	22,77	39,01
		II	70,88	18,75	10,06	43,85
		II	65,85	16,20	8,25	46,12
29/3	mladá před květem v květu	I	83,29	25,25	32,73	24,23
		I	74,55	18,22	17,09	27,40
		I	70,49	14,28	14,06	38,00
	mladá před květem v květu po odkvětu	II	81,08	24,87	34,12	19,25
		II	70,45	18,70	20,98	21,21
		II	66,12	16,68	16,44	37,63
		II	64,74	15,00	10,38	39,19
16/6	mladá před květem v květu	I	84,79	25,69	25,31	33,00
		I	79,14	15,31	20,09	38,16
		I	74,57	13,51	11,32	42,80
	mladá před květem v květu po odkvětu	II	83,72	26,19	26,28	31,12
		II	73,78	17,93	17,12	34,28
		II	67,84	14,28	12,20	44,30
		II	64,72	12,50	9,26	46,50
(Kyje)	mladá před květem	I	80,60	24,93	33,82	20,52
		I	80,44	21,43	29,65	50,92
	před květem v květu	II	80,89	22,63	29,98	25,12
		II	78,28	18,93	29,64	40,05
	před květem	III	78,20	24,56	29,81	38,35

V druhém sdělení budou uvedeny také analýsy různých odrůd pšenic, ječmenů a ovsů.

Výsledky analýs dalších odrůd vojtěšek, a to vojtěšky kanadské, české krajové, moravské krajové a brněnské violy budou uveřejněny v dalších číslech.

Literatura

1. Brockmann H., Schodderová H.: Ber. 74, 73, (1941). — 2. ČSN: 467007. — 3. Furter M., Meyer R.: Helv. Chim. Acta 22, 240, (1939). — 4. Kjölhede K., TH.: Biochem. J. 39, 493. (1945). — 5. Kofler M.: Helv. Chim. Acta 25, 1469, (1942). — 6. Murri I. K.: Biochimija 2, 831, (1937).

**Исследование β -каротина и витамина Е в корморастениях *Medicago sativa* L.
(люцерна посевная)**

В результате произведенного анализа ступицкой люцерны, представленной в трех вариантах, и люцерны добровицкой, было установлено содержание β -каротина, витамина Е, всех азотистых веществ и содержание воды в течение отдельных вегетационных фаз и укосов. Одновременно производились наблюдения за люцерной с ботанической точки зрения. В приводимой ниже сводной таблице указаны главные показатели:

Варианты люцерн (Ступице) Вегетационная фаза		Укос	H ₂ O %	N $\times$ 6,25 в % в сухом веществе	β -каротин в мг % в сухом веществе	Е витамин в мг % в сухом веществе
30/6	молодая до цветения в период цветения	I	79,98	23,87	30,02	22,42
		I	75,24	22,50	25,36	25,93
		I	71,74	17,36	16,12	39,16
	молодая до цветения в период цветения после отцветания	II	77,64	24,98	32,16	22,10
		II	71,29	23,32	22,77	39,01
		II	70,88	18,75	10,06	43,85
		II	65,85	16,20	8,25	46,12
29/3	молодая до цветения в период цветения	I	83,29	25,25	32,73	24,23
		I	74,55	18,22	17,09	27,40
		I	70,49	14,28	14,06	38,00
	молодая до цветения в период цветения после отцветания	II	81,08	24,87	34,12	19,25
		II	70,45	18,70	20,98	21,21
		II	66,12	16,68	16,44	37,63
		II	64,74	15,00	10,38	39,19
16/6	молодая до цветения в период цветения	I	84,79	25,69	25,31	33,00
		I	79,14	15,31	20,09	38,16
		I	74,57	13,51	11,32	42,80
	молодая до цветения в период цветения после отцветания	II	83,72	26,19	26,28	31,12
		II	73,78	17,93	17,12	34,28
		II	67,84	14,28	12,20	44,30
		II	64,72	12,50	9,26	46,50
К и й е	молодая до цветения	I	80,60	24,93	33,82	20,52
		I	80,44	21,43	29,65	50,92
	до цветения в период цветения	II	80,89	22,63	29,98	25,12
		II	78,28	18,93	29,64	40,05
	до цветения	III	78,20	24,56	29,81	38,35

Результаты, указывающие на различное содержание витаминов, свидетельствуют о разнородности растений, а также об ошибках при отборе образцов соответствующего растения, не имеющих характера среднего образца.

У указанных люцерн было установлено, что максимальное образование витамина Е наступает только после максимального накопления каротина.

Forschung über den β -Karotin- und Vitamin E-Gehalt der Futterpflanzen
Medicago sativa L. (Luzernerklée)

Der Luzernerklée aus Stupice verteten mit 3 Varianten und der Luzernerklée aus Dobrovice wurden analysiert. Der Gehalt an Beta-Karotin, Vitamin E, Gesamtstickstoff und der Wassergehalt bei den einzelnen Vegetationsphasen und Schnitten wurde festgestellt. Gleichzeitig wurden diese Luzernerklée-Varianten vom botanischen Gesichtspunkt verfolgt. In der nachstehenden Tafel führen wir die wichtigsten Werte an:

Ort: Luzernerklée-Varianten (Stupice)				H ₂ O %	N × 6,25 in % der Trocken- substanz	β Karotin in mg % der Trocken- substanz	E Vita- min in mg % der Trocken- substanz
Vegetationsphasen:		Schnitt					
30/6	jung vor der Blüte in der Blüte	I	79,98	23,87	30,02	22,42	
		I	75,24	22,50	25,36	25,93	
		I	71,74	17,36	16,12	39,16	
	jung vor der Blüte in der Blüte nach dem Abblüten	II	77,64	24,98	32,16	22,10	
		II	71,29	23,32	22,77	39,01	
		II	70,88	18,75	10,06	43,85	
		II	65,85	16,20	8,25	46,12	
	29/3	jung vor der Blüte in der Blüte	I	83,29	25,25	32,73	24,23
I			74,55	18,22	17,09	27,40	
I			70,49	14,28	14,06	38,00	
jung vor der Blüte in der Blüte nach dem Abblüten		II	81,08	24,87	34,12	19,25	
		II	70,45	18,70	20,98	21,21	
		II	66,12	16,68	15,44	37,63	
		II	64,74	15,00	10,38	39,19	
16/6		jung vor der Blüte in der Blüte	I	84,79	25,69	25,31	33,00
	I		79,14	15,31	20,09	38,16	
	I		74,57	13,51	11,32	42,80	
	jung vor der Blüte in der Blüte nach dem Abblüten	II	83,72	26,19	26,28	31,12	
		II	73,78	17,93	17,12	34,28	
		II	67,84	14,28	12,20	44,30	
		II	64,72	12,50	9,26	46,50	
	Ort: (Kyje)	jung vor der Blüte	I	80,60	24,93	33,82	20,52
I			80,44	21,43	29,65	50,92	
vor der Blüte in der Blüte		II	80,89	22,63	29,98	25,12	
		II	78,28	18,93	29,64	40,05	
vor der Blüte		III	78,20	24,56	29,81	38,35	

Die Vitamingehalts-Unterschiede bewiesen die Ungleichmäßigkeit des Gewächses und dadurch die Entstehung von Fehlern bei Abnahme von nicht durchschnittlichen Proben von dem betreffenden Gewächs.

Bei den angeführten Luzernerklee- Varianten konnte festgestellt werden, daß die intensivste Vitamin E-Bildung erst nach der maximalen Speicherung von Karotin antritt.

Nové způsoby úpravy penicilinových solí za účelem zvýšení jejich nutričního účinku a stability v krmivech

I. sdělení

Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их питательного действия и стабильности в кормах

I-oe сообщение

Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln

(I. Mitteilung)

B. RŮŽIČKA a Z. MÜLLER

Penicilin n. p., Roztoky u Prahy — ředitel dr. A. Mahler. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Praha — ředitel ing. J. Fořt

Došlo dne 15. VIII. 1957

Úvod

Objev penicilinu a jeho inhibičního vlivu na citlivé kmeny mikroorganismů vedl k rozsáhlému použití této látky ke kurativním účelům. Snad všechny obory lékařské vědy používají penicilinu s pronikavým úspěchem i u takových případů, jejichž prognosa by byla bývala dříve naprosto infaustní.

Je tedy zcela pochopitelné, že technologii výroby penicilinu byla věnována mimořádná pozornost. Původní způsob výroby fermentací se však zachoval až dosud a nebyl zatím předstižen metodou syntetickou.

Z dosud známé řady penicilinů byl podle dosažených zkušeností shledán nejúčinnějším a nejstálejším jedincem benzylpenicilin. Je získáván tak, že do živné pudy jsou přidávány prekursor (jako fenylacetamid, fenylactan amonný), které fermentační proces ovlivňují ve prospěch tvorby benzylpenicilinu. Tvorba ostatních druhů penicilinové řady je při tom zanedbatelná.

Pod pojmem penicilinu rozumíme dnes tedy výhradně některou ze solí nebo esterů benzylpenicilinu; tento je také jediným oficiálním penicilinem pod lékopisným označením *Penicillinum G*.

Všeobecná část

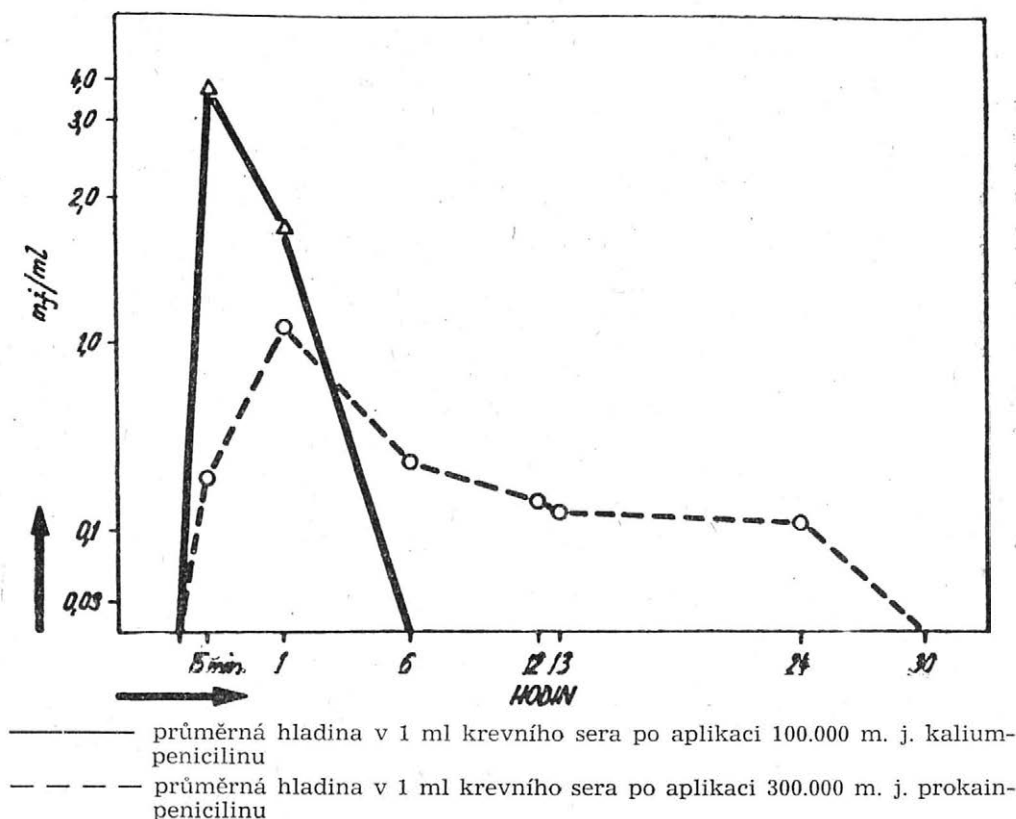
Benzylpenicilin je anionaktivního charakteru; není znám jako volná kyselina, s alkalickými kovy tvoří však soli, které jsou v krystalickém stavu a při dostatečně nízkém obsahu vlhkosti stálé.

Nejběžnějšího použití dochází draselná sůl benzylpenicilinu (dále jen kalium-penicilin), snadno rozpustná ve vodě. Tato základní vlastnost umožňuje při parenterální aplikaci rychlý přechod do krevního séra a vysokou počáteční koncentraci, na níž záleží rychlý účinek proti citlivému noxu. Vzhledem ke snadné rozpustnosti klesá však se snižující se koncentrací v krevním oběhu i specifický účinek a během několika hodin odezní úplně.

Rozpustné soli penicilinu poskytují tedy organismu výhodné koncentrace léčebné látky, je však nutné tyto aplikovat často, tj. po každých 3 až 4 hodinách. Vzhledem k tomu, že parenterální podání kalium-penicilinu je kromě toho dosti bolestivé, zatěžovaly by tyto často opakované aplikace jak pacienta, tak i ošetřujícího lékaře a léčba by byla proveditelná jen v hospitalizačních zařízeních.

Byly proto hledány jiné formy aplikace penicilinu G, a to zejména takové, jejichž bolestivost by byla co nejvíce zmírněna. Tato snaha měla pronikavý úspěch v objevu prokainiové soli penicilinu G (dále jen prokain-penicilin), v jejíž molekule je kyselina penicilinu vázána na bási prokainia (1).

Obr. 1. Srovnání průměrných hladin dosažených podáním 100.000 m. j. kalium-penicilinu a 300.000 m. j. prokain-penicilinu



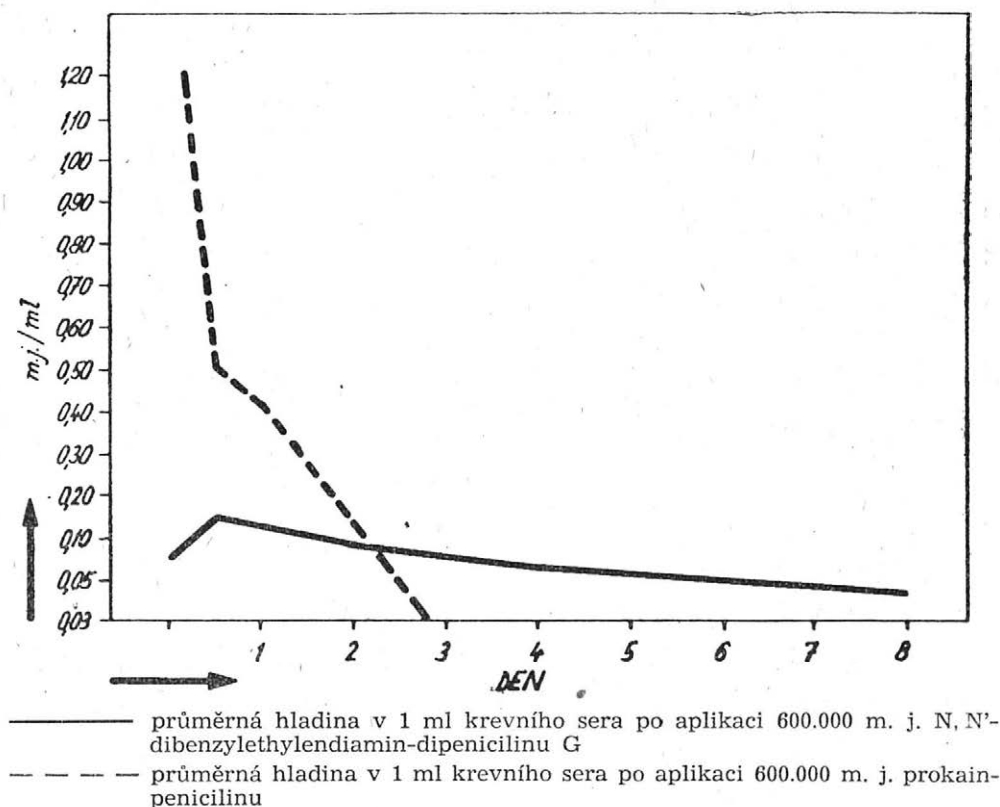
Vlivem prokainiové složky byla bolestivost při injekčním použití prakticky odstraněna. Při studiu prokainiové soli bylo kromě toho shledáno, že tato se rozpouští ve vodě až v poměru 1 : 250; s touto vlastností je pak spojeno značné zpomalení rozvoje specifického účinku v organismu. Objev prokain-penicilinu byl tedy zároveň dvojím úspěchem. Odstranil obtížnou bolestivost a prodloužil dobu účinku. Těchto výhod bylo ovšem dosaženo na úkor výšky hladiny penicilinu v krevním séru. Oproti kalium-penicilinu je hladina značně snížena — doba účinku je prodloužena přibližně na 24 hodiny.

Rozdíl v účinku kalium-penicilinu a prokain-penicilinu je zachycen v diagramu 1.

Další objevy obohatily řadu penicilinových solí o vazby s organickými aminy, z nichž sůl benzyl-penicilinu s N,N'-dibenzylethylendiaminiem se stala poměrně nejběžnější. Její rozpustnost je tak silně snížena, že 1 g se rozpouští přibližně až v 5000 ml vody. S tím tedy souvisí ještě další zpomalení účinku; dibenzylethylendiaminová sůl udržuje svůj účinek po dobu 1 až 7 dnů, ovšem při poměrně nízké hladině v krevním séru. Diagram 2. podává srovnání účinků stejných dávek prokain-penicilinu a dibenzylethylendiamin-dipenicilinu G.

Diagramy 1. a 2. zřetelně ukazují, že bez rychlého a energického účinku kalium-penicilinu se nelze obejít zvláště tam, kde je nutno zasáhnout proti méně citlivým kmenům s vysokým bakteriostatickým prahem (3).

Obr. 2. Srovnání průměrných hladin dosažených podáním 600.000 m. j. N, N'-dibenzylethylendiamin-dipenicilinu G a 600.000 m. j. prokain-penicilinu



Produkce penicilinu byla po těchto poznatcích zaměřena z převážné části na výrobu prokain-penicilinu a kalium-penicilinu. Obě soli jsou podávány buď samostatně nebo v kombinaci, v níž se ve svých vlastnostech doplňují.

Stejně vlastnosti, které jeví obě tyto nejběžnější soli při aplikaci parenterální, projevují se i při podání perorálním. Prokain-penicilin odolává při své malé rozpustnosti žaludečním šťávám lépe nežli kalium-penicilin, který pro snadnou rozpustnost rozvíjí sice svůj účinek mnohem rychleji, trpí však zároveň v kyselém prostředí žaludku snižováním plného účinku o část, která při pasáži žaludkem podlehne inaktivaci.

Má-li být tedy dosaženo při perorálním podání kalium-penicilinu dobrých výsledků, je nutné jej při průchodu žaludkem vhodným způsobem chránit.

Totéž platí pro použití penicilinu přidávaného jako nutriční adjuvans do krmných směsí; hospodářská zvířata přikrmovaná nepatrným přídatkem penicilinu vykazují vyšší užitkovost tehdy, může-li penicilin rozvinout svůj účinek až ve střevním traktu.

Kalium-penicilin přidávaný do krmných směsí bez jakékoli ochrany nesnese tedy pochopitelně v hospodářských výsledcích srovnání s prokain-penicilem. Byl-li použit v přirozené formě měl proti kontrolním skupinám zvířat účinek zcela nepatrný až sotva pozorovatelný, protože v silně kyselé žaludeční tekutině dochází k inaktivaci nechráněného kalium-penicilinu dříve než může svůj účinek vůbec uplatnit (4,5).

Tyto okolnosti vedly k tomu, že se pro nutriční účely vžila téměř výhradně výroba prokain-penicilinu a kalium-penicilin byl v této oblasti považován za prakticky neúčinný.

Poškozování léčiv kyselým prostředím žaludku lze však zabránit tím, že se jejich dispensační forma povléká látkou, která při průchodu žaludkem léčivo chrání. Tato obdukcí látka musí ve zcela slabé vrstvě odolat kyselé žaludeční tekutině a být naopak ve střevu odstranitelná tak, aby účinná látka byla opět uvolněna a mohla rozvinout svůj účinek uvnitř střeva nebo být resorbována jeho stěnou.

Předpokládáme-li tedy, že je kalium-penicilin v prostředí žaludku dočasně chráněn a může až po přechodu do tenkého střeva rychle působit, můžeme také předpokládat, že jeho účinek nejen dosáhne, ale i předčí působení prokain-penicilinu, a to proto, že specifický účinek rozpustných solí je jak rychlejší tak i vyšší nežli je tomu u solí téměř nerozpustných.

Není ovšem vyloučeno, že salol sám má při svých desinfekčních vlastnostech určitý inhibiční vliv na mikroflóru jak krmiv, tak i na flóru střevní. Po případě lze připustit jeho ochranný vliv vůči enzymu penicilináse, kteréžto okolnosti mohou přispívat k jeho příznivému vlivu.

Při použití suchých triturací s chráněným kalium-penicilem dostávají chovná zvířata stálý příliv rychle účinkujícího antibiotika právě ve vhodných intervalech spontánního požívání potravy. Křivka dozrávajícího účinku navazuje pravděpodobně kontinuálně na křivku účinku začínajícího, takže antibiotického vlivu je využito plněji a účelněji nežli u prokain-penicilinu.

Je-li v krmivu použito prokain-penicilinu jsou stále požívány další dávky daleko dříve než dojde k doznění účinku dávek předešlých a tak dochází k neúčelné kumulaci penicilinu, nepřihlížíme-li při tom ani k nevhodné přítomnosti kationu prokainia samého; případné rozkladné produkty této organické složky přispívají k degradaci penicilinu rychleji — zejména za spolupůsobení vlhkosti —, než je tomu u kalium-penicilinu, takže použití prokainiové složky ztracená nepříznivý vliv i pro stabilitu její penicilinové sole.

Prokainia vůbec bylo použito k přípravě soli s penicilinem G jen proto, aby byla snížena postaplikační bolestivost při parenterálním podání; teprve když byla kromě toho poznána malá rozpustnost této látky ve vodě vžilo se všeobecně její používání jak už bylo dříve řečeno.

Experimentální část

Účelem počátečních pokusů, prováděných již koncem roku 1954, bylo nalézt prostředek, který by chránil kalium-penicilin při průchodu žaludkem a dovolil mu naopak v tenkém střevu rychlé a plné uplatnění specifického účinku.

V tomto případě nelze použít běžné obdukční techniky a obdukčních látek pro dispensační formy léčiv, protože při ní jsou povlékány určité tvary účinné látky jako celek (tablety, pilulky), který nebude dále dělen nebo jinak zpracováván.

U antibiotika pro krmné účely se naopak požaduje mikrokystalická sypká struktura, aby mohlo být rozmícháno co nejstejněměrněji do triturací s vhodnými krmnými látkami podobné zrnitosti a specifické váhy (sušené mléko, sojová mouka apod.).

Tyto triturace jsou pak dále míseny s jemně mletým sušeným krmivem v konečném poměru 10 mg na 1000 g krmné směsi. Je tedy zřejmé, má-li být takováto směs opravdu homogenní, musí být obdukční postup i materiál volen tak, aby vrstvou ochranné látky byly obdány pokud možno jednotlivé krystaly nebo nejvýše menší shluky krystalů takto zpracovávaného penicilinu.

Po obdukci a sušení musí být upravený kalium-penicilin v suchém stavu dokonale sypký, obdukované krystaly se nesmějí vzájemně slepovat a musí procházet bez obtíží sítem.

Kromě přímého vlivu prostředí zažívacího traktu je však penicilin rozptýlený v nepatrné koncentraci v krmné směsi vystaven nepříznivým vlivům během skladování. Je to vliv nejrozličnějších degradačních zplodin tuků a bílkovin, které jsou součástí krmné směsi, dále vliv plynů a zejména pak škodlivý vliv vzdušné vlhkosti.

Penicilinem obohacená krmiva jsou uchovávána pouze v papírových pytlích a namnoze v prostředích, které neodpovídá ani základním podmínkám skladování takových přípravků.

Pro léčebné účely je penicilin uchováván vzduchotěsně uzavřen ve skleněných obalech a musí mít přesto vymezenou expirační dobu, po kterou je jeho stabilita zaručována. Je tedy zřejmé, že účinnost penicilinu vmíseného bez jakékoli ochrany do krmných směsí a uchovávaného pouze v papírových obalech je tím spíše omezena v závislosti na době a skladovacím prostředí.

Volba vhodného obdukčního prostředku, který by i uvedené rušivé nebo škodlivé vlivy účinně omezoval, byla základním problémem zamýšlené úpravy. Zvolená látka musí být především

1. dobře rozpustná v takovém rozpouštědle, v němž se penicilin rozpouští naopak co nejméně; tak je možno jej pouze suspendovat v roztoku obdukční látky a po pozvolném odpaření rozpouštědla získat přímo obdukovaný produkt v sypké jemně zrnité formě,

2. poskytovat obdukované látce ochranu proti žaludeční šťávě, jejíž acidita může dosahovat až hodnoty pH 1,6,

3. zvyšovat stabilitu antibiotika v krmné směsi i při skladování v nevhodných podmínkách.

Z farmaceutické praxe je známa celá řada látek, které zvyšují odolnost léčiva vůči žaludeční šťávě. Z této řady musely být vyloučeny především ty, které nedávají záruku, že nedojde k případné inkompatibilitě s antibiotikem samotným. Dále látky, které přes své výhodné vlastnosti obdukční by mohly při delším podávání žaludeční sliznice dráždit nebo zasahovat rušivě do trávicího procesu. A konečně i takové látky, jimiž obalené částice lnou vzájemně natolik, že výsledný produkt by byl obtížně síťován a dosažený povlak opět stírán.

Pro předběžné zkoušky byly vybrány keratin, stearin a fenylester kyseliny salicylové (salol).

Keratin, který je uváděn v některých lékopisech jako obdukční látka, se používá v lihovém roztoku buď kyselém nebo zásaditém. Roztok může být zvolen tak, jak toho vyžaduje citlivost léčiva vůči kyselé nebo zásadité reakci. Roentgenologické snímky keratinem povlečených pilulek ukazují, že k rozpadu dochází ve střevech během tří hodin; jiné zkoušky však poskytují vzájemně si odporující výsledky, které jsou přičítány kolísavé kvalitě keratinu (6). Ani u nás se nepodařilo získat keratin definované jakosti, nehledě k tomu, že acidita nebo alkalita obdukčního roztoku měla při obdukci nepříznivý vliv na kalium-penicilin. Od dalších pokusů s touto látkou bylo proto upuštěno.

Jako další byl zkoušen stearin. Světová galenická literatura jej v této souvislosti uvádí jen zřídka. Pojem stearinu sám se různí podle jednotlivých autorů i oficiálních požadavků. Podle obchodních zvyklostí se připouští ve stearinu, jako směsi tuhých mastných kyselin, až 4 % obsahu kyseliny olejové (7), nebo se dokonce pod jménem stearin rozumí i glyceryl-ester kyseliny stearové (8).

Československý lékopis požaduje pod označením Stearinum směs pevných mastných kyselin, hlavně kyseliny stearové ($C_{17}H_{35}COOH$) a palmitové ($C_{15}H_{31}COOH$) jako hmotu bílou, bez zápachu a chuti (9). Běžné obchodní druhy stearinu však těmito požadavkům zřídka odpovídají a nabývají během uchovávání žluklého zápachu i chuti, zvláště není-li stearin zcela čistý (8).

Jako směs mastných kyselin by měl být stearin vhodným enterosolventním prostředkem. Uvádí se však, že je-li obdukcce provedena samotnými mastnými kyselinami a jejich deriváty, není jeho vrstva dostatečně mechanicky pevná a stěží odolává peristaltickému tlaku (10). Jako vhodnější než mastné kyseliny samy, je popisován jejich přírůstek k jiným obdukčním látkám. Na příklad šelak, který netvoří sám dosti vhodný povlak, získává přírůstkem ricinového oleje větší citlivost vůči enzymům střevních tekutin a po průchodu žaludkem na lačno se rozpadá a uvolňuje účinné jádro v tenkém střevu během půl až jedné hodiny (6). Této kombinace se používá i v některých oficiálních galenických předpisech.

Jak již bylo řečeno, určitou nevýhodou stearinu je zejména jeho kolísavá jakost a nestálost, je-li ve styku se vzduchem na velkém povrchu.

I. pokus

Stanovení optimálních podmínek pro obdukcí kalium-penicilinu stearinem a sledování stability vybraného vzorku.

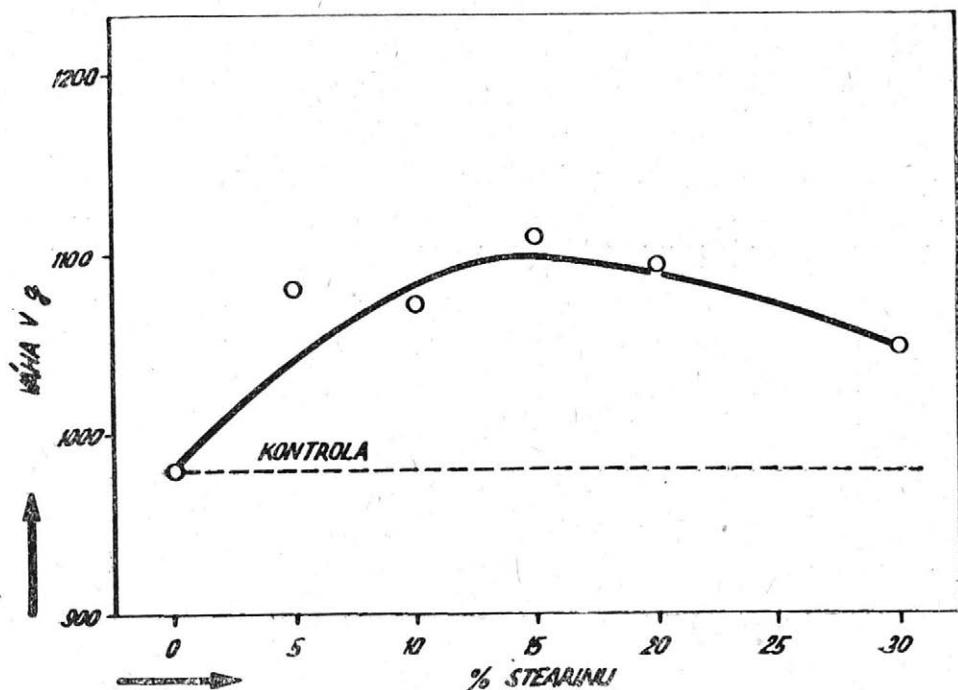
Pro pokus byly připravovány vzorky tak, že kalium-penicilin byl vmísen do roztoku stearinu v chloroformu v takovém poměru, aby vznikla hmota konsistence řídké pasty. Tato hmota byla pak promíchávána tak dlouho, až byla největší část rozpouštědla odpařena a obdukovaný produkt byl posléze dosušen ve vakuové sušárně. Na konec byl suchý produkt přesítován.

Tímto postupem bylo připraveno 5 vzorků:

- vzorek 1 byl obdukován 5 % stearinu,
- vzorek 2 byl obdukován 10 % stearinu,
- vzorek 3 byl obdukován 15 % stearinu,
- vzorek 4 byl obdukován 20 % stearinu a
- vzorek 5 byl obdukován 30 % stearinu.

Procento obdukující látky je zde počítáno ve váhových procentech na výsledný produkt po vysušení.

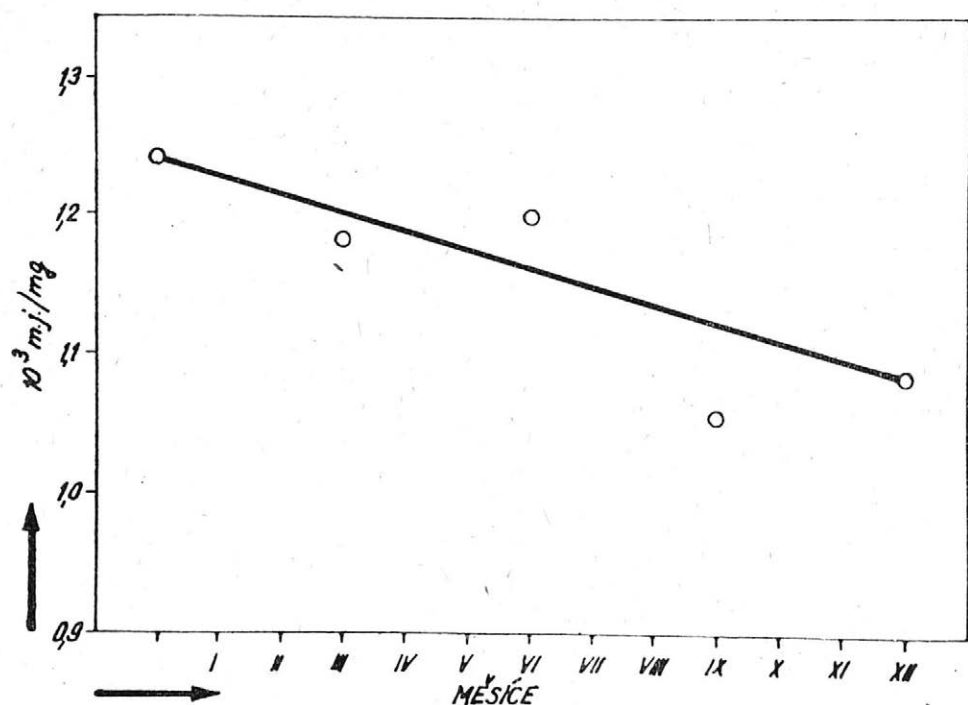
Každý vzorek byl zkoušen v běžné krmné směsi na skupině 25 kuřat a výsledky pokusu ukázaly, že nejvhodnější přírůstek je přibližně 15 % obdukční látky; vyšší procento obdukční látky nejeví již další příznivý vliv, jak je patrné z diagramu 3.



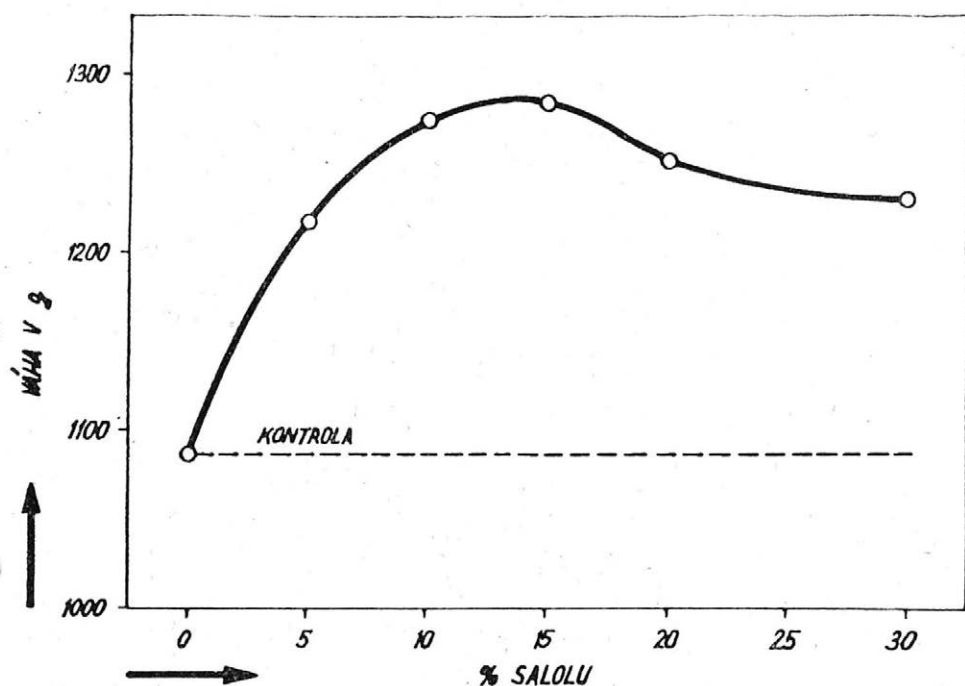
br. 3. Vliv obdukčního přídatku stearinu na nutriční účinek kalium-penicilinu

Na základě tohoto poznatku byl kalium-penicilin obdukovaný 15 % stearinu vmíchán do běžné krmné směsi pro hrabavou drůbež v koncentraci 10.000 m. j. vzorku na 1000 g krmiva. Účinnost této krmné směsi dosáhla očekávaného předpokladu a vyrovnala se téměř účinku souběžně zkoušeného prokain-penicilinu, použitého ve stejné koncentraci.

Přípravek sám však neuspokojil zcela v požadavcích na stabilitu při skladování. Již po tříměsíčním uchovávání v penicilinových lahvičkách došlo k mírné změně barvy a alterování zápachu. Ve sledování přípravku bylo pokračováno ve tříměsíčních intervalech až do uplynutí jednoho roku od data přípravy; uvedené



Obr. 4. Sledování stálosti kalium-penicilinu obdukovaného 15 procenty stearinu



Obr. 5. Vliv obdukčního přídavku salolu na nutriční účinek kalium-penicilinu

nedostatky se ještě prohloubily a účinnost klesla celkem na 84 % původního obsahu účinných jednotek na 1 mg látky. Průběh ročního sledování je vyznačen v diagramu 4.

II. pokus

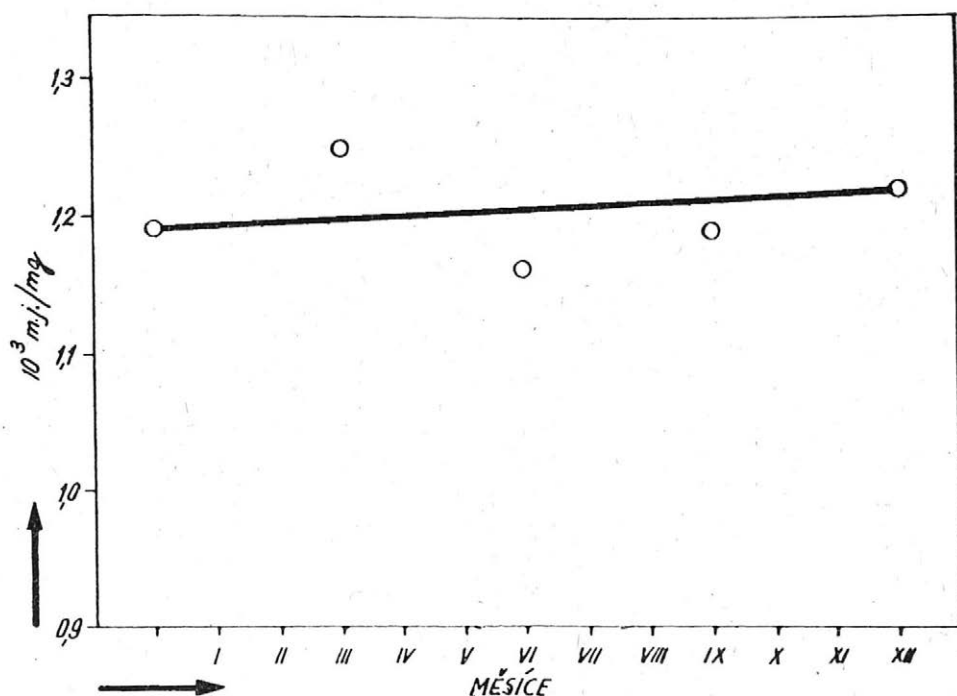
Biologické testování optimální obdukce kalium-penicilinu salolem a sledování stability vybraného vzorku.

Po získaných zkušenostech přistoupili jsme ke zkouškám s fenylesterem kyseliny salicylové. Tato látka je klasickým galenickým prostředkem pro enterosolventní lékové formy. Ve vodě a v kyselinách je téměř nerozpustný; rozpouští se v mírně alkalické střevní tekutině buď pro přítomnost fenolické skupiny nebo působením hydrolytických střevních esteráz, podporovaných peristaltickými pohyby. Její bod tání 42–43° C je blízký teplotě tělesné a usnadňuje tak ve střevním traktu uvolnění účinné látky (11–16).

Důležitá je správná volba síly obdukční vrstvy; nemá přesahovat 200 μ , i když se v některých případech ukazuje takováto vrstva jako nedostatečně odolná vůči žaludeční tekutině. Silnější povlaky skrývají naopak tu nevýhodu, že poskytují síce spolehlivou ochranu v žaludku, avšak střevní fermenty nestačí pak příliš silnou vrstvou salolu hydrolyzovat a uvolnit účinné jádro (6).

Zřetelnou výhodou salolu je to, že proti oběma předešlým obdukčním látkám jej lze běžně získat v přesně definované jakosti; mimo to je jeho stabilita prakticky neomezená (9).

Pro pokusy s touto obdukcí byla připravena řada pěti vzorků obdobným způsobem jako byly připraveny vzorky 1 až 5 kalium-penicilinu obdukovaného stearinem. Obdukce byla provedena 5, 10, 15, 20 a 30 váhovými procenty salolu.



Obr. 6. Sledování stálosti kalium-penicilinu obdukovaného 15 procenty salolu

Velmi podobně jako v předešlém pokusu se stearinem projevil se i u salolu přibližně 15% obdukční přídavek jako nejvhodnější, jak je patrné z průběhu křivky na diagramu 5.

Vzorek kalium-penicilinu obdukovaný 15% salolu byl potom uchováván pro další sledování stability. Ve tříměsíčních intervalech byla sledována jeho stálost až do jednoho roku od data přípravy. Při posuzování podle fyzikálně-chemických kritérií lékopisných požadavků nezměnily se po tuto dobu vlastnosti vzorku téměř vůbec.

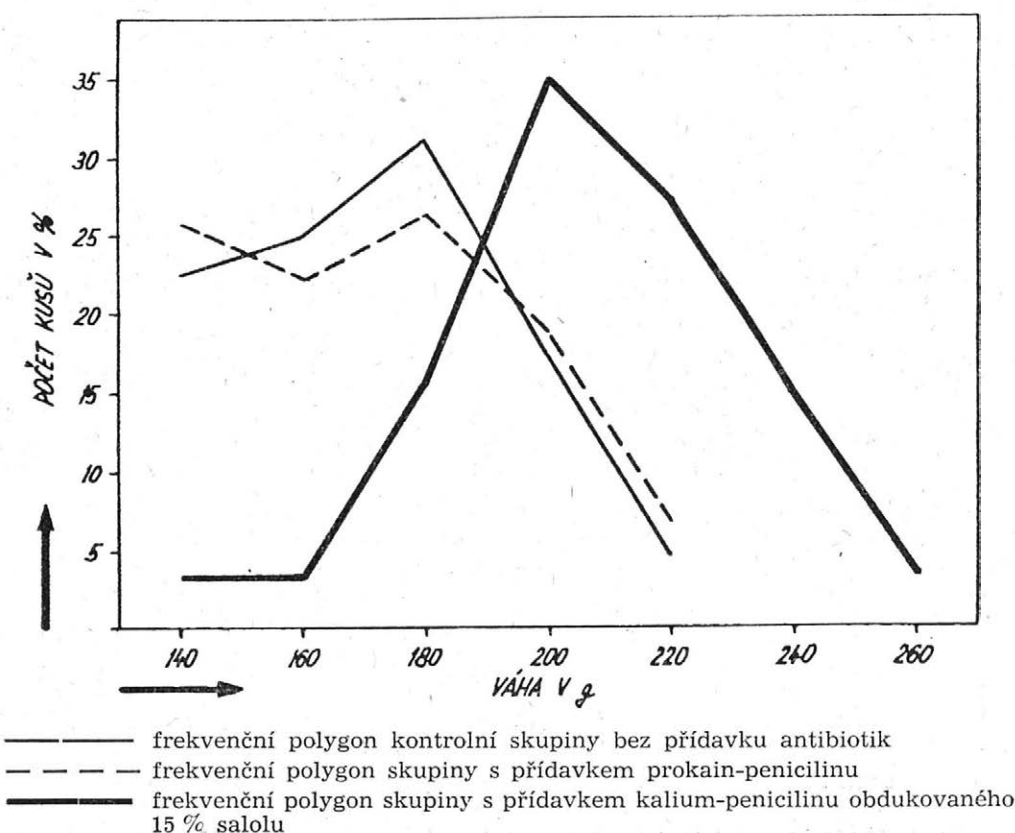
Biologická účinnost byla sledována oficiální šestiplotnovou metodou a po celý rok nebyla pozorována prakticky žádná změna v obsahu účinných mezinárodních jednotek v 1 mg vzorku. Průběh ročního sledování je vyznačen v diagramu 6.

III. pokus

Srovnání účinku kalium-penicilinu obdukovaného 15% salolu s účinkem prokain-penicilinu v biologickém testu.

Z předchozích pokusů vyplynulo, že nejvyšší účinek i stálost má kalium-penicilin, který byl obdukován popsáním technologickým postupem přibližně 15% salolu. Z výsledků pokusů nebylo však dosud patrné, jaký účinek má tento obdukovaný přípravek při porovnání se známým nutričním vlivem dosud běžně po-

Obr. 7. Znázornění variace váhy kuřiček ve stáří 4 týdnů po aplikaci prokain-penicilinu a kalium-penicilinu obdukovaného 15% salolu.



užívaného prokain-penicilinu. Byl proto proveden srovnávací biologický test na 1000 kuřatech plemene Leghorn obojího pohlaví, chovaných za stejných podmínek.

Pro pokus byla připravena jednak krmná směs, která obsahovala v jednom kilogramu 5000 m. j. kalium-penicilinu obdukovaného asi 15 % salolu, jednak krmná směs se stejným obsahem účinných jednotek prokain-penicilinu.

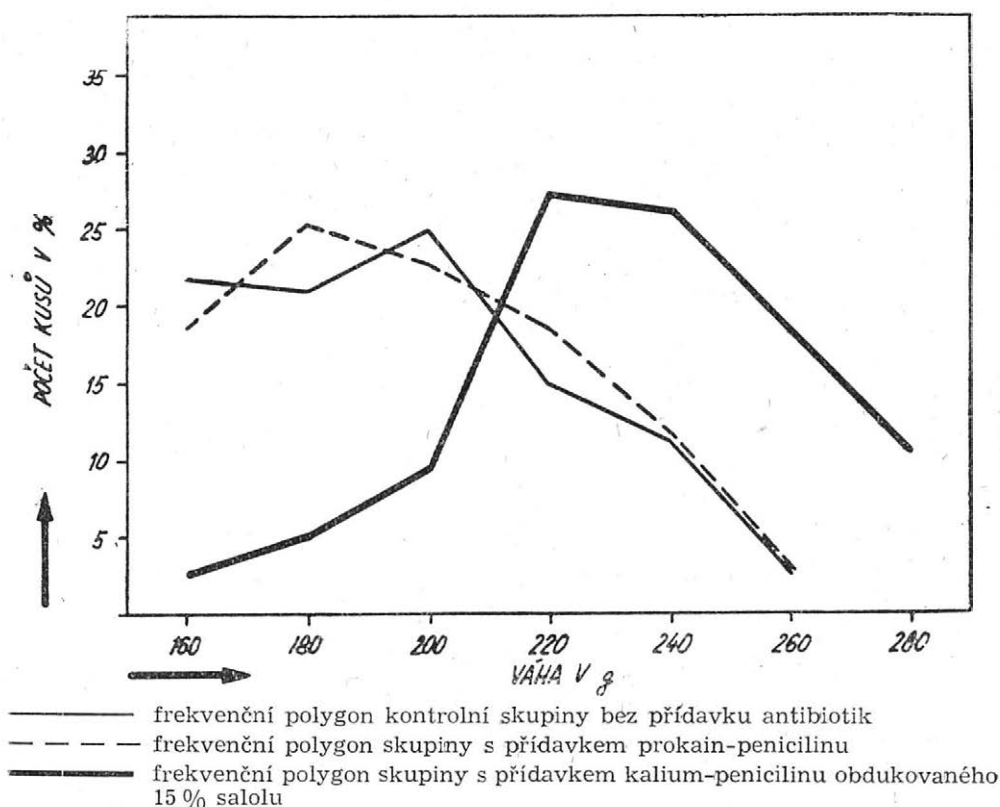
Směs obsahující obdukovaný kalium-penicilin předčila svou nutriční účinností očekávaný předpoklad a proti souběžně zkoušenému prokain-penicilinu vykazala překvapivý vliv na vzestup váhového přírůstku kuřat ve stáří čtyř týdnů. Výsledek tohoto srovnání je zachycen na dvou diagramech, z nichž diagram 7. platí pro kuřičky a diagram 8. pro kohoutky. Podrobné výsledky biologických pokusů budou popsány ve II. sdělení této práce.

IV. pokus

Porovnání stability kalium-penicilinu obdukovaného asi 15 % salolu s prokain-penicilinem v krmných koncentrátech.

Po zjištění vysokého nutričního účinku salolem obdukovaného kalium-penicilinu zbývalo ještě ověřit jeho stálost v krmných koncentrátech, skladovaných za podmínek, které se blíží technické praxi. Tyto koncentráty jsou běžně vyráběny smísením penicilinu s vysušenými jemně mletými otrubami.

Obr. 8. Znázornění variace váhy kohoutků ve stáří 4 týdnů po aplikaci prokain-penicilinu a kalium-penicilinu obdukovaného 15 % salolu



Srovnání bylo provedeno na vzorcích obsahující obdukovaný kalium-penicilin a prokain-penicilin.

Vzorky pro pokus byly připraveny tak, že pro vzorek označený A bylo smícháno 5,000.000 m. j. prokain-penicilinu se 45 g pšeničných otrub a pro vzorek B bylo smícháno 5,000.000 m. j. kalium-penicilinu obdukovaného asi 15 % sálem a fixační látkou se 45 g pšeničných otrub. K přípravě bylo použito jemně mletých pšeničných otrub z běžné distribuce, obsahující 9,2 % vlhkosti.

Vzorky A i B byly uloženy po sedm měsíců od data přípravy v jednoduchých papírových sáčcích na rámu laboratorního okna, aby byly během skladování vystaveny přímo výkyvům teploty, vlhkosti a světla i změnám povětrnosti v uvedeném časovém rozmezí. Od ledna do července průběhem roku byla v měsíčních intervalech stanovována u obou vzorků účinnost na 1 mg látky oficiální šestiplotnovou metodou; biologická metodika byla zvolena proto, aby byly stanoveny pouze biologicky účinné jednotky sledovaných antibiotik, vmísených do zkoušených koncentrátů.

Výsledek pozorování stálosti obou vzorků je uveden ve dvou dalších diagramech; křivka proložená na diagramu 9. sleduje průběh změn ve stálosti vzorku A, křivka proložená na diagramu 10. zachycuje změnu stálosti vzorku B.

Souhrn

Byla popsána výroba a použití nových krmných penicilinových přípravků, které mají proti dosud používaným krmným preparátům značné výhody.

Protože jde zejména o rozpustné soli penicilinu G musela být k jejich přípravě zvolena především vhodná obdukční látka, která by je chránila při průchodu žaludkem a uvolnila je naopak pro včasné rozvinutí účinku již v tenkém střevu. Kromě toho musela být nalezena vhodná technologická metoda pro obdukcí, aby výsledný produkt byl dostatečně sypký a homogenní pro potřebu výroby krmných koncentrátů.

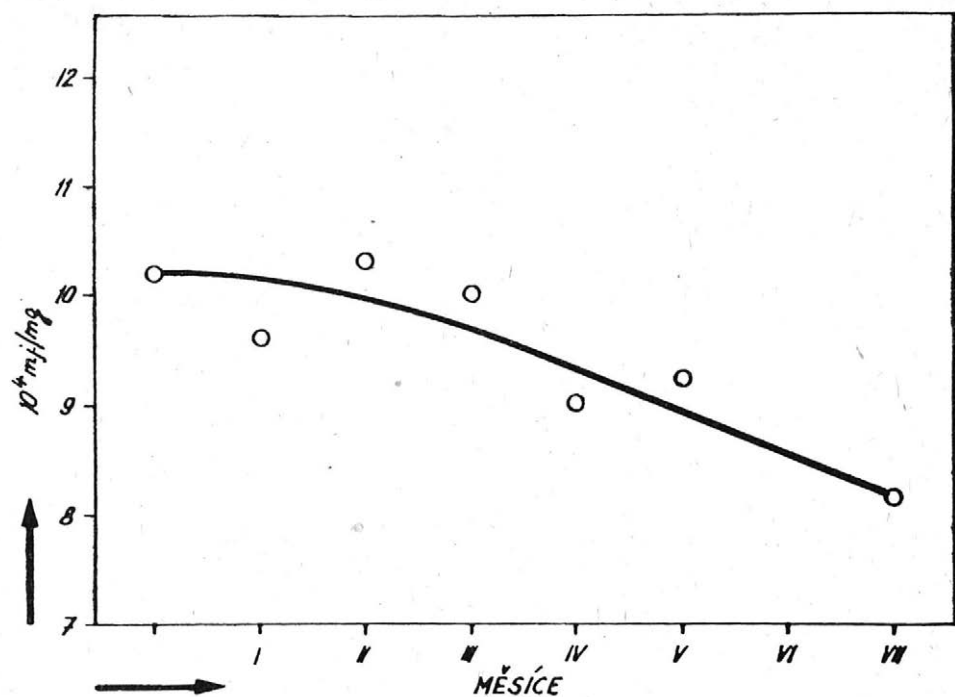
Po základních pokusech byly vybrány a postupně zkoušeny keratin, stearin a fenylester kyseliny salicylové.

Od keratinu bylo upuštěno pro jeho nestandardnost a galenické potíže při zpracování.

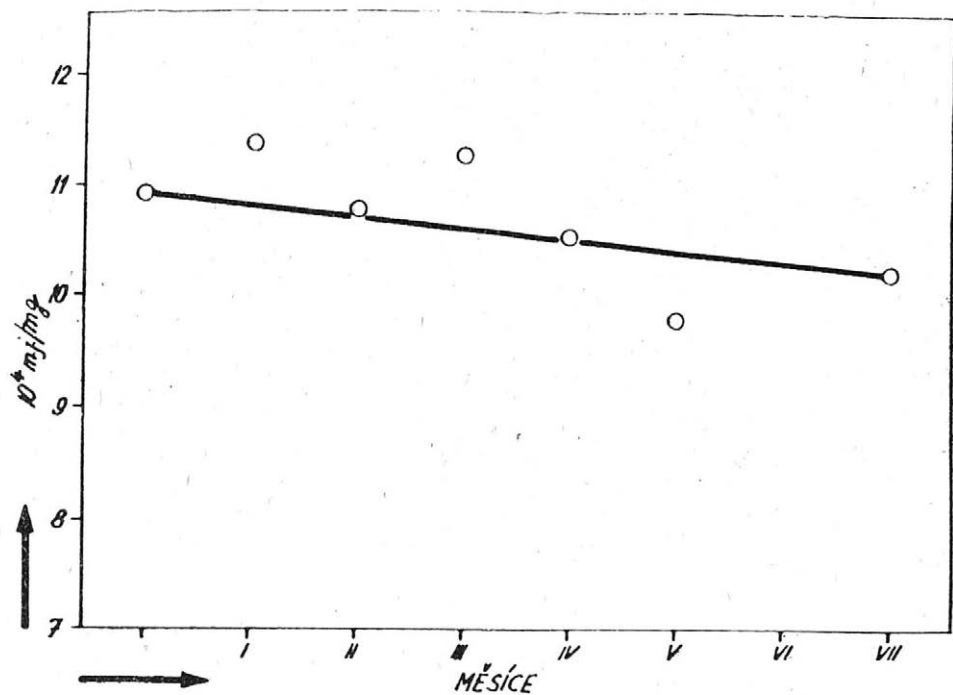
Obdukci draselné soli penicilinu G asi 15 % stearinu bylo dosaženo u hrabavé drůbeže téměř stejných výsledků jako u kontrolních skupin, příkrmovaných stejnou technikou prokain-penicilinem G. Přípravek sám však nebyl dostatečně stálý a pro další skladování není vhodný. Během ročního uchovávání ve skleněném obalu změnil částečně barvu i zápach a jeho účinnost poklesla na 84 % původního obsahu účinných jednotek.

Obdukci draselné soli penicilinu G asi 15 % vhodně fixovaného fenylesteru kyseliny salicylové bylo dosaženo u hrabavé drůbeže zřetelně a velmi průkazně vyšších výsledků než u kontrolních skupin příkrmovaných stejnou technikou prokain-penicilinem G. Přípravek se projevil jako prakticky stálý a za přepokladu přiměřeného uskladnění je schopen uchovávání po řadu měsíců.

Výrobní náklady na přípravu obdukované draselné soli penicilinu G mají být při ekonomickém uspořádání technologie nižší než je tomu u jiných obdobných krmných přípravků.



Obr. 9. Sledování stálosti krmného koncentrátu s přidavkem prokain-penicilinu



Obr. 10. Sledování stálosti krmného koncentrátu s přidavkem kalium-penicilinu obdukovaného 15 % salolu.

Draselná sůl penicilinu G obdukována vhodně fixovaným fenylesterem kyseliny salicylové se jeví na základě provedených pokusů jako nejúčinnější penicilinový přípravek pro krmné účely.

Literatura

1. Bier, Braun, Kümmell: Chirurgische Operationslehre, Leipzig, 1952.
- 2. Vlček V., Vondráčková J., Šmahel O.: Čas. lék. českých 94, 1.404, (1955).
- 3. Vlček V., Smolek K.: Aplikační formy penicilinu, Praha, 1954.
- 4. Müller Z.: Sborník ČSAZV Živočišná výroba 2, 81, (1956).
- 5. Müller Z.: Antibiotika ve výživě hospodářských zvířat, Praha, 1956.
- 6. Gstirner F.: Einführung in die Arzneibereitung, Stuttgart, 1949.
- 7. Harry G. R.: The Principles and Practice of Modern Cosmetics, London, 1948.
- 8. Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Berlin, 1944.
- 9. Československý lékopis, vydání druhé, 1954.
- 10. Schweiz. Ap. Ztg., 95, 153, (1957).
- 11. Wojahn H.: Kurze Einführung in die galenische Pharmazie, 1951.
- 12. Czetsch-Lindenwald: Pharmazeutische Technologie, Wien, 1948.
- 13. American Pharmacy. J. B. Lippincott Comp., Philadelphia, London, Montreal, 1945.
- 14. Bauer Ch. W., Geraughthy R. J.: Medicamenta (Edición para el Farmaceutico) 6, 25-28, (1954).
- 15. Farmacopea ufficiale del Regno d'Italia, 6. Ed., 1940.
- 16. Arends G., Arends J.: Die Tablettenfabrikation und ihre maschinellen Hilfsmittel, Berlin, 1938.

Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их питательного действия и стабильности в кормах

I-ое сообщение

Авторы описывают производство и способ применения новых кормовых пенициллиновых препаратов, которые по сравнению с до сих пор применяемыми кормовыми препаратами имеют значительные преимущества.

Так как вопрос касается в частности растворимых солей пенициллина G, было необходимо для их приготовления выбрать прежде всего подходящее вещество для обдукции, которое предохраняло бы их при прохождении желудком и освобождало для своевременного воздействия только в тонких кишках. Кроме того необходимо было найти соответствующий технологический метод для обдукции, чтобы готовый продукт был в достаточной степени сыпким и однородным для нужд производства кормовых концентратов.

После проведения основных опытов были выбраны и постепенно подвергнуты испытаниям: кератин, стеарин и фенолэферы салицилловой кислоты.

Опыты с салициллом не производились вследствие его нестандартности и галеновых затруднений при обработке.

Обдукцией калиевой соли пенициллина G приблизительно 15% стеарином был достигнут у домашних кур почти одинаковый результат как и у контрольных групп, которых, при применении одинаковой техники прикармливали прокаин-пенициллином G. Препарат однако сам по себе не был в достаточной степени стабильным и не был пригодным для дальнейшего хранения. В течение годичного

хранения в стеклянном флаконе он изменил частично цвет и запах, а его эффективность снизилась до 84 % первоначального содержания действующих единиц:

Обдукцией калиевой соли пенициллина G, приблизительно 15 % надлежаще фиксированным фенолэфиром салицилловой кислоты, у домашних кур с полной очевидностью и весьма достоверно были достигнуты более значительные результаты, нежели у контрольных групп, которых, применяя одинаковую технику, прикармливали прокаин-пенициллином G. Препарат проявил себя как практически стабильный и при соблюдении соответствующих условий хранения может храниться в течение целого ряда месяцев.

Калиевая соль пенициллина G, обдуцированная надлежаще фиксированным эфиром салицилловой кислоты, на основании произведенных опытов является наиболее эффективным пенициллиновым препаратом для кормовых целей.

Издержки производства обдуцированной калиевой соли пенициллина G по сравнению с остальными аналогичными кормовыми препаратами являются значительно более низкими; таким образом ее применение является во всех отношениях хорошим вкладом в самую широкую сельскохозяйственную практику.

Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln

(I. Mitteilung)

Die Erzeugung und Anwendung neuer Penizillin-Nährpräparate, welche im Vergleich mit den bisher angewandten Präparaten bemerkenswerte Vorteile aufweisen, wurde beschrieben.

Da es sich namentlich um lösliche Penizillin-G-Salze handelte, mußte zu deren Vorbereitung vor allem ein geeigneter Obduktionsstoff gewählt werden, durch welchen dieselben beim Passieren des Magenraumes geschützt würden, um im Gegenteil ihre Wirkung rechtzeitig erst im Dünndarm zu entfalten. Außerdem mußte eine geeignete technologische Obduktionsmethode gefunden werden, damit das Endprodukt genügend schütter und homogen ist und dadurch sich für die Zubereitung von Futterkonzentraten eignet.

Zu diesem Zwecke wählte und erprobte man successive bei den Grundversuchen: Keratin, Stearin und Phenylester der Salzylsäure. Die Versuche mit Keratin mußten aufgegeben werden, da das Keratin nicht standardfest war und galenische Schwierigkeiten bei der Verarbeitung aufwies.

Durch Obduktion des Penizillin-G-Kalisalzes mit etwa 15 % Stearin erreichte man beim Scharrgeflügel beinahe dieselbe Resultate, wie bei den mittels derselben Technik mit Prokain-Penizillin-G beigefütterten Kontrollgruppen. Das Präparat allein war jedoch nicht genügend beständig und eignet sich deshalb für eine längere Aufbewahrung nicht. Im Laufe einer ein Jahr dauernden Aufbewahrung in einem Glasgefäß trat eine teilweise Farben- und Geruchsänderung ein und der Wirkungsgrad sank auf 84 Prozent des ursprünglichen Gehaltes an Wirkstoffeinheiten.

Durch Obduktion des Penizillin-G-Kalisalzes mit etwa 15 % zutreffend fixierten Salzylsäure-Phenylesters erreichte man beim Scharrgeflügel deutliche und sehr nachweisbare bessere Ergebnisse im Vergleich mit den mittels derselben Technik mit Prokain-Penizillin-G beigefütterten Kontrollgruppen. Das Präparat erwies sich praktisch als beständig und kann unter Voraussetzung einer angemessenen Lagerung monatelang aufbewahrt werden.

Das mittels eines geeignet fixierten Salyzilsäureesters obduzierte Penizillin-G-Kalisalz zeigt sich auf Grund der durchgeführten Versuche als wirksamstes Penizillinpräparat für Fütterungszwecke.

Die Herstellungskosten des obduzierten Penizillin-G-Kalisalzes sind im Vergleich mit ähnlichen Futterpräparaten bedeutend niedriger; die Anwendung desselben in der breiten landwirtschaftlichen Praxis kann demnach in jeder Beziehung von Vorteil sein.

Nové způsoby úpravy penicilinových solí za účelem zvýšení jejich nutričního účinku a stability v krmivech

II. sdělení

Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их питательного действия и стабильности в кормах

II-ое сообщение

Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln

(II. Mitteilung)

Z. MÜLLER, B. RŮŽIČKA, J. ROEDL a D. MATTUŠOVÁ

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Praha (ředitel inž. J. Fořt)
Penicilin, n. p. Rostoky u Prahy (ředitel dr. A. Mahler)

Došlo dne 15. VIII. 1957

Úvod

V první části naší práce popsali jsme některé nové poznatky o penicilinových preparátech, které mají lepší vlastnosti pro nutriční použití nežli dosud obecně používaný prokain-penicilin. Tento preparát byl u nás i v zahraničí totiž považován za nejvhodnější penicilinovou sůl, neboť krystalické soli penicilinu se ukázaly jako neúčinné nebo málo účinné.

V Sovětském svazu, jak vidíme z některých zpráv (Sarkisov a Akulova 1954, Sarkisov a spol. 1955), jakož i v jiných zemích (Patrick 1953), je DBED penicilinu dávana přednost, neboť v některých případech vykazoval mírně lepší, ale neprůkazné zvýšení přírůstku proti účinku prokain-penicilinu. U nás (Müller 1954, 1956 a, b, c) jsme upozornili na některé výsledky dosažené u drůbeže a prasat s různými penicilinovými preparáty také již dříve.

Proti dosud používanému prokain-penicilinu máme tyto námítky:

1. vykazuje v krmivech, zejména při nevhodném uskladnění, rychlý úbytek jednotek,
2. u některých osob, které pracovaly při výrobě krmných směsí a antibiotických koncentrátů, vyskytla se nám alergická onemocnění, způsobená složkou prokainia, nikoli penicilinem.

Nově upravené penicilinové soli ukázaly se nám také jako nejúčinnější, tj. drůbež příkrmovaná těmito novými preparáty vykazovala vyšší přírůstek na váze

než při použití prokain-penicilinu o stejném počtu jednotek penicilinu na 1 kg krmiva.

Všechny tyto skutečnosti vzhledem k tomu, že se dnes zpracovává v našem zemědělství několik tun penicilinu, mají se zřetelem k jeho plnému využití nedozírný hospodářský význam.

Materiál a metoda

Celkem bylo v naší práci provedeno pět pokusů na kuřatech.

V I. p o k u s e byl zkoumán nutriční účinek kalium-penicilinu obdukovaného různým množstvím stearinu v množství 5, 10, 15, 20 a 30 ‰. Pokus byl prováděn u šesti skupin kuřat v počtu 25 kusů v každé skupině na začátku pokusu. Celkem tedy bylo v pokusu 150 kuřat. Kuřata plemene Leghorn byla zařazena do pokusu ve stáří tří dnů. Do prvních čtyř týdnů byla kuřata umístěna ve vydesinfikovaných elektrických bateriích s průměrnou teplotou 25–28° C, teplota v místnosti činila 18° C. Z elektrických baterií byla kuřata přemístěna do výkrmových klecí tak, aby každá skupina byla v přibližně stejně vysoko položeném oddělení výkrmové klece. Všechny skupiny dostávaly krmiva stejného složení, pokusné skupiny dostávaly přírůstek kalium-penicilinu v množství 5000 m. j. na 1 kg krmiva. Jednotlivé skupiny však měly penicilin s různým množstvím obdukční látky, v daném případě stearinu tak, jak je patrné z tab. I.

Krmná směs, již byla kuřata krmena, skládala se ze dvou součástí, a to bílkovinné směsi a směsi obilních šrotů, které se v jednotlivých růstových fázích vzájemně kombinovaly tak, aby v první růstové fázi, tj. do 4 týdnů, činil obsah stravitelných bílkovin 18 ‰, v druhé růstové fázi, tj. od 4 do 8 týdnů, 16 ‰ a ve třetí růstové fázi od 8 do 10 týdnů 14 ‰.

Bílkovinná směs obsahovala kolem 33,2 ‰ stravitelných bílkovin, z toho skoro polovina byla živočišného původu.

V krmné směsi tvořila druhou část směs obilních šrotů, ječmene a kukuřice v poměru 1 : 1.

Ke krmné směsi byl poskytován malý přírůstek zelené píce, odpovídající minimální potřebě kuřat v jednotlivých váhových kategoriích.

Obsah nejdůležitějších aminokyselin v krmných směsích pro jednotlivé růstové fáze (aminokyseliny byly stanoveny v surovinách použitých pro krmné směsi — stanovení provedl Z. Ženíšek):

Aminokyseliny v %	I růstová fáze	II růstová fáze	III růstová fáze
arginin	1,1	1,0	0,6
cystin	0,5	0,4	0,2
glycin	1,6	1,1	0,9
histidin	0,4	0,4	0,3
isoleucin	0,9	0,8	0,5
leucin	1,1	1,0	1,0
lysin	0,7	0,6	0,6
methionin	0,3	0,3	0,2
fenylalanin	1,2	1,1	0,8
threonin	0,8	0,7	0,6
tryptofan	0,4	0,3	0,2
tyrosin	1,1	1,0	0,8
valin	1,3	1,1	1,0

V 1 kg krmné směsi byly obsaženy v jednotlivých růstových fázích tyto vitaminy:

Vitaminy (vitaminy A, D ₃ , B ₁₂ stanoveny analyticky, ostatní vitaminy výpočtem):			
	I. růstová fáze	II. růstová fáze	III. růstová fáze
vitamin A m. j.	4.000	3.800	3.700
vitamin D ₃ m. j.	280	260	240
vitamin B ₁ mg	1,4	1,5	1,7
vitamin B ₂ mg	2,8	2,5	2,0
kyselina pantothenová v mg	7,0	6,0	6,0
niacin mg	21,0	20,0	17,0
pyridoxin mg	4,5	4,2	3,9
biotin mg	0,2	0,2	0,1
kyselina listová mg	0,9	0,8	0,8
vitamin B ₁₂ mcg	22,0	19,0	17,0

Obsah vápníku v krmné dávce činil kolem 2 ‰, fosfor 1,2 ‰, sodík 1 ‰ a dále v množství 50 mg na 1 kg krmné směsi byl přidán mangan a 1,5 mg organicky vázaného jodu, rovněž počítáno na 1 kg celkové krmné směsi.

Kuřata byla sledována individuálně podle křídelních značek a vážení bylo prováděno vždy ve stejnou dobu.

Výsledky byly hodnoceny t-testem. Spotřeba krmiva u I. pokusu zjišťována nebyla.

Během pokusu byly sledovány také zdravotní stav, opeření, vývoj a zabarvení jednotlivých orgánů kuřat apod.

V II. pokusu byl zachován princip stejných pokusných podmínek jak co do výběru kuřat, plemene, počáteční váhy, umístění v bateriích a klecích, v základním krmení a hodnocení výsledků. Změna byla pouze v přídatku zkoumaného materiálu, v daném případě kalium-penicilinu obdukovaného salolem v různé koncentraci, jak je patrné z tab. II.

Stejně i III. a IV. pokus probíhaly za stejných podmínek rovněž u kuřat plemene Leghorn stejného původu, jen s tím rozdílem, že byla sledována spotřeba krmiva a výsledky konečných vah byly hodnoceny analýsą variance.

U III. pokusu byly zkoumány tyto pokusné přídatky celkem v pěti skupinách: I. skupina sloužila jako kontrolní, II. dostávala jako pokusný přídatek na 1 kg krmiva 10.000 m. j. prokain-penicilinu, III. 10.000 m. j. DBED-penicilinu, IV. 10.000 m. j. kalium-penicilinu obdukovaného stearinem, V. 10.000 m. j. kalium-penicilinu obdukovaného salolem. Ve všech případech se rozumí uvedené množství mezinárodních jednotek na 1 kg krmiva. Jako prokain-penicilin byl použit standardní produkt n. p. Penicilin s 1000 m. j. v 1 mg látky, u ostatních preparátů se pohyboval podle výrobních šarží obsah mezinárodních jednotek penicilinu v 1 mg od 1000 do 1200 m. j.

U IV. pokusu byl pouze ten rozdíl, že místo 10.000 m. j. antibiotika bylo použito 5000 m. j. na 1 kg krmiva, dále nebyl již zkoušen DBED-penicilin, naproti tomu byl zkoušen kalium-penicilin obdukovaný stearinem v množství 15 a 30 ‰ obdukční látky.

Abychom si ověřili naše výsledky, které soustavně vykazovaly přednost obdukce penicilinu salolem, provedli jsme V. pokus na drůbežárně Dvěrce za spolupráce inž. Hyvňara. V této drůbežárně bylo pro tento účel použito celkem 1000 kuřat, která byla individuálně zvážena a rozdělena do čtyř skupin:

- I. skupina byla kontrolní bez přídavku antibiotika,
 II. skupina dostávala 5000 m. j. prokain-penicilinu,
 III. skupina 5000 m. j. DBED-penicilinu,
 IV. skupina 5000 m. j. kalium-penicilinu obdukovaného asi 15 % vhodně fixovaného salolu.

Ve všech případech bylo uvedené množství antibiotika podáváno na 1 kg krmné směsi.

Kuřata byla umístěna v typových odchovnách od začátku až do konce pokusu, kde byla udržována teplota první tři týdny kolem 25–28° C, po této době postupně teplota klesala na 20° C. Jako krmnou směs dostávala kuřata ve všech skupinách standardní „Krmivo pro kuřata“, vyráběné MPPV-výrobnami krmiv. Jako dietetický přídavek byla poskytována zelená píce.

Ve 4. týdnu byli již vážení zvlášť kohoutci a kuřičky a výsledky byly hodnoceny analýsou variance. V 6. týdnu bylo prováděno vzhledem k technickým potížím hromadné vážení kohoutků a kuřiček.

Výsledky a hodnocení

V tab. I vidíme výsledky s kalium-penicilinem, obdukovaným různým množstvím stearinu. Kuřata ve všech případech vykázala dobrý růst. Jako nejlepší se však projevila skupina s 15 % obdukční látky. Proti kontrolní skupině zde činilo

I. Účinek benzylpenicilinu G obdukovaného různým množstvím stearinu ve výkrmu kuřat

(Lab. protokol 1a/1956)

Skupina a množství stearinu jako obdukční látky	Množství penicilinu na 1 kg krmiva	Váha kohoutků v 10 týdnech (v g)	Index váhy (kontrola = 100)
I. bez antibiotika	—	980	100
II. 5 %	5.000 m. j.	1080	110*
III. 10 %	5.000 m. j.	1072	110*
IV. 15 %	5.000 m. j.	1109	113*
V. 20 %	5.000 m. j.	1094	112*
IV. 30 %	5.000 m. j.	1048	107

II. Účinek benzylpenicilinu G obdukovaného různým množstvím salolu ve výkrmu kuřat

(Lab. protokol 1b/1956)

Skupina a množství salolu jako obdukční látky	Množství penicilinu na 1 kg krmiva	Váha kohoutků v 10 týdnech (v g)	Index váhy (kontrola = 100)
I. bez antibiotik	—	1090	100
II. 5 %	5.000 m. j.	1217	112*
III. 10 %	5.000 m. j.	1276	117**
IV. 15 %	5.000 m. j.	1285	118**
V. 20 %	5.000 m. j.	1252	115*
VI. 30 %	5.000 m. j.	1230	113*

III. Účinek různých penicilinových preparátů ve výkrmu kohoutků v klecích
(Lab. protokol 1/1956)

Skupina a druh preparátu	Množství na 1 kg krmiva	Váha kohoutků v 10 týdnech (v g)	Index konečné váhy
kontrolní	—	1.035	100,0
prokain-penicilin	10.000 m. j.	1.152	111,3*
DBED-penicilin	10.000 m. j.	1.171	113,1*
kalium-penicilin			
obdukovaný stearinem	10.000 m. j.	1.159	111,9*
kalium-penicilin			
obdukovaný salolem	10.000 m. j.	1.282	123,8**

IV. Váhy kohoutků ve stáří 10 týdnů u jednotlivých skupin pokusu č. III, hodnocené
analýzou variancí
(Lab. protokol 1/1956)

Zdroj variability	N	S ($\bar{x} - \bar{x}$) ²	V	F	sd
skupiny	4	391.307	97.826	7,14**	
jedinci	49	670.455	13.682	0,14	50,—
celkem	53	1,061.762			

průkazné zvýšení váhy 13 % ($P < 0,05$). Také v ostatních skupinách byl účinek penicilinu na růst zřetelně patrný. Pouze skupina, která dostávala penicilin s 30 % obdukční látky, měla neprůkazné zvýšení váhy o 7 %.

Výsledky druhého pokusu, který byl za stejných metodických podmínek prováděn s penicilinem obdukovaným salolem, vidíme v tab. II. Pozoruhodné je, že již 5 % obdukční látky vykazalo proti kontrole průkazné zvýšení váhy o 12 % ($P < 0,05$), avšak výrazně lepší výsledek vykazala třetí a čtvrtá skupina, která dostávala penicilin obdukovaný 10–15 % salolu. Zvýšení zde činilo 17–18 % s vysokou průkazností ($P < 0,01$). 20 % obdukční látky (salolu), ale hlavně 30 %, se neukázalo jako vhodné, i když zde rozdíly proti kontrole byly rovněž průkazné a činily 13–15 % ($P < 0,05$). Mezi jednotlivými pokusnými skupinami však průkazné rozdíly vzhledem k počtu použitého pokusného materiálu nebyly.

Výsledky z III. pokusu vidíme v tab. III., IV., V. a VI. Jak je patrné v tab. III., skupina kohoutků, kteří dostávali přírůstek prokain-penicilinu, vykazovala zvýšení váhy 11,3 % ($P < 0,05$), skupina s DBED-penicilinem 13,1 % ($P < 0,05$) a skupina s penicilinem obdukovaným stearinem 11,9 % ($P < 0,05$). Neobyčejně pozoruhodná skutečnost je, že penicilin chráněný salolem v tomto pokuse vykazoval výsledek vysoce průkazný proti kontrole, neboť zvýšení váhy činilo 23,8 % ($P < 0,01$). Rozdíl, který byl dosažen u skupiny s přírůstkem penicilinu se salolem, byl však i průkazný ($P < 0,05$) proti všem pokusným skupinám s ostatními penicilinovými preparáty, neboť nejmenší potřebná difference mezi skupinami činila

$$\begin{aligned} \text{pro } P < 0,05 & 110,— \text{ g} \\ \text{pro } P < 0,01 & 155,5 \text{ g} \end{aligned}$$

Spotřeba krmiva u tohoto pokusu je vyjádřena v tab. V. jednak za jednotlivé růstové fáze, jednak za celé pokusné období. Z výsledků je patrné, že kalium-peni-

V. Spotřeba krmiva u III. pokusu
(Lab. protokol 1/1956)

Skupina a přídavek v množství na 1 kg krmiva	Průměrná spotřeba krmiva na 1 g přírůstku (v g) v období			
	0—4 týdnů	4—8 týdnů	8—10 týdnů	0—10 týdnů
I. žádný	2,56	3,32	4,59	3,41
II. prokain-penicilin 5.000 m. j.	2,31	3,41	4,49	3,34
III. DBED-penicilin 5.000 m. j.	2,42	3,15	4,5	3,26
IV. kalium-penicilin G obdukováný stearinem 5.000 m. j.	2,39	3,13	3,57	3,04
V. kalium-penicilin G obdukováný salolem 5.000 m. j.	2,42	3,16	3,68	3,07

cilin obdukováný stearinem a salolem vykázal proti kontrole nižší spotřebu na jednotku přírůstku. Menší rozdíly byly u DBED-penicilinu, který však vykázal lepší výsledek než prokain-penicilin.

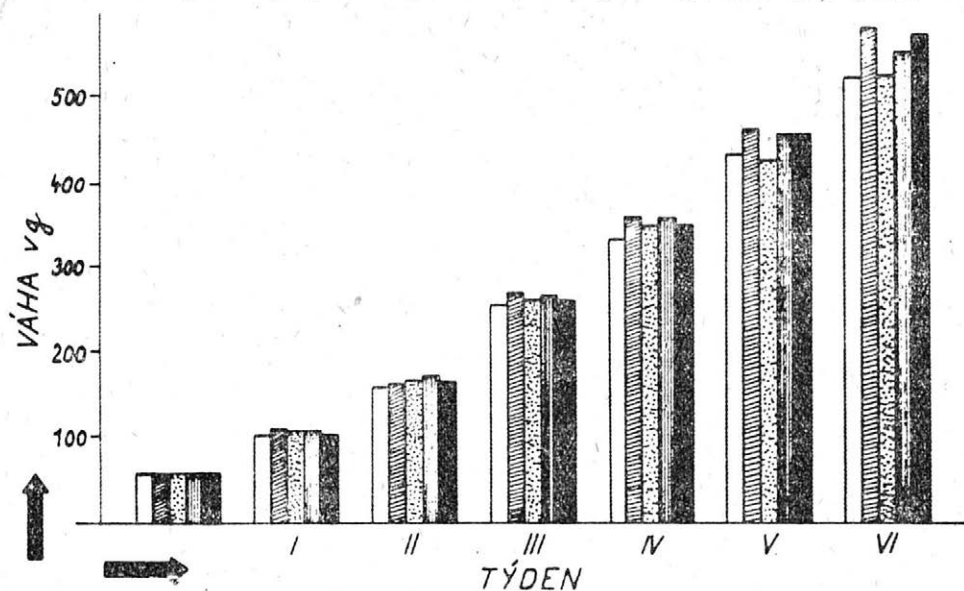
V tab. VI je uveden rozbor tří kohoutků kontrolní skupiny a tří kohoutků ze skupiny, která dostávala přídavek penicilinu chráněného salolem. Pro srovnání však byli vybráni jedinci o stejné váze, nikoli o průměrné váze skupiny. Nečiníme si však vzhledem k malému počtu, kde jednotlivé hodnoty poměrně kolísaly, nárok na jednoznačnost uvedeného výsledku. V tabulce je vyjádřen poměr jedlých a nejedlých součástí, který je prakticky u obou skupin v daném způsobu srovnání stejný. Nedá se soudit, že by antibiotikum podstatně ovlivňovalo poměr jedlých a nejedlých součástí.

V tab. VII., VIII. a IX. vidíme výsledky IV. pokusu. I v tomto případě vykázal salol proti ostatním srovnávaným penicilinovým preparátům lepší výsledky. Výsledky v jednotlivých týdnech vidíme na obr. 1 a 2. Na obr. 1 jsou uvedeny váhy kuřat do doby rozeznání pohlaví. Na obr. 2 jsou znázorněny týdenní váhy kohoutků od doby rozeznání pohlaví. Při zkrmování penicilinu obdukového salolem činilo zvýšení konečné váhy 17 % ($P < 0,01$) u prokain-penicilinu se zvýšil přírůstek o 12,6 % ($P < 0,05$), u penicilinu obdukového 15 % stearinu bylo

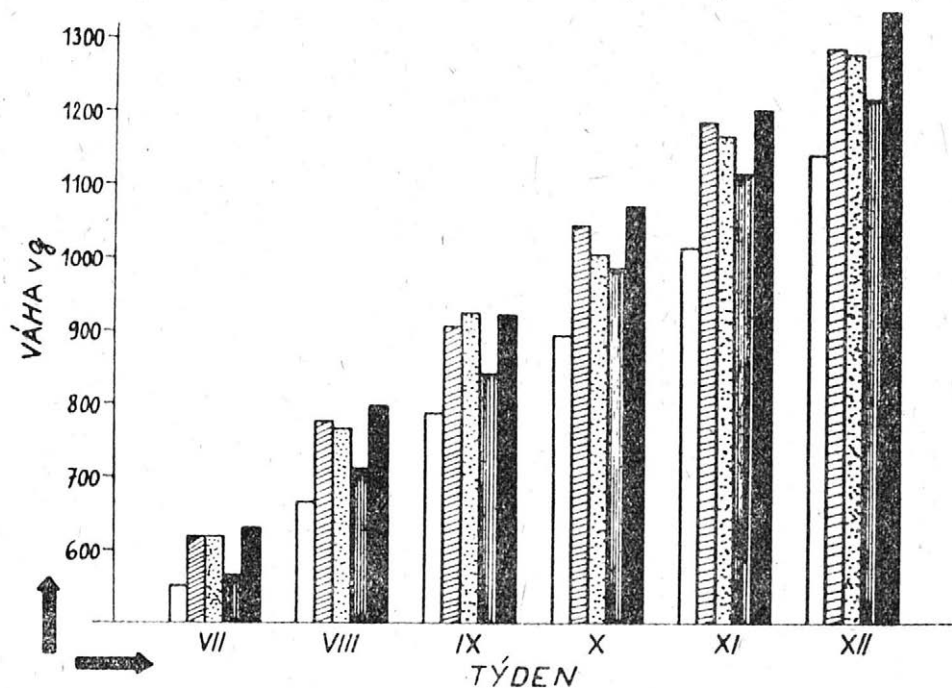
VII. Účinek různých penicilinových preparátů ve výkrmu kohoutků v klecích
(Lab. protokol 3/1956)

Skupina a druhy preparátu	Množství na 1 kg krmiva	Váha kohoutků v 10. týdnech (v g)	Index konečné váhy
kontrolní	—	1.134	100,0
kalium-penicilin obdukováný 15 % salolu	5.000 m. j.	1.327	117,0**
prokain-penicilin	5.000 m. j.	1.277	112,6*
kalium-penicilin obdu- kovný 15 % stearinu	5.000 m. j.	1.271	112,1*
kalium-penicilin obdu- kováný 30 % stearinu	5.000 m. j.	1.210	106,7

Obr. 1. Týdenní váhy kuřat jednotlivých skupin od počátku do 6 týdnů



Obr. 2. Týdenní průměrné váhy kohoutků jednotlivých skupin od 7 do 12 týdnů



1. bílý sloupec vyjadřuje váhu skupiny kontrolní, 2. šikmo čárkovaný sloupec vyjadřuje váhu skupiny s procain-penicilinem, 3. tečkovaný sloupec vyjadřuje váhu skupiny s kalium-penicilinem obdukovaným přibližně 15 % stearinu, 4. svisle čárkovaný sloupec vyjadřuje váhu skupiny s kalium-penicilinem obdukovaným přibližně 30 % stearinu, 5. černý sloupec vyjadřuje váhu skupiny s kalium-penicilinem obdukovaným přibližně 15 % salolu.

VI. Jatečný rozbor kuřat
(Lab. protokol 1/1956)

Váha jednotlivých součástí v g u skupiny			kontrolní	pokusné
váha živá			1.200	1.215
váha mrtvá s peřím			1.148	1.156
váha mrtvá bez peří			1.040	1.070
hlava	jedlé součásti	hřebínek	25	26
		mozek	3	4
		krční lalůčky	6	6
maso a kůže		17	15	
	nejedlé součásti	oční bulvy	6	5
		kosti hlavy	13	12
		celkem	70	68
krk	jedlé součásti	maso	22	26
		kůže	26	28
	nejedlé součásti		22	20
		celkem	70	74
křídla	jedlé součásti		64	62
	nejedlé součásti		29	27
	celkem		93	89
stehna	jedlé součásti		90	92
	nejedlé součásti		29	30
	celkem		119	122
trup	jedlé součásti	kůže	37	54
		prsní svaly	110	112
		plice	6	7
		srdce	8	9
		játra	26	27
		slezina	3	4
		varlata	4	10
		vnitřní sádlo	6	10
		žaludek	36	33
		ostatní masité součásti	202	178
		ledviny	11	9
	nejedlé součásti	střevní trakt	45	55
		obsah střev	41	37
		obsah žaludku	9	14
		kosti	87	105
		celkem	631	664
běháky			57	53
jedlé součásti celkem			702	712
nejedlé součásti celkem			338	358
Celkem			1.040	1.070

VIII. Váhy kohoutků ve stáří 12 týdnů u jednotlivých skupin pokusu č. IV, hodnocené analýsou variancí
(Lab. protokol 3/1956)

Zdroj variability	N	S ($\bar{x} - \bar{x}$) ²	V	F	$\bar{s}_d$
skupinami	4	276.530	69.132	3,395*	
jedinci	52	1,058.737	20.360	0,294	59,8
celkem	56	1,335.267			

IX. Spotřeba krmiva v IV. pokusu
(Lab. protokol 3/1956)

Skupina a přídavek v množství na 1 kg krmiva		Průměrná spotřeba krmiva na 1 g přírůstku (v g) v období			
		0—4 týdnů	4—8 týdnů	8—11 týdnů	0—11 týdnů
I.	žádný	2,68	3,67	4,56	3,74
V.	prokain-penicilin 5.000 m. j.	2,56	3,40	5,24	3,58
VI.	kalium-penicilin obdukováný salolem (15 %) 5.000 m. j.	2,30	3,14	3,76	3,11
VII.	kalium-penicilin obdukováný stearinem (15 %) 5.000 m. j.	2,63	3,07	4,57	3,55
VIII.	kalium-penicilin obdukováný stearinem (30 %) 5.000 m. j.	2,66	3,37	4,07	3,37

zaznamenáno zvýšení 12,1 % ($P < 0,05$) a u poslední skupiny, která dostávala penicilin obdukováný 30% stearinu, bylo zvýšení jen 6,7%. Rozdíl u této poslední skupiny nebyl průkazný.

Analýsu variancí pro tento pokus vidíme v tab. VIII.*) Nejnižší potřebná difference pro stanovení stupně průkaznosti rozdílů mezi skupinami činila

pro $P < 0,05$ 131,— g

pro $P < 0,01$ 184,8 g

Spotřeba krmiva je vyjádřena v tab. IX. I v tomto pokuse vykázal nejlepší průměrnou spotřebu na jednotku přírůstku kalium-penicilin obdukováný salolem, kde byly proti kontrole největší rozdíly.

Výsledky posledního pokusu vidíme v tab. X., XI., XII., XIII. a XIV. V tab. X. jsou znázorněny váhy kuřat, příp. kohoutků a kuřiček, ve 14denních věkových intervalech. V tab. XI. vidíme variabilitu ve skupinách na počátku pokusu. Analýsou variancí byly hodnoceny rozdíly u kohoutků a kuřiček ve stáří 4 týdnů. U kohoutků činily nejnižší difference váhy v gramech pro určení stupně průkaznosti

pro $P < 0,05$ 7,17 g

pro $P < 0,01$ 9,43 g

*) Upozorňujeme, že pokus IV. probíhal celkem v serii, kde bylo 8 pokusných skupin, takže tabulka VIII., kde jsou uvedeny výsledky analýsy variancí, zahrnuje i další skupiny, které nespádají do rámce této práce, ale byly statisticky hodnoceny vzhledem k společné kontrolní skupině jako celek.

X. Účinek různých penicilinových preparátů

Skupina a druhy preparátů	Váha kuřat na počátku pokusu	Index váhy	Váha kuřat v 2. týdnu pokusu	Index váhy	Váha kohoutků ve 4. týdnu pokusu
kontrolní	36,5	100,0	75,2	100,0	193,1
prokain-penicilin	36,0	98,6	81,2	107,9	197,8
DBED-penicilin	35,4	96,9	77,9	103,5	224,6
kalium-penicilin obdukováný salolem (15 %)	35,1	96,2	80,8	107,4	235,4

U prokain-penicilinu nebyl rozdíl průkazný, naproti tomu u DBED-penicilinu byl rozdíl vysoce průkazný a stejně byl vysoce průkazný rozdíl u penicilinové soli chráněné salolem. Vysoce průkazný rozdíl u kohoutků byl však i mezi DBED-penicilinem a salolem ve prospěch skupiny, která dostávala penicilinovou sůl chráněnou salolem.

Výsledky analýsy variancí u kuřiček vidíme v tab. XIII., kde nejnížší potřebné difference

pro $P < 0,05$ činily 7,34 g

pro $P < 0,01$ činily 9,72 g

Za těchto okolností je i u kuřiček přídavek DBED-penicilinu a salolu vysoce průkazný a skupina s penicilinovou solí chráněnou salolem vykazuje proti DBED-penicilinu ještě průkazný rozdíl. V šesti týdnech, kdy bylo prováděno hromadné vážení kohoutků a kuřiček ve všech skupinách, bylo zaznamenáno u kohoutků po aplikaci prokain-penicilinu zvýšení o 8,8 %, u DBED-penicilinu o 6,5 %, u salolu o 21,1 %. U kuřiček prokain-penicilin zvýšil váhu o 4,8 %, DBED-penicilin o 12,6 %, u penicilinu se salolem o 28,1 %.

XI. Standardní odchylky a variační koeficienty u jednotlivých skupin na počátku pokusu
(Pokus Dvěřce)

Skupina	$\pm S$	V
kontrolní	3,48	9,53
prokain-penicilin	3,83	10,63
DBED-penicilin	2,91	8,45
kalium-penicilin obdukováný salolem 15%	3,46	9,88

XII. Váhy kohoutků ve stáří 4 týdnů u jednotlivých skupin hodnocené analýsou variancí
(Pokus Dvěřce)

Zdroj variability	N	$S(x - \bar{x})^2$	V	F	sd
skupiny	3	150.864	50.288	64,4**	
jedinci	473	368.880	780	0,015	3,64
celkem	476	519.744	—	—	

Index váhy	Váha kuřiček ve 4. týdnu pokusu	Index váhy	Váha kohoutků v 6. týdnu pokusu	Index váhy	Váha kuřiček v 6. týdnu pokusu	Index váhy
100,0	171,1	100,0	341,6	100,0	292,7	100,0
102,4	170,5	99,3	371,9	108,8	307,0	104,8
116,3**	198,9	115,8**	364,1	106,5	329,7	112,6
121,9**	207,3	120,7**	414,0	121,1	375,0	128,1

XIII. Váhy kuřiček ve stáří 4 týdnů u jednotlivých skupin hodnocené analýsou variancí
(Pokus Dvěřce)

Zdroj variability	N	S ($\bar{x} - \bar{x}$) ²	V	F	$\bar{sd}$
skupinami	3	127.824	42.608	50,8**	
jednotlivci	488	408.883	838	0,019	3,71
celkem	491	536.707	—	—	

XIV. Účinek různých penicilinových preparátů na počet uhynulých kuřat
(Pokus Dvěřce)

Skupina a druhy preparátu	Stav na počátku pokusu	Počet uhynulých do 2 týdnů (v ks)	Počet uhynulých od 2. do 4. týdnů (v ks)	Počet uhynulých od 2. do 6. týdnů (v ks)	Počet uhynulých celkem
kontrolní	250	12	3	5	20
prokain-penicilin	251	10	—	1	11
DBED-penicilin	250	5	4	—	9
kalium-penicilin					
obdukováný salolem 15 %	250	4	—	6	10

Z těchto široce založených výsledků je zcela nezvratně patrné, že obdukcí kalium-penicilinu salolem má značné, a to zcela nesporné přednosti proti ostatním dosud používaným penicilinovým přípravkům.

V tab. XIV. jsou uvedeny výsledky jednotlivých penicilinových preparátů na hynutí kuřat. Vidíme, že všechny penicilinové preparáty vykázaly za sledované období proti kontrole poloviční uhynutí.

Diskuse

Ze všech výsledků, které jsme vpředu uvedli, jsou patrné nesporné přednosti draselné soli penicilinu G obdukováné salolem. V čem spočívá tento vyšší účinek proti ostatním penicilinovým preparátům, je pro odpověď, která by mohla mít obecnou platnost, těžká. Vycházíme však ze skutečnosti, že salol jako obdukcí látka uchovává přes první část trávicího traktu, to je až do svalnatého žaludku,

antibiotikum téměř nepoškozeno a že pravděpodobně vzhledem k jeho snadné degradaci v oblasti tenkého střeva umožní rychlý účinek antibiotika – penicilinu. Nerozpustné soli penicilinu, jako prokain-penicilin a DBED-penicilin, dostávají se vzhledem k rychlejšímu rytmu trávicího traktu u drůbeže buď ještě nevyužité do těch oblastí střevního traktu, kde již jejich účinek nemá potřebný význam, nebo jsou naopak již v žaludku inaktivovány. K této domněnce nás vede především zkušenost z I. a II. pokusu, kde zvláště u stearinu vyšší zastoupení obdukční látky nevykázalo takové zvýšení přírůstku jako množství menší, které se ukázalo vhodnější. Rychlé uvolnění penicilinu v tenkém střevě je pro nutriční účinek rozhodující. Proto by velké dávky ochranné látky mohly brzdit účinek antibiotika v oblasti prvních partií střevního traktu, kde je pravděpodobně jejich účinek žádoucí.

Není vyloučeno, že právě rychlým uvolněním penicilinu může střevní mikroflóra, zvláště kmeny druhu *Escherichia coli*, využít odbouraných produktů ke zvýšení svých biosyntetických schopností se zřetelem k potřebám organismu. Podle našich pokusů, o nichž je hovořeno v prvním sdělení této práce, vykazuje penicilin obdukovaný salolem také poměrně větší stabilitu, nežli jiné penicilinové preparáty. Uvádí se (Čulík a spol.), že prokain-penicilin při relativní vlhkosti 85 % za 14 dní sníží o polovinu svou účinnost. Uvážíme-li, že zvláště na jaře, v zimě a na podzim, tedy po větší část roku, se této vlhkosti krmivo, případně koncentrát obohacený antibiotikem, snadno přiblíží, vidíme jak velký význam má právě otázka stabilisace krmného preparátu. Celkově tedy můžeme přednosti obdukce penicilinu shrnout do těchto bodů:

1. přímé zvýšení nutričního účinku,
2. lepší předpoklady pro stabilitu v krmivech,
3. odstranění nebezpečí alergií účinkem kationtu prokainia, který je konstituční součástí prokain-penicilinu,
4. snížení nákladů zjednodušením technologie.

S o u h r n

Byly popsány výsledky pokusů s různými penicilinovými preparáty ve výkrmu kuřat, při čemž jako nejvhodnější se projevil kalium-penicilin G chráněný fenylesterem kyseliny salicylové (dále jen salol). V I. pokuse byla zkoumána obdukce penicilinu stearinem. Při různých dávkách stearinu 5 %, 10 %, 15 %, 20 % a 30 % rezultovala tato zvýšení váhy proti kontrole bez antibiotika ve stejném sledu: 10 % ($P < 0,05$), 15 % ($P < 0,05$), 13 % ($P < 0,05$), 12 % ($P < 0,05$) a 7 % neprůkazné.

V II. pokuse byla za stejných podmínek obdukce salolem, při čemž rezultovala proti kontrole tato zvýšení váhy kohoutků v procentech ve stejném sledu: 12 % ($P < 0,05$), 17 % ($P < 0,01$), 18 % ($P < 0,01$), 15 % ($P < 0,05$), 13 % ($P < 0,05$). Tedy v obou případech se nejlépe osvědčila obdukce ochrannou látkou v množství přibližně 15 %; při tom však pronikavě lepší výsledky vykazovala obdukce kalium-penicilinu vhodně fixovaným salolem.

Ve III. pokuse byly v dávce 5000 m. j. na 1 kg krmiva proti kontrole srovnávány: prokain-penicilin, DBED-penicilin, kalium-penicilin obdukovaný stearinem a kalium-penicilin obdukovaný salolem. Proti kontrole byla zaznamenána ve stejném pořadí tato zvýšení váhy: 11,3 % ($P < 0,05$), 13,1 % ($P < 0,05$), 11,9 % ($P < 0,05$), 23,8 % ($P < 0,01$). Kalium-penicilin obdukovaný salolem vykázal

i в tomto pokuse nejlepší výsledky, při čemž i proti ostatním penicilinovým preparátům vykázal průkazné zvýšení váhy ($P < 0,05$).

Ve IV. pokuse byl na kuřatech sledován účinek kalium-penicilinu obdukovaného salolem, dále účinek prokain-penicilinu a kalium-penicilinu obdukovaného stearinem, při čemž rezultovaly proti kontrole tyto výsledky ve zvýšení váhy: 17 % ($P < 0,01$), 12,6 % ($P < 0,05$) a 12,1 % ($P < 0,05$).

Ve III. a IV. pokuse byla sledována spotřeba krmiva v jednotlivých skupinách. Nejlepší výsledky poskytly skupiny kuřat, které dostávaly přídatek kalium-penicilinu chráněného salolem.

V V. pokuse, který byl proveden na kuřatech v počtu 1000 kusů, sledovaných individuálně ve 4 skupinách, vykázal kalium-penicilin obdukovaný salolem vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) ve zvýšení váhy kohoutků ve stáří 4 týdnů, a to nejen proti kontrole, ale i proti skupině s prokain-penicilinem a DBED-penicilinem. U kuřiček byl rovněž proti kontrole, jakož i proti ostatním penicilinovým preparátům rozdíl vysoce průkazný.

Literatura

1. Čulík K. a spol.: Patent, přihl. z 8. V. 1956, MZd. — 2. Müller Z.: Drůbežnictví 1954, 7, 152. — 3. Müller Z.: Sborník ČSAZV Živočišná výroba 1956a, 2, 81. — 4. Müller Z.: Antibiotika ve výživě hospodářských zvířat 1956b, SNZ Praha. — 5. Müller Z.: Antibiotika v krmení drůbeže a prasat 1956c, SNZ Praha. — 6. Patrick H.: Poult. Sc. 1953, 32, 3, 554. — 7. Sarkisov A. Ch. a Kulova N. S.: Pticevodstvo 1954, 7, 44. — 8. Sarkisov A. Ch. a spol.: Pticevodstvo 1955, 5.

Новые методы приготовления солей пенициллина с целью повышения их питательного действия и стабильности в кормах

II-ое сообщение

Авторы описывают результаты опытов с различными пенициллиновыми препаратами при откорме цыплят. При этих опытах наиболее эффективным оказался калий-пенициллин G, предохраняемый фенилэфиром салицилловой кислоты (далее только салол).

Во время проведения I-го опыта производилась обдукция пенициллина стеарином. При различных дозах стеарина 5, 10, 15, 20 и 30% она увеличивала привес птенцов по сравнению с контрольной группой без применения антибиотика в следующей последовательности: 10 % ($P < 0,05$), 15 % ($P < 0,15$), 12 % ($P < 0,05$) а 7 % не доказано.

Во время проведения II-го опыта была произведена при одинаковых условиях обдукция салолом, причем полученные результаты увеличения привеса птенцов в процентах по сравнению с контрольной группой были установлены в одинаковой последовательности: 12% ($P < 0,05$), 17% ($P < 0,01$), 18% ($P < 0,01$), 15% ($P < 0,05$), 13% ($P < 0,05$). Таким образом в обоих случаях наилучшие результаты были получены при обдукции предохранительным веществом в количестве приблизительно 15%; притом, однако, в значительной степени лучшие результаты обнаружила обдукция калия-пенициллина надлежаще фиксированным салолом.

Во время III-го опыта при дозе 5 000 ЕД на один кг корма были произведены сравнения с контрольной группой: прокаин-пенициллин DBED-пенициллин, калий-пенициллин, обдукцированный стеарином, и калий-пенициллин, обдукцированный салолом. По сравнению с контрольной группой были установлены в одинаковой последовательности следующие увеличения привеса: 11,3% ($P < 0,05$), 13,1% ($P < 0,05$), 11,9% ($P < 0,05$), 23,8% ($P < 0,01$). Калий-пенициллин, обдукцированный салолом, также и при проведении этого опыта дал наилучшие результаты, причем по сравнению с остальными пенициллиновыми препаратами достоверно обнаружил увеличение привеса ($P < 0,05$).

Во время IV-го опыта производилось наблюдение за действием на цыплят калия-пенициллина, обдуцированного салолом, далее воздействие прокаин-пенициллина и калия-пенициллина, обдуцированного стеарином, причем по сравнению с контрольной группой были получены следующие результаты увеличения привеса: 17% ($P < 0,01$), 12,6% ($P < 0,05$) и 12,1% ($P < 0,05$).

Во время III-го и IV-го опыта производилось наблюдение за расходом корма для отдельных групп. Наилучшие результаты были установлены у группы цыплят, которые получали корм, содержащий калий-пенициллин, предохраненный салолом.

Во время V-го опыта, который производился с цыплятами в количестве 1000 голов, индивидуальное наблюдение происходило в 4 группах, калий-пенициллин, предохраненный салолом, обнаружил высоко достоверную разницу ($P < 0,01$) в отношении привеса птенцов в возрасте 4 недель, а именно не только по сравнению с контрольной группой, но и по сравнению с группой, получавшей прокаин-пенициллин и DBED-пенициллин. У курочек по сравнению с контрольной группой, а равно и с группами, принимавшими остальные пенициллиновые препараты, также была обнаружена высоко достоверная разница.

Neue Zubereitungsmethoden von Penizillinsalzen zwecks Steigerung ihrer Nährwirkung und Stabilisierung in den Futtermitteln

(II. Mitteilung)

Die Versuchsergebnisse der Beifütterungsversuche mit verschiedenen Penizillinpräparaten bei der Hühnermast wurden beschrieben; dabei erwies sich am geeignetsten das mittels Phenylester der Salyzilsäure (Salol) geschützte Kalium-Penizillin-G.

Bei dem I. Versuch wurde die Obduktion von Penizillin mittels Stearin untersucht. Bei verschiedener Stearin-Dosierung 5 %, 10 %, 15 %, 20 % und 30 % resultierten folgende Lebendgewichtszunahmen im Vergleich mit der Kontrollfütterung ohne Antibiotika, in derselben Reihenfolge: 10 % ($P < 0,05$), 15 % ($P < 0,05$), 13 % ($P < 0,05$), 12 % ($P < 0,05$) und 7 % (nicht nachweisbar).

Bei dem II. Versuch wurde unter denselben Bedingungen die Obduktion mittels Salol durchgeführt; im Vergleich mit den Kontrolltieren resultierten folgende Lebendgewichtszunahmen in Prozenten in gleicher Reihenfolge: 12 % ($P < 0,05$), 17 % ($P < 0,01$), 18 % ($P < 0,01$), 15 % ($P < 0,05$), 13 % ($P < 0,05$). In beiden Fällen bewährte sich also die Obduktion mittels Schutzstoff in einer Menge von ungefähr 15 %; dabei wies die Obduktion des Kalium-Penizillins mittels zutreffend fixierten Salol auffallend bessere Ergebnisse auf.

Beim III. Versuch wurden bei einer Gabe von 5.000 I. E. pro 1 kg Futtermittel im Vergleich mit den Kontrolltieren Prokain-Penizillin, DBED-Penizillin, mit Stearin und mit Salol obduziertes Kalium-Penizillin verglichen. Im Vergleich mit der Kontrolle konnten folgende Lebendgewichtszunahmen in gleicher Reihenfolge festgestellt werden: 11,3 % ($P < 0,05$), 13,1 % ($P < 0,05$), 11,9 % ($P < 0,05$), 23,8 % ($P < 0,01$). Das mittels Salol obduzierte Kalium-Penizillin wies auch bei diesem Versuch die besten Ergebnisse auf; dabei konnte auch gegenüber den übrigen Penizillinpräparaten eine nachweisbare Gewichtssteigerung ($P < 0,05$) festgestellt werden.

Beim IV. Versuch verfolgte man bei den Hühnern den Einfluß von dem mittels Salol obduzierten Kalium-Penizillin, weiters den Einfluß von Prokain-Penizillin und Kalium-Penizillin, welche mit Stearin obduziert worden waren; die Resultate der Gewichtssteigerung im Vergleich mit der Kontrolle waren die folgenden: 17 % ($P < 0,01$), 12,6 % ($P < 0,05$) und 12,1 % ($P < 0,05$).

Bei dem III. und IV. Versuch wurde der Futterverbrauch einzelner Gruppen verfolgt. Die besten Resultate ergaben Hühnergruppen, welchen als Zubuße das durch Salol geschützte Kalium-Penizillin verabreicht wurde.

Bei dem V. Versuch, welcher an 1000 individuell in 4 Gruppen beobachteten Hühnern durchgeführt wurde, bewirkte das mittels Salol obduzierte Kalium-Penizillin einen hoch nachweisbaren Unterschied ($P < 0,01$) in der Gewichtssteigerung der Junghähne im Alter von 4 Wochen, und zwar nicht nur im Vergleich mit der Kontrolle, sondern auch mit den Prokain-Penizillin- und DBED-Penizillin-Gruppen. Bei Küken war der Unterschied nicht nur im Vergleich mit den Kontrolltieren, sondern auch mit den mit den übrigen Penizillinpräparaten beigefütterten Tieren hoch nachweisbar.

Socialistická věda pomáhá praxi

ČERVENOSTRAKATÝ SKOT

Dopisující člen ČSAZV dr. inž. Josef Šmerha s kolektivem svých spolupracovníků se v knize „Červenostrakatý skot“ zabývá otázkami vývoje našeho nejrozšířenějšího plemene skotu, seznamuje čtenáře s plemenářskou prací v jednotlivých obdobích a popisuje všechny činitele, mající vliv na tento vývoj. Značná pozornost je věnována rázům tohoto plemene — kravařskému a hřbíneckému, a jsou uváděny také další možnosti jejich vývoje. Pro přehlednost uvádíme kapitoly publikace:

Vývoj chovu skotu v Čechách a na Moravě. Tvarové vlastnosti červenostrakatého skotu. Dojivost u červenostrakatého skotu. Masná užitkovost červenostrakatého skotu. Jatečná hodnota červenostrakatého skotu. Růst a vývin červenostrakatého skotu. Hodnocení červenostrakatého plemenného skotu. Hřbínecký skot. Kravařský skot. Plemenářská hospodářství v chovu červenostrakatého skotu. Význam technického osemenování pro další zlepšení plemenné hodnoty červenostrakatého skotu.

Knih „Červenostrakatý skot“ je určena všem zootechnickým pracovníkům, zejména pak pracovníkům plemenářské služby. Stran 249, vyobrazení 109, cena váz. výt. Kčs 22,30.

Objednávky zasílejte na adresu:

Československá akademie zemědělských věd

propagace - vydavatelství

Slezská 7, Praha XII

Sborník ČSAZV - Živočišná výroba vydává Československá akademie zemědělských věd. Uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru živočišné výroby. — Vychází měsíčně. — Celoroční předplatné 120 Kčs. — Redakce: Praha 12, Slezská 7, telefon 577-51, 575-41. — Rozšiřuje Poštovní novinová služba. — Objednávky přijímá každý poštovní úřad i doručovatel. — Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2. A-19737

Přehled zahraniční zemědělské literatury

soustavně informuje o všech důležitých pokrocích v zemědělské vědě, v živočišné a rostlinné výrobě a poskytuje přehled světové zemědělské literatury, zemědělské vědy i základních pomocných věd všech zemí světa, zejména SSSR, dále přináší články o nových výrobních a výzkumných metodách v rostlinné a živočišné výrobě, mechanizaci, elektrifikaci a automatizaci zemědělství, v zemědělském stavitelství, ve veterinářství, technologii průmyslového zpracování zemědělských produktů a surovin a v potravinářství.

Časopis přináší každý měsíc asi 1100 dokumentačních záznamů ze světové literatury časopisecké i knižní, tedy v celém ročníku asi 13 až 14 tisíc stručných referátů o člancích a knihách. Kromě toho přináší i přehledy literatury, týkající se některého, zvláště aktuálního problému nebo úkolu, který je důležitý pro naše socialistické zemědělství.

„Přehled zahraniční zemědělské literatury“ vychází dvanáctkrát ročně, roční předplatné 240 Kčs.

Objednávky zasílejte na adresu:

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

propagace - vydavatelství

Slezská 7, Praha XII.