

## Takarmányok karotin és klorofill bomlásának vizsgálata

IHÁSZ IMRE

*Agrártudományi Főiskola Növénytermesztéstan Tanszék,  
Keszthely*

Közismert, hogy a takarmányok festékanyagait a napfény erőteljesen bontja, az árnyékban szárított szénák színe sokkal zöldebb. Az is ismeretes, hogy hosszabb téli tárolás után még a sötétebb árnyalatú szénák színe is erősen megfakul. Már a századforduló idején WILLSTÄTTER és STOLL [9] vizsgálatai alapján kitűnt, hogy a széna napfényen történő szárítása során mind a klorofill, mind a karotin erősen bomlik.

STEENBOCK és munkatársai [7] mintegy 40 évvel ezelőtt felfedezték, hogy a karotin a biológiailag elsőrendű jelentőségű „A”-vitamin provitaminja. E felismerés következtében sok kutató foglalkozott a szénakészítés, valamint a szárított takarmányok tárolása alkalmával bekövetkező pigmentbomlással.

Hazai vonatkozásban DÖRNERNÉ [4] munkája érdemel említést. A szerző különféle módszerekkel készített szénák szárítása közben fellépő tápanyagveszteségeket vizsgálta. Mérté a száradás közben bekövetkező karotin veszteséget is. Tapasztalata szerint a fonnasztás első 12 órájában a karotinveszteség viszonylag csekély: 30—45<sup>0</sup>/<sub>0</sub> körüli, s a különböző módon készített szénák karotintartalmában mutakozó eltérés csak 24 órai szárítás után jelentkezik. Az eredeti 21—30 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> szárazanyagra vonatkoztatott karotintartalom rendre 0,13—0,65 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ra, sodratban 1,06—1,29 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ra, svéd állványon 0,68 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ra, háromlábbon 2,8 mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ra csökken a szárítás végére. KIRSANOVA [4] szintén foglalkozott a szénakészítésnél fellépő karotinveszteséggel. Szerinte a különböző módon szárított szénák karotintartalma 20—70 <sup>0</sup>/<sub>0</sub>-kal csökken. PAPENDICK [6] azt állapította meg, hogy míg állványos szárítással a karotinveszteség 85<sup>0</sup>/<sub>0</sub> körüli, addig rendre 94—98<sup>0</sup>/<sub>0</sub> között mozog. STEIGERWALD [8] ugyancsak az állványon szárított szénák karotintartalmát találta magasabbnak a talajon szárítottakhoz viszonyítva. 6 havi tárolással a rendre szárított széna vesztesége 60<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, az állványon szárítotté csupán 13—14<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. MACKROTT [5] a szokásos szénakészítés során 80—95<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-os karotinveszteséget állapított meg, s tárolás alkalmával havonta mintegy 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> karotintartalom csökkenést észlelt. KÁLDI és ZUBRICKY [3] adatai szerint rétiszenák karotintartalma 0—45 mg/kg, természetes és mesterséges módon szárított lucernaszénáké 0,66—171 mg/kg között ingadozik.

Az alábbiakban ismertetett modellkísérleteim alapján célul tűztem ki a mesterséges szénaszárításhoz szükséges fonnasztási idő optimumának meghatározását, továbbá annak eldöntését, hogy milyen mértékben befolyásolja a pigmentbomlást a takarmány szárítása során bekövetkező esetleges megázás, nyirkosodás. Tisztázni kívántam a szénák tárolása közben fellépő karotinveszteség okát, körülményeit és mértékét is.

### A kísérletek leírása

Vizsgálataimat a viszonylag egyszerűbb reprodukálhatóság miatt kizárólag modellkísérletekben végeztem. Minden egyes kísérlethez hozzávetőlegesen 20—30 kg friss növényi anyagot gyűjtöttem be kb. 0,1 ha-nyi területről szórványosan úgy, hogy a növények szárát a talaj felett 2—3 cm magasan vágtam el. Az összegyűjtött tömegeből 10 kg-ot gyorsmérlegemmel mértem, majd azonnal tűző napfényre teregettem ki, vékony rétegben úgy, hogy lehetőleg minden egyes növényegyed teljesen szabadon, egymás árnyékoló hatásától mentesen, száradhasson.

I/a. A napfény hatásának kitett növényi anyagból fél, egy, kettő, négy majd hat óra megvilágítás után 200—300 g-ot vettem ki feldolgozásra. Hat órai megvilágítás után a fonnasztott növényi anyagot félretettem másnapig sötét helyre, légmentesen záró barna porüvegbe. Másnap azután az előző naphoz hasonló időpontban, illetve napfényintenzitás mellett folytattam a megvilágítást és a kétóránkénti mintavételt. A napfényexpozíció folytatása előtt azonban újból mintát vettem a sötétállás alatt esetlegesen bekövetkező pigmentvesztés meghatározása végett. A növénytömeget három napon át szárítottam napfényen, naponta 6—6 órán keresztül. A megvilágítást délelőtt 9 órakor kezdtem és 15 óráig folytattam. Egy-egy vizsgálatsorozatnál a megvilágítási idő általában 18 órát tett ki.

Minden kísérlet alkalmával a friss 10 kg-os majd fonnasztott növénytömegeből a következő mintasorozatot vettem:

„0”	minta	—	a frissen szedett növényi anyagból
„1”	„	—	fél órai megvilágítás után
„2”	„	—	egy „ „ „
„3”	„	—	két „ „ „
„4”	„	—	négy „ „ „
„5”	„	—	hat „ „ „
„5/0”	„	—	„ „ „ és 18 órai sötétállás után
„6”	„	—	nyolc „ „ „ 18 „ „ „
„7”	„	—	tíz „ „ „ 18 „ „ „
„8”	„	—	tizenkét órai „ „ „ 18 „ „ „
„8/0”	„	—	„ „ „ „ 36 „ „ „
„9”	„	—	tizennégy „ „ „ 36 „ „ „
„10”	„	—	tizenhat „ „ „ 36 „ „ „
„11”	„	—	tizennyolc „ „ „ 36 „ „ „

A fentieknek megfelelően tehát összesen mintegy 13 mintát nyertem minden kísérlet alkalmával. A kísérlet elején a friss, illetve fonnasztott tömegeből vizsgálatonként 150—180 g-ot, a dehidratáltabb anyagból pedig 50—100 g mintát vettem.

A kiszedett mintát késedelem nélkül 2—4 mm-es részecskékre aprítottam, majd alapos összekeveréssel és többszöri összerázással homogenizáltam. Ezután 5—5 g-ot pigment, 10—10 g-ot pedig nedvességvizsgálatra mértem be táramérlegem cg-nyi pontossággal, ügyelve arra, hogy a mintavételtől számított előkészítési idő ne tegyen ki többet 10 percnél.

A nedvességtartalom meghatározást a szokásos módon szárítószekrényben 105 C°-on súlyállandóságig történő szárítással végeztem. A nyert adatokat a megvilágítási idő függvényében grafikusán ábrázoltam.

A pigmenttartalom meghatározása végett az 5 g-nyi mintát dörzsesésében hideg acetonnal extraháltam horzsakő hozzáadása nélkül dörzsbottal való dörzsölés közben. Petroléterbe való átrázás és alumíniumoxid oszlopon történő kromatografálás után a karotintartalmat a pázsitfűvek karotintartalmának vizsgálatánál is alkalmazott módszeremhez [2] hasonló eljárással határoztam meg. Az itt használt módszer annyiban tér el a nyers zöld növényi anyagoknál alkalmazottól, amennyiben a szárított takarmányok karotinmeghatározása közben esetlegesen fellépő oxidációs veszteség meggátlására antioxidáns alkalmazása is szükségesnek bizonyult. Noha pigmentvizsgálatoknál antioxidánsként főleg a pirogallolt alkalmazzák leginkább, sokkal célszerűbbnek találtam éppen az oldékonysági viszonyokra való tekintettel a zsírolédkony  $\alpha$ -tokoferol használatát.

Megfelelőnek bizonyult a gyógyászati célra forgalomba kerülő olajos „E”-vitamin készítmény. Az ampullánként 1 ml növényi olajban 0,1 ml benzilalkohol és 30 mg  $\alpha$ -tokoferolt tartalmazó elegyet 30 ml-re töltöttem petroléterrel, majd az így nyert 0,1 t $^{\circ}$ / $_{0}$  hatóanyag tartalmú oldatot használtam fel antioxidánsként. Minden vizsgálati mintához 1 ml oldatot használtam fel és így a feldolgozás során a fellépő oxidatív pigmentbomlást 1 mg  $\alpha$ -tokoferollal gátoltam. Ez az „E”-vitamin mennyiség, ami mintegy 20 mg $^{0}$ / $_{0}$  antioxidáns adaléknak felel meg, elegendőnek bizonyult a növényi pigmentek oxidatív bomlásának teljes meggátlására.

A pigmentextrakcióhoz szükséges minimális antioxidáns mennyiséget egyéb előkísérletekkel kapcsolatban, birkaürülék karotintartalmának vizsgálata közben határoztam meg. A birkaürülékben tapasztalataim szerint a karotin tartalom rendkívül alacsony és csak különleges elővigyázat mellett mutatható ki. Maximálisan 0,6 mg $^{0}$ / $_{0}$ -ot találtam szárazanyagra vonatkoztatva. Ezt hideg acetonos kidörzsöléssel nem is tudtam sohasem izolálni, miután már extrakció közben elbomlott csaknem minden kísérlet alkalmával. Ha azonban  $\alpha$ -tokoferol oldatot adtam a vizsgálati anyaghoz akkor már mindig pozitív volt az eredmény és a csekély karotintartalom jól definiálható volt. Annak megállapítására, hogy vajon melyik az a minimális antioxidáns mennyiség, amelynél karotin bomlás már nem mutatkozik 6 azonos származású birkaürülék mintát mértem be 5 g-nyi párhuzamosokban, majd az egyes mintákhoz egyenként egymás után 0; 0,3; 0,6; 1,0; 3,0; 6,0 mg  $\alpha$ -tokoferolt adtam petroléteres oldatban. A tokoferol mentes mintánál karotint nem sikerült izolálni, illetve kimutatni. Nem mutatott karotintartalmat a 0,3 mg E-vitamin tartalmú minta sem. A 0,6 mg antioxidáns tartalmú minta már pozitív, de nem reprodukálható eredményt adott, ezzel szemben az 1,0, 3,0 valamint 6,0 mg  $\alpha$ -tokoferolt tartalmazó minták csekély szórásbeli eltéréstől eltekintve azonos eredményt adtak. A fentebbi kísérlet még kétszer ismételve is hasonló eredménnyel járt és így mindenkor elegendő volt 1 mg  $\alpha$ -tokoferol 5 g-nyi vizsgálati anyag karotimbomlásának meggátlására.

A bemért nyers, fonyasztott, illetve különböző mértékben dehidratált növényi mintát dörzsesésébe helyeztem, majd 1 ml tokoferol oldatot adva hozzá, dörzsölés közben hideg aceton részletekkel extraháltam mindaddig, amíg az újabb oldószerrészlet már szintelennek bizonyult. Az összes pigmentet tartalmazó oldatot gyorsan szűrtem, majd választótölcsérben 50 ml petroléter hozzáadása után kevés vízzel szétválasztottam. A petroléteres fázisba került pigmentoldatot vízzel, majd 65 $^{0}$ / $_{0}$ -os metanollal acetonmentesre mostam, végül kisebb kromatográf oszlopon „Brockmann II” adszorbensen bocsátottam át. Az átjutó összkarotint, mely 1—2 $^{0}$ / $_{0}$  karotinizomer kivételével gyakorlatilag  $\beta$ -karotinnak vehető, mérőlombikban 100 ml-re töltöttem fel, majd Pulfrich-féle fotométeren S 47-es színszűrővel mértem a koncentrációval arányos extinkciót. A mért értékeket  $\beta$ -karotinban adtam meg.

A klorofillt acetonnal oldottam le, 50 ml-es mérőlombikban jelig töltöttem, majd 0,5 cm-es küvettában S 56-os színszűrővel mértem. Nem határoztam meg a két fő klorofill komponenst külön-külön. Nem tartottam túlzottan lényegesnek a fitoxanthinok elkülönítését, miután tapasztalatom szerint a klorofill abszorpció

a vörös hullámsávtartományban oly mértékben specifikus, hogy a kékben abszorbeáló fitoxantinok jelenléte egyáltalán nem zavarja a klorofillok meghatározását. A mért extinkciókat mind a karotín, mind a klorofillelegy esetében abszolút (száraz anyagra számított) értékre számítottam át és a megvilágítási idő függvényében grafikusán ábrázoltam.

I/b A napfényen végbemenő pigmentbomlási kísérletek egy részénél a száradás késleltetése közben figyeltem a karotín bomlását. E célból párhuzamban két 10—10 kg-os lucernatömeget fonnysztottam tűző napfényen. A kontrollt a már előzőleg ismertetett módon fonnysztottam, míg a parallelnél két órai előfonnysztás után finoman diszpergált vízpermettel késleltettem a dehidratációt. A két tömegnél azonos időközben vett párhuzamos mintákban figyeltem a karotinszint alakulását.

II. A fénymentes körülmények között végbemenő fermentatív pigmentbomlást úgy vizsgáltam, hogy fonnysztott lucernából 1 kg-ot sötétbe félretettem, majd zöld ecsetpenésszel (*Penicillium glaucum*) oltottam be. 24 órai inkubáció után meghatároztam a növényanyag karotintartalmát. Az anaerob viszonyok közötti fermentációs pigmentbomlást silózott takarmányon vizsgáltam.

III. Az oxidatív hatás tanulmányozása végett hideg levegőn szárított, szecsakázott, majd golyós malomban fél órán keresztül lassú forgatással homogénizált lucernaszénából 10 kg-ot tülzacsakóba helyeztem és jól szellőző, de egyébként sötét kamrába 6 hónapra félretettem. Havonta vett mintákban mértem a karotínbomlást.

IV. A tárolt széna karotintartalmára gyakorolt nedvesség hatás megfigyelése céljából szecsakázott, homogénizált lucernaszénának  $3 \times 10$  kg-os mennyiségét 3 db légmentesen záró plasztik zsákba helyeztem. Az egyik zsák tartalmát előzőleg 1—2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> víztartalomra dehidratáltam nagyméretű szárítószekrényben 60 C°-on történő szárítással. Egy másik mintát az eredeti 12<sup>0</sup>/<sub>0</sub> H<sub>2</sub>O tartalommal helyeztem a zsákba, míg a harmadikat nedves helyiségben 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub> nedvességtartalomra való beállítás után raktároztam, három hónapon keresztül. Mindhárom zsák tartalmából két hetenként vettem vizsgálati anyagot.

V. Pigmentbomlási kísérleteimet az antioxidáns védőhatás vizsgálataival zártam. Két természetes antioxidánsnak számító redukton védőhatását vizsgáltam. E célból  $3 \times 1$  kg-ot mértem be hideg levegőn szárított lucernalisztriból. Az egyik zacskó tartalma kontrollként szolgált, míg a másikat 100 ml 0,1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-os petroléteres  $\alpha$ -tokoferololdattal permeteztem. A harmadik zacskó tartalmát 100 ml 0,1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-os vizes aszkorbinsavoldattal permeteztem. Mindhárom zacskó tartalmát vákuum szárítószekrényben 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> nedvességtartalomra állítottam, majd három hónapra félretettem. 1<sup>1</sup>/<sub>4</sub> naponként azonos időpontban mértem a karotinszint alakulását — mint minden esetben — abszolút szárazanyagra vonatkoztatva.

Mind a nedvesség, mind az antioxidáns hatást grafikonokban ábrázoltam.

### A kísérletek értékelése

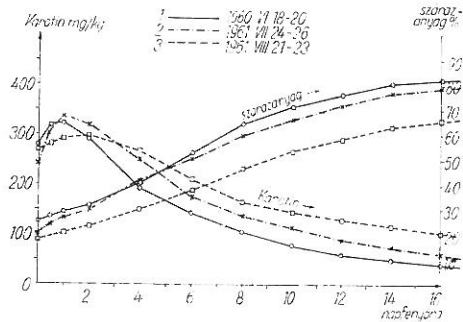
I/a. A pigmentek fotolitikus bomlása terén folytatott modellkísérleteim adatait az 1., a 2., valamint a 2/a ábrák tüntetik fel. Szemléletesen nyilvánul meg a grafikus ábrázolásban az a jelenség, hogy a fonnysztás kezdeti szakaszában a szárazanyagra számított (abszolút) karotintartalom emelkedik, azaz — feltűnő módon — megnövekszik az intenzív napfény hatásának kitétt lekaszált növények karotín mennyisége. A klorofill esetében nem észlelhető

a karotintartalom növekedéséhez hasonló jelenség, sőt közvetlen a napfény-behatás után már észlelni lehet annak csökkenését. A sötétben való szárítás alkalmával mind a klorofill, mind a karotin bomlása minimális és nem mutatkozik a fonnyasztás megkezdése után a dehidratáció kezdetekor a karotintartalom átmeneti emelkedése, hanem bizonyos stagnálás után lassan csökkenni kezd

az is. Félárnyékos napsütésben, illetve intenzívebb szórt fényben a pigmentbomlás görbéinek lefutása hasonló ugyan a tűző napfényen felvett bomlási görbékhez, csak sokkal laposabbak. Minél erősebb volt a napfényenergia a fonnyasztás kezdetekor, és minél fiatalabb növényekből állt a vizsgálati anyag, annál feltűnőbb volt a napfényhatásnak kitett növények karotinszint emelkedése, ugyanakkor annál erősebb a klorofill-tartalom csökkenés. A jelenség alaposabb vizsgálata végett beállítottam olyan kísérletet is, melynek során negyedóránként vett mintákban mértem a karotin és klorofillszint alakulást. A kísérlet során a kezdeti karotinszintemelkedés feltűnő volt és lucerna esetében a felvett görbe két maximumot is mutatott.

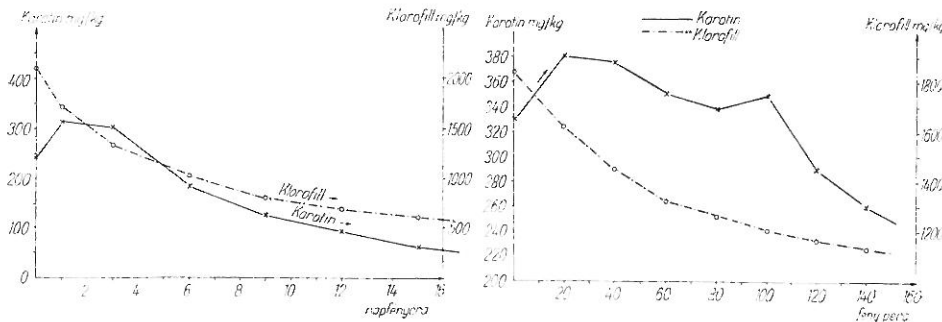
A kezdeti karotinszint emelkedést követve 2—4 óra napfényen történő fonnyasztás után minden esetben megkezdődik a klorofillhoz hasonló lefutást mutató karotinbomlás.

1/b. E kísérletben kizárólag a karotinszintek alakulását vizsgáltam. A 3. ábra két grafikonját összehasonlítva feltűnően mutatkozik a kívülről származó



1. ábra

Két intenzív napsütésben (1, 2) és egy félárnyékos (3) időben szárított lucernaminta szárazanyagra számított karotintartalmának és szárazanyag %-ának változása a napfényexpozíció időtartamának függvényében. (Minden mérési adat három párhuzamos vizsgálat közepértéke.)



2. ábra

Azonos lucernaminta klorofill és karotin tartalmának változása a napfényexpozíció függvényében

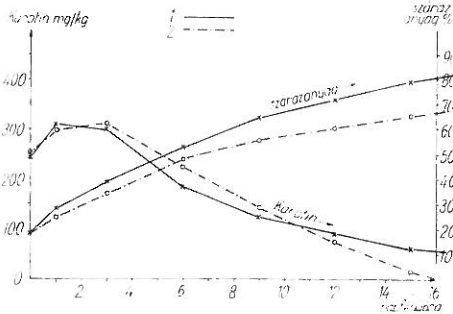
2/a. ábra

Azonos lucernaminta karotin és klorofill tartalmának változása a fonnyasztás kezdeti szakaszában

(Az adatok szárazanyagra vonatkoznak. — Minden mérési adat három párhuzamos közepértéke.)

nedvességnek a pigmentek fotolízis sebességét fokozó hatása. A napfényexpozíció közben vízpermettel kezelt lucernatömeg pigmentjeinek bomlására jellemző, hogy amíg a kontroll 16 órás megvilágítás után még mintegy 50 mg/kg abszolút karotinszintet mutatott, addig a permetezett tömeg karotintartalma ugyanazon idő alatt gyakorlatilag elbomlott. Az ábrán az is látható, hogy a pigmentbomlás sebességében mutatkozó eltérés nem közvetlen a vízpermet kezelés kezdete után, hanem csak mintegy 8 órai megvilágítás elteltével kezd fokozottabbá válni.

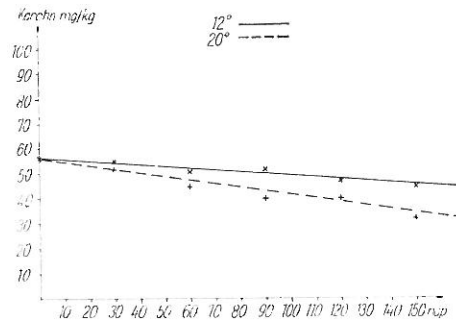
II. Rendkívül intenzív pigmentbomlási folyamat figyelhető meg bizonyos gombák hatására aerob viszonyok között. Így *Penicillium glaucum*-mal oltott 520/0 nedvességtartalmú fonyasztott lucernatömegben 24 óra alatt 20 C°-on folytatott inkubáció után a karotintartalom gyakorlatilag nullára csökkent a takarmány teljes kifakulása közben.



3. ábra

Zavarmentesen szárított (1) és száradásában vízpermettel készített (2) lucernaminta fotolitikus karotinbomlásának és szárazanyag %-váltásának összehasonlítása a napfénykezelés időtartamának függvényében

(A görbék mérési adatai absz. szárazanyagra vonatkoznak és két párhuzamos mérés középértékei.)



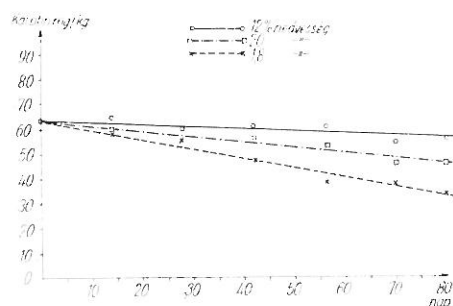
4. ábra

Két különböző hőmérsékleten tárolt eredetileg azonos lucernaszénaminta karotinszintjének csökkenése a tárolási idő függvényében

Anaerob viszonyok között azonban a karotintartalom csaknem változatlan marad a legtöbb esetben. A szilázsok karotintartalma viszonylag magas. Pílangós szilázsok nedvesanyagra számítva 20–60 mg karotintartalommal is rendelkezhetnek — tapasztalatom szerint —, s ez az érték megközelíti a friss zöldtakarmány karotintartalmát. 50–600/0-nál nagyobb karotinveszteség silózás alkalmával ritkán lép fel, s ezt a viszonylag alacsony karotinveszteséget is főként a silóban a növényi szálak között maradt levegő oxidatív hatásának kell tulajdonítani. A klorofill ezzel szemben a silózott takarmányoknál is erősen bomlik. Ez azonban nem annyira az enzimek, mint inkább a hidrogénionkoncentráció hatásának tulajdonítható. WILLSTÄTTER és STOLL [9] vizsgálatai szerint a klorofill tisztán kémiai úton is elbomlik savas közegben a Mg-komplex megbomlása következtében. A karotin bomlását ezzel szemben a pH nem befolyásolja lényegesen és így a silózott takarmány színéből — tapasztalatom szerint — nem ítéltető meg a karotintartalom, a szénákkal ellentétben. A silózott takarmányok karotinbomlásának oxidatív jellege mellett bizonyít az a tapasztalat, hogy erőlyes oxigénelvonó redukáló szerekekkel konzervált silózott zöldtakarmányok

karotinkoncentrációja csaknem 100 0/0-osan megőrizhető. A NaHSO<sub>3</sub>-al konzervált szilázsokban Ba<sup>++</sup> reagenssel valóban nagy mennyiségű SO<sub>4</sub><sup>--</sup> iont tudtam kimutatni, ami kétséget kizárólag a növénytömeg közé zárt levegő oxigénjének elreagálása közben a konzerválószer SO<sub>3</sub><sup>--</sup> ionjaiból keletkezett.

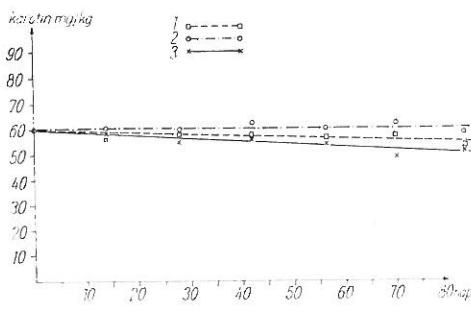
III. A fotolízis terén végrehajtott kísérletek világosan mutatták a napfénynek a fitopigmentekre gyakorolt erélyes destruktív hatását. A napfény-expozíció beszüntetése után a sötétben félretett mintáknál viszont a karotinbomlás csaknem pillanatszerűen leállt és a több órán át sötétben álló növényi anyag szárazanyagra vonatkoztatott klorofill és karotintartalmában gyakorlati értelemben vett csökkenés nem következett be. Ennek megfelelően a fotolízis görbék lefutása a megvilágítási periódusok után soha nem mutatott törést. Így az 1. és 2. ábrák diagramjaiból az is kivehető volt, hogy fénymentes körül-



5. ábra

Három azonos származású de különböző nedvességtartalomra állított lucernaszénaminta karotintartalmának változása a raktározási idő alatt

(2—2 párhuzamos középvértékei és absz. száraz anyagra vonatkoznak)



6. ábra

Egy aszkorbinsavoldattal, (1) egy α-tokofe-rololdattal (2) és egy kezeletlen (3), három azonos eredetű lucernaszénaminta karotin-szint változása a tárolási idő függvényében

mények között az oxidatív pigmentbomlás sebessége kiesi és a fotolízishez képest jelentéktelen.

Mindazonáltal hosszabb idő alatt az oxidatív bomlás már sötétben is jelentős lehet. Az oxidatív bomlás sebességét a tárolt szárított lucernán tett megfigyelés alapján a tárolási hőmérséklet lényegesen befolyásolja. A különbségek kivehetőek a 4. ábra grafikonjaiból. Látható, hogy 10 C° hőmérséklet emelkedés a pigmentbomlás sebességét lényegesen növeli.

IV. E kísérlet keretén belül végzett megfigyelések érdekes paradoxont tártak fel a raktározott takarmány nedvességtartalma és az oxidatív pigmentbomlás sebessége között. Tapasztalatom szerint ugyanis a várakozással ellentétben nem a legalacsonyabb, hanem a 120/0 nedvességtartalmú széna karotinszintje bizonyult a legállandóbbnak. Mind az 1,80/0, mind a 20,20/0 víztartalmú hideg levegőn szárított lucernaszénánál nagyobb mérvű volt a pigmentbomlás, mint a kettő között levő 120/0 nedvességtartalmúnál. A legintenzívebben éppen a legalacsonyabb nedvességű anyag pigmenttartalma bomlott. A kísérletből az tűnt ki, hogy bizonyos optimális nedvességtartalom egyenesen védő hatást fejt ki a karotintartalomra. E kísérlet eredményeit az 5. sz. ábra görbéi szemléltetik.

V. A két természetes reduktonnal kezelt hideg levegőn szárított lucernaszéna tárolása közben a tokoferololdattal kezelt kísérleti anyagnál mutatkozott

erősebb védőhatás. A kontrollal összehasonlító bomlásgörbéket a 6. sz. ábra mutatja be. A tokoferol erélyesebb védőhatása azzal értelmezhető, hogy a fitopigmentek közismerten zsíroldékony tulajdonságúak és így a kloroplasztiszokra jutó „E”-vitamin oldatot képes velük képezni s közvetlen ki tudja fejteni antioxidáns hatását. Ezzel szemben az aszkorbinsav csak akkor fejthet ki némi oxidációt gátló hatást, ha a takarmány nedvességtartalma még elég magas.

### Gyakorlati következtetések

Modellkísérleteim a gyakorlat számára is szolgáltatottak hasznosítható adatokat. — Mindenekelőtt sikerült a napfényen történő fonnyasztás pigmentbomlás vizsgálatai alapján az optimális fonnyasztási időt meghatároznom, melynek gyakorlatilag az a fő jelentősége, hogy mesterséges szénaszárítás alkalmazásával a karotintartalom fokozottabb megőrzésére nyílik lehetőség, sőt forró-levegős szárítás esetén gyakorlatilag a nyerstakarmány eredeti karotinkoncentrációja biztosítható. A fotolízis görbék adatai megmutatják, hogy a felületi, tehát a napfényrel közvetlenül érintkező rétegekben a karotinbomlás mintegy 2—4 óra megvilágítási időtartam után indul meg. Ennek megfelelően megállapítható, hogy célszerű a frissen kaszált zöldtakarmányt 2 órával a kaszálás után egyszer átforgatni, majd újabb két óra fonnyasztás után közvetlen a szárítóberendezésbe vinni.

A kísérletek alapján levonható másik gyakorlati következtetés az exogén nedvesség rendkívül káros hatása. Megállapítható, hogy tulajdonképpen nem szükséges a széna kilúgozódása ahhoz, hogy a karotintartalmát teljesen elveszítse. A reggeli köd, harmat, vagy egészen gyengén szemerkélő eső, ami éppen csak átnedvesíti a fonnyasztásnak kitett zöldtakarmányt, oly mértékben siettetí a pigmentek bomlását, hogy rövid idő alatt megsemmisülhet annak egész karotintartalma. — Közbevetőleg meg kell jegyezni, hogy teljesen téves felfogás az, miszerint a karotin a széna megázása után kilúgozódik. Bár az ázott szénából az eső sok mindent kilúgozhat, főként cukrokat, aminosavakat és klorofill bomlástermékeket, pont a karotin az, amelyet nem lehet kilúgozni, mivel jellegzetes lipid vegyület. A karotin tehát sohasem lúgúódik ki, hanem a kloroplaszt szemcséken enzimatikusan bomlik biológiailag hatástalan vegyületekké, s legfeljebb ezek oldódnak azután ki a külső nedvesség, eső hatására. —

Számos megfigyelés bizonyítja, hogy az összes különböző módon készített szárnatípus között a renden szárítottnak a legalacsonyabb a karotintartalma. A renden szárított széna nagy felületen érintkezik készítése közben a talajjal s megfigyelhető, hogy nemcsak a fényrel érintkező legkülső, hanem a talajjal érintkező legbelső takarmányréteg karotintartalma is nagyon kicsi. A talajjal érintkező takarmányrétegben tehát szintén intenzív a pigmentbomlás. A karotinbomlás itt fermentatív hatásra vezethető vissza, s azzal értelmezhető, hogy a talaj felületén számos mikroorganizmus számára a fonnyadt növényi anyag, a nedves széna, táptalajul szolgál. A kísérletek viszont tisztázták egyes mikroorganizmusok karotinbontó tevékenységét aerob viszonyok között. Ezzel értelmezhető tehát az a gyakorlati tapasztalat, hogy miért magasabb a természetes úton készített száraztakarmányok között a svédlovason, vagy állványon szárított széna karotintartalma, mint a renden szárítotté.

Gyakorlatilag hasznosítható eredményre vezettek azok a kísérletek is, melyet a tárolási karotinvesztéssel kapcsolatban végeztem. Ezek során kitért, hogy célszerű a száraztakarmányokat minél hűvösebb és lehetőleg teljesen



sötét helyen raktározni, de nem célszerű arra törekedni, hogy a széna abszolút száraz legyen. A nedves, nyirkos körülmények közötti tárolás nemcsak a takarmány dohosodása, hanem az intenzív karotinvesztés miatt is kerülendő, de szükséges 10—12<sup>0</sup>/<sub>0</sub> nedvességtartalom, mivel ennél a leglassúbb a karotin bomlási folyamata.

Lényeges, hogy a takarmány tárolása alkalmával minél kevesebb levegővel érintkezzen, s ezért célszerű a bálázás, illetve a takarmánylisztek, szénelisztek pasztillázása, brikettézése. Silózott takarmányoknál a karotintartam szintén akkor őrízhető meg leginkább, ha abszolút anaerob viszonyokat tudunk teremteni. Szilázsok karotintartalma erélyes oxigénelvonó tulajdonsággal rendelkező konzerválószerekkel őrízhető meg leginkább. Száraz takarmányok pigmentvédelmére célszerű az antioxidánsokkal történő kezelés, különösen akkor, mikor a takarmányok optimális raktározási nedvességtartalma a túlzottan alacsony, vagy ellenkezőleg a túlságosan magas relatív páratartalom miatt nem biztosítható, esetleg magas a raktározási hőmérséklet. Antioxidánsként célszerűbb olajszerű vagy olajban oldódó redukáló tulajdonságú anyagokat alkalmazni. Mindazonáltal természetes követelmény e kemikáliákkal szemben mindenekelőtt az abszolút intoxicitás és legalábbis biológiai értelemben vett közömbösség.

### Összefoglalás

Vizsgálataimból, azok viszonylag könnyen reprodukálható modellkísérleti jellege alapján kitűnt, hogy a klorofill fotolízisével ellentétben, mely a levágott zöldtakarmányban a napfény destruktív hatására azonnal megindul, a karotin bomlása nem kezdődik el mindjárt, sőt az egy ideig még folyó asszimiláció során mennyisége még emelkedik is. A karotinbomlás csak mintegy 2—4 órai megvilágítás után kezd észrevehetően mutatkozni. Ennek megfelelően célszerű arra törekedni, hogy a mesterséges takarmányszárításnál a fonnasztási idő ne legyen több négy óránál, a dehidatálás azonban minél gyorsabb. A szénák ún. „kilúgzott” színéhez nem lényeges a takarmány kiázása, elegendő, ha a széna szárítás közben időnként átnyirkosodik. Aerob viszonyok között egyes mikroorganizmusok erősen bontják a karotint és részben ennek tulajdonítható a talajon szárított szénák alacsony karotintartalma is. Silózott takarmányok esetében a szín nem mérvadó a karotintartalomra, mivel a klorofill bomlása a savanyú kémhatás mellett a karotinbomlástól független. Tárolás alkalmával lényeges a sötét, hűvös és közepes relatív nedvességtartalmú környezet. Nedvesebb, vagy szárazabb és melegebb klimatikus viszonyok között célszerű a takarmányokat antioxidánsokkal kezelni.

*Érkezett: 1962. december 15.*

### Irodalom

- [1] DÖRNER, L.-NÉ: Különböző eljárásokkal készült lucernaszénák szárítása közben fellépő változások és a kész szénák összehasonlítása. *Állattenyésztés*. **4**. 169—181. 1955.
- [2] IHÁSZ, I.: Gyakrabban előforduló pázsitfüvek és herefélék karotin tartalmának meghatározása és értékelése. *Agrokémia és Talajtan*. **9**. 559—574. 1960.
- [3] KÁLDI, A. & ZUBRICKY, J.: Ohsah Karoténu v zelených a konzervovanych krmivách. *Pol'nohospodárstvo*. **5**. 533—568. 1958.

- [4] KIRSANOVA, YU. V.: Szogyerzsányie karotina y nyekotornüh travah szuszamirszkikh paszthbieszcs. Trudi Inst. Botan. Akad. Nauk Kirgiz SSR. 3. 1958.
- [5] MACKROTT, H.: Möglichkeiten der Karotinversorgung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Fütter und Fütt. **47**. 371—373. 1954.
- [6] PAPENDICK, K.: Möglichkeiten des Karotingehalts von Wiesenfutter. Landw. Forsch. Sonderh. **7**. 135—143. 1956.
- [7] STEENBOCK, H., SELL, M. T., NELSON, E. M. & BUELL, M. V.: J. Biol. Chem. **46**. Proceed 32. 1921.
- [8] STEIGERWALD, E.: Über Karotinverluste in Heu durch Lagerung und verschiedene Trocknung. Gründland (Hannover). **9**. 68—69. 1955.
- [9] WILLSTÄTTER, R. & STOLL, A.: Untersuchungen über Chlorophyll. Springer. Berlin. 1913.

## Изучение разложения каротина и хлорофилла в кормовых травах

И. ИХАС

Кафедра растениеводства Аграрного ВУЗа, г. Кестхей (Венгрия)

### Резюме

Изучение, разложения пигментов проводилось в опытах из пяти серий. Поставленные опыты были модельными.

В серии опытов 1/а проводилось изучение процессов разложения пигментов в скошенной люцерне под влиянием солнечной радиации. Полученные данные показаны на рисунках 1, 2 и 2/а. На графике 1 видно, что во время интенсивной солнечной радиации содержание каротина увеличивалось в начальной стадии увядания, потом через 2—4 часа содержание его сильно снижается. На рис. 2 и 2/а сравниваются кривые разложения каротина и хлорофилла. Видно, что в противоположность каротину разложение хлорофилла под влиянием освещения начинается сразу.

В опытах 1/в изучалось разложение пигментов под влиянием освещения в невысыхающих растениях. Кривые фотолиза растений высыхающих и невысыхающих (периодически опрыскиваемых водой) сравниваются на кривой рисунка 3. Оказалось, что после восьми часового освещения разложение каротина во влажных растениях происходит интенсивнее. В высыхающих растениях после 16 часового освещения содержалось еще 55 мг. каротина на один кг. сухого вещества, в то время как в образцах увлажненных содержание каротина снизилось практически до 0.

В опыте II изучались энзиматические процессы разложения пигментов, происходящие в темноте. В аэробных условиях некоторые виды грибов интенсивно разрушают и хлорофилл, и каротин. В увядающих растениях грибы *Penicillium glaucum* за 24 часа полностью разложили каротин. Напротив разложение каротина в силосной массе не интенсивно и зависит от количества воздуха оставшегося между листьями. Разложение каротина в силосной массе тормозится применением редуцирующих соединений, например  $\text{NaHSO}_3$ . Хлорофилл в кислой среде засилосованных кормовых трав почти полностью разрушается.

В опыте III выявилось, что во время хранения высушенных трав, медленно протекающее в темноте окисление вызывает значительные потери пигментов. При увеличении температуры разрушение становится более интенсивным. Влияние температуры видно на рис. 4.

В опыте IV оказалось, что потеря пигментов во время хранения сена зависит от содержания влаги. Интересно отметить, что наименьшие потери каротина отмечались не при наименьшем содержании влаги, а при 10% содержании ее. Влияние влажности на содержание каротина показано на рис. 5.

В опыте V изучалось антиокислительное влияние «Токоферола» и водного раствора аскорбиновой кислоты. Оказалось, что окислительное разложение пигментов происходит медленнее в растениях обработанных витамином E, чем при обработке аскорбиновой кислотой. Это объясняется растворимостью пигментов в липоидных веществах. Влияние этих двух антиокислителей показано на рис. 6. Проведенные опыты имеют практическое значение. В опыте 1/а удалось определить оптимальное время увядания необходимое для минимальных потерь каротина, оказалось, что необходимо всего три часа увядания перед сушкой сена. Опыт 1/в показывает на вредное влияние внешней влаги. Из этого следует, что во время естественной сушки кормовых трав необходимо беречь растение от утренних рос

и туманов т. к. в увлажненной растительной массе увеличивается разложение пигментов под влиянием света.

Из результатов опыт II, видно, что расстеленное на поверхности почвы сено, вследствие энзиматического грибного разложения, теряет большое количество каротина, поэтому не целесообразно проводить сушку в валах. В силосной массе, в хорошо уплотношенном материале не происходит потерь каротина от микроорганизмов, отрицательное влияние остаточного воздуха хорошо компенсируется такими химическими препаратами, которые закрепляют кислород и в то же время являются биологически нейтральными. Из результатов опыта III видно, что при хранении сена необходимо создавать прохладные условия, не допускать освещенности и хорошо уплотнять сено.

Опыты IV показали, что потеря каротина в слишком сухих или слишком влажных кормах происходит интенсивнее, чем при содержании влаги в 10%, поэтому необходимо избегать слишком влажных или слишком сухих условий хранения. Из результатов опыта V видно, что при низком или слишком высоком содержании влаги, а так же в теплых климатических условиях целесообразно тормозить разложение пигментов применяя антиокислители.

*Рис. 1.* Изменение сухого вещества в % и содержание каротина в пересчете на сухое вещество двух образцов люцерны, высушенных при интенсивной солнечной радиации (1, 2), и одного образца люцерны, высушенной в полутемных условиях (3) в зависимости от времени солнечного освещения. (Все данные являются средними из трех измерений).

*Рис. 2.* Изменение содержания хлорофилла и каротина у одного и того же образца люцерны в зависимости от времени солнечного освещения. (Данные пересчитаны на сухое вещество и являются средними из трех измерений).

*Рис. 2/а.* Изменения содержания хлорофилла и каротина одного и того же образца люцерны в начальной стадии завядания (данные в пересчете на сухое вещество и являются средними трех параллельных измерений.)

*Рис. 3.* Изменения сухого вещества в % и фотолитическое разложение каротина в высыхающем образце люцерны (1) и в таком образце, где поддерживается постоянная влажность опрыскиванием, в зависимости от солнечного освещения. (В пересчете на сухое вещество, средние данные трех параллельных измерений.)

*Рис. 4.* Снижение содержания каротина в зависимости от времени хранения в 2-х образцах люцерны, при различных температурах хранения. (Кривые являются данными в пересчете на сухое вещество и средними двух параллельных измерений.)

*Рис. 5.* Изменение содержания каротина во время хранения у трех образцов люцерны одного и того же происхождения, но с различным содержанием влаги. (Данные в пересчете на сухое вещество, являются средними 2-х измерений.)

*Рис. 6.* Изменение содержания каротина в зависимости от времени хранения трех образцов сена люцерны одного и того же происхождения, из которых один был обработан раствором аскорбиновой кислоты, (1) другой раствором  $\alpha$ -Токоферол (2) и без обработки (3). (В пересчете на сухое вещество, средние данные двух параллельных измерений.)

## Carotene and Chlorophyll Decomposition in Feeds

L. III. ÁSZ

Department of Crop Production, College of Agricultural Sciences, Keszthely (Hungary)

### Summary

Decomposition of pigments has been studied in five experimental series which, for easier reproduction, were set up as model tests.

In the 1/a experimental series pigment decomposition processes taking place in cut plant material of lucerne under the influence of intensive sunshine were examined. The relationships are presented by the curves in Figs. No. 1., 2. and 2/a. From the diagrams of Fig. 1. it appears that in intensive sunshine carotene content in the initial phase of wilting temporarily still increases, to markedly decline after 2 to 4 hours. From Figs. 2. and 2/a the run of the carotene and chlorophyll decomposition curves can be compared, with the result, that in contrast to carotene the decomposition of chlorophyll immediately starts upon the action of light.

The objective in the experiment marked I/b was to study decomposition of pigments occurring in plant material the drying of which was hindered, under the influence of sunlight. Photolytic curves of plant material artificially kept moist by a fine water spray and of material the drying of which was not hindered are compared in Fig. 3. The comparison revealed that after

exposition to sunlight for about 8 hours decomposition of carotene in the test material the drying of which has been hindered was more intensive and while the mass the drying of which was unimpaired after 16 hour's application of sunshine still had 55 mg carotene content per kg dry matter, the carotene content of the sprayed sample after the same period of exposition declined practically to zero.

In the experiment No. II. fermentative pigment decomposition taking place in the dark was studied. Under aerobic conditions some fungus species intensively decompose both chlorophyll and carotene. In a wilted plant material the fungus *Penicillium glaucum* within 24 hours completely decomposed carotene. Carotene decomposition in silages on the other hand is not considerable and depends only on the amount of stagnant air remaining among the plant fibres.

Carotene decomposition in silages can be largely inhibited with strong oxygen — withdrawing reductive agents, e.g. with  $\text{NaHSO}_3$ . In ensilaged feeds chlorophyll in acid medium is almost completely decomposed.

III. In storage of dried feeds the slow oxidation which otherwise takes place also in the dark causes a considerable loss of pigments. Decomposition is accelerated by higher temperatures. The action of temperature is illustrated by Fig. 4.

IV. The loss of pigments during storage of hay depends also on moisture content. Contrary to expectations the lowest carotene loss appeared not at the minimum water content but at about 10 per cent. Influence of moisture content is shown in Fig. 5.

V. When studying the antioxidative effect of tocopherol and aqueous ascorbic acid solution, in the plant-mass treated with vitamin E the oxidative decomposition of pigment proved to be slower than in the mass moistened with ascorbic acid solution. This can be explained by the fat solubility of pigments. The effects of the two antioxidants is shown in Fig. 6.

The experiments conducted are of practical value. In test I/a optimum wilting time necessary for minimum carotene loss was determined and demonstrated that no more than 3 to 4 hour wilting is needed before artificial drying to hay. Test I/b points to the exceedingly injurious action of external moisture. According to these results the feed in natural drying of hay must be protected even against dew and fog in the morning because in the plant mass when it got moist increased decomposition of pigments takes place upon the action of light. — II. Drying hay spread over the soil surface suffers increased carotene loss by fungus fermentation; therefore windrow drying must be avoided if possible. In silages when the mass of feed is highly compacted, no carotene losses occur by the activity of microorganisms while pigment losses caused by rest of air can be reduced with biologically neutral oxygen — withdrawing preserving agents. — III. In storage of hay it is suitable to the purpose to maintain cool dark environment and thorough compacting of the feed. IV. Both in the excessively dry and the moister feed carotene losses are higher than in the case of 10 per cent water content and therefore both wet and excessively dry conditions should be avoided in storage. V. Under conditions of low or excessively high relative humidity and in warm climatic conditions it is suitable to the purpose to inhibit pigment decomposition with antioxidants.

*Fig. 1.* Change of carotene content as related to dry matter and of per cent dry matter content as a function of the period of exposition to sunshine in two lucerne samples dried in intensive sunshine (1, 2) and one dried in half light. (All measuring data are mean values of three parallel examinations.)

*Fig. 2.* Change of chlorophyll and carotene content of identical samples of lucerne as a function of exposition to sunlight. (Data are related to dry matter, all measurements representing the mean of three parallels.)

*Fig. 2/a.* Change of the carotene and chlorophyll contents in identical samples of lucerne in the initial phase of wilting. (Data are mean values from three parallel measurements and related to dry matter.)

*Fig. 3.* Comparison of photolytic carotene decomposition and change of per cent dry matter content in a lucerne sample the drying of which was unimpaired (1) and of an other the drying of which was inhibited with water spray, as a function of the time period of sunshine action. (Data are mean values of three parallel measurements and refer to dry matter.)

*Fig. 4.* Reduction of carotene level as a function of period of storage in two originally identical lucerne hay samples stored at different temperatures. (Data of the curves refer to absolute dry matter and represent mean values of two parallel measurements.)

*Fig. 5.* Change of carotene content during storage in three lucerne hay samples of identical origin but adjusted to different moisture contents. (Data refer to dry matter and represent the mean values of two parallel measurements in each case.)

*Fig. 6.* Changes of carotene level as a function of storage period in three lucerne hay samples of the same origin treated with ascorbic acid (1)  $\alpha$ -tocopherol solution (2) and untreated respectively (3) (Data are mean values of two parallel measurements and refer to absolutely dry matter.)