



ISSN 1407-4427

LATVIJAS
LAUKSAIMNIECĪBAS
UNIVERSITĀTE

RAKSTI

PROCEEDINGS OF THE
LATVIA UNIVERSITY OF
AGRICULTURE

Nr. 21 (316), 2008
JELGAVA

SATURS / CONTENTS

Turning Rural Potential into Success. Farm Diversification from Resource-Based Viewpoint / Lauku potenciālu pārveidojot veiksmē. Lauku saimniecību darbības dažādošana: <i>L. Rantamäki-Lahtinen</i>	1
Daži kūstmēslu normatīvu izstrādes metodiskie aspekti / Methodological Approach for Development of Manure Reference Values: <i>A. Kārklīšs, I. Līpenīte</i>	11
Levels of Benzo(a)pyrene (BaP) in Fish, Smoked According to Different Procedures / Benzo(a)pirēna (BaP) saturs zivīs, tās kūpinot dažādos apstākļos: <i>I. Stumpe-Vīksna, A. Morozovs, V. Bartkevičs, A. Kukāre</i>	24
Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs eļļās / The Content of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oils: <i>I. Stumpe-Vīksna, A. Morozovs, V. Bartkevičs, A. Kukāre</i>	30
Prebiotikas – probiotisko baktēriju vairošanās un dzīvotspējas veicinātājas pienā / Prebiotics – the Influencing Factors on Growth and Survival of Probiotics in Milk: <i>I. Beitāne, I. Ciproviča</i>	42
Lopbarības raksturojums piena izmaksu aspektā / Characteristics of Forage from the Aspect of Milk Costs: <i>J. Latvietis, V. Auziņš, S. Strikauska, I. Eihvalde</i>	51
Kontroles dienas modeļa pielietošana piena šķirņu vaislas bulļu ģenētiskajā novērtēšanā / Genetic Evaluation of Dairy Sires Using a Test Day Model: <i>R. Sarma</i>	57
Distribution of Growth Stimulating and Degradation Factors in Cow's Endometrium in Postparturition Period / Augšanu stimulējošo un degradācijas faktoru izplatība govju endometrijā pēcdzemdību periodā: <i>I. Šematoviča, A. Jemeljanovs, M. Pilmane</i>	66
Matrices metaloproteināzes, interleikīns-10, tumoru nekrotiskais faktors- α , neuropeptīdi un apoptoze govju endometrijā pēcdzemdību periodā / Matrix Metalloproteinases, Interleukine-10, Tumor Necrosis Factor- α , Neuropeptides and Apoptosis in Cow's Endometrium in Postparturition Period: <i>I. Šematoviča, A. Jemeljanovs, M. Pilmane</i>	73
Detection of Gastric <i>Helicobacter</i> -like Microorganisms in Feral Raccoon Dogs (<i>Nyctereutes Procyonoides</i>) And Domestic Dogs (<i>Canis Familiaris</i>) / Kuņģa helikobaktēriju noteikšana savvaļas jenotsuņiem (<i>Nyctereutes procyonoides</i>) un mājas suņiem (<i>Canis familiaris</i>): <i>D. Bērziņa, E. Birģele</i>	79
A Comparison of Numerical Values of X-Ray Morphometrical Parameters Between Rottweilers and Other Dog Breeds in Diagnostics of Hip Dysplasia / Rentgenomorfometrisku parametru skaitlisko vērtību salīdzinājums starp rotveileru un citu suņu šķirnēm gūžu locītavu displāzijas diagnostikā: <i>O. Kozinda</i>	86
Ūdeņu kvalitātes standarta noteikšana pēc biogēno elementu koncentrācijas notecē no lauksaimniecībā izmantotajām platībām / Setting of the Water Quality Standards for Nutrients in Run-off from Agricultural Land: <i>A. Lagzdīņš, V. Jansons, K. Abramenko</i>	96
Illīta politīpu pētījumi glaciģēnos nogulumos / Illite Polytypes Studies in Glacigenic Sediments: <i>I. Lūse, V. Segliņš, A. Stunda, L. Bērziņa-Cimdiņa</i>	106
Inulin Syrup from Dried Jerusalem Artichoke / Inulīna sīrups no kaltēta topinambūra: <i>M. Bekers, M. Grube, D. Upite, E. Kaminska, A. Danilevich, U. Viesturs, D. Karklina</i>	116

REDKOLĒGIJA / EDITORIAL BOARD

Jānis Alsiņš, vad. pētn., Dr.phil., Upsalas universitāte
 Biruta Bankina, asoc.prof., Dr.biol., LLU
 Mārtiņš Beķers, prof., Dr.habil.biol., LU
 Jānis Brauns, prof., Dr.habil.sc.ing., LLU
 Jānis Greivulis, prof., Dr.habil.sc.ing., RTU
 Aleksandrs Jemeljanovs, prof., Dr.habil.agr., Dr.med.vet., LLU
 Daina Kārklīņa, prof., Dr.sc.ing., LLU
 Māris Kļaviņš, prof., Dr.habil.chem., LU
 Rihards Kondratovičs, Dr.habil.biol., LU
 Ēriks Kronbergs, prof., Dr.sc.ing., LLU
 Maija Kūle, prof., Dr.habil.phil., Filozofijas un socioloģijas institūts, LU

Petrs Lazauskas, prof., Dr.habil.biol., Lietuvas Lauksaimniecības universitāte
 Imants Liepa, prof., Dr.habil.biol., LLU
 Īzāks Rašals, prof., Dr.habil.biol., LU
 Kazimirs Špoģis, prof., Dr.habil.oec., LLU
 Liudvikas Špokas, prof., Dr.habil.sc.ing., Lietuvas Lauksaimniecības universitāte
 Henns Tuherts, prof., Dr.habil.sc.ing., Dr.h.c., LLU
 Jānis Valters, prof., Dr.habil.sc.ing., Ūdenssaimniecības un zemes zinātniskais institūts
 Uldis Viesturs, prof., Dr.habil.sc.ing., Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūts, LU
 Pēteris Zālītis, prof., Dr.habil.silv., LVZMI "Silava"

ATBILDĪGAIS REDAKTORS / RESPONSIBLE EDITOR

Aldis Kārklīšs, prof., Dr.habil.agr., LLU

© Latvijas Lauksaimniecības universitāte (LLU) 2008

LLU Raksti ir indeksēti datubāzēs CAB Abstracts un AGRIS. / The journal is indexed and abstracted by databases CAB Abstracts and AGRIS.

LLU Raksti (Proceedings of the Latvia University of Agriculture) is a scientific journal published by the Latvia University of Agriculture since 1946. The Proceedings operates on a non-profit basis.

Editorial Office: Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001, Latvia;

phone: + 371-630-05671; fax: + 371-630-05685; e-mail: Inga.Skuja@llu.lv.

Printed and bound in Jelgava by Jelgavas tipogrāfija.

Turning Rural Potential into Success
Farm Diversification from Resource-Based Viewpoint
Lauku potenciālu pārveidojot veiksmē
Lauku saimniecību darbības dažādošana

Leena Rantamäki-Lahtinen
MTT Agrifood Research Finland
e-mail: leena.rantamaki-lahtinen@mtt.fi

Abstract. Farms possess many valuable resources which can also be used in novel non-agricultural enterprises. The subject of this paper is to discuss how farm diversification can be approached within the resource-based theory (RBT) framework. Key questions are: what kinds of resources are important in diversified farms, and how diversified farms can compete with specialized firms. Although the resource-based theory is seldom used in farm management studies, it provides a good theoretical framework for farm diversification. According to data collected in a postal survey in 2006 (n=749), Finnish conventional farmers valued tangible results higher than non-farm entrepreneurs did. Also the latter valued intangible things highly, such as the firm's image or customer relationships. Diversified farms were an in-between group. Diversified farms were equally successful or even slightly more successful than non-farm enterprises in possessing the needed resources. Thus, farmers who have diversified are well placed in possessing general resources to run their farm-firm complexes. In the future, intangible resources are becoming more and more important in many sectors, so in the long run we should focus on them.

Key words: farm diversification, resource-based theory, rural area.

Introduction

Rural areas and the use of rural resources are going through rapid socio-economic change. Globalization, fierce competition in world markets, crises in food safety, and poor profitability of many agricultural products have led to a decrease in farm incomes and increased uncertainty. New demands for land use and environmental issues will certainly change the operational environment of rural industries. In a similar manner, globalization, rapid technological change and population trends have affected other economic sectors in rural areas. Consequently, there is an urgent need for new enterprises and new income opportunities. At the same time, there is an increasing demand for rural services and products. Rural areas have many specific resources which can be used in many ways and they do provide unique business opportunities. Farm diversification provides one solution in meeting the demands. Local farmers are often well placed to take advantage of possibilities for increasing demand for rural products and services

(Haines and Davies, 1987; Carter, 1998; Rantamäki-Lahtinen et al., 2007).

Diversification is not by any means a novel phenomenon among farmers. Agricultural historians have reported diversification activities from medieval times (Friedmann, 1986; ref. by Carter and Ram, 2003). Recently, there is clearly an increasing interest toward diversification. For instance, the share of farms with other gainful activity¹ (OGA) has risen from 7.3% to 8.1% at EU-25 levels from 2003 to 2005. In Norway 32%, in Finland 29%, in France 25%, and in the UK 25% of farms have other gainful activities (Eurostat 2007).

It can be predicted that the role of diversified farms will increase in the future. As agriculture is going through big changes, policymakers as well as farmers have many expectations concerning non-agricultural diversification. Farms do possess many valuable resources which can be used in non-agricultural enterprises as well. Diversification is, however, quite a challenging way of running a (small- and medium-

¹ 'Other gainful activity is an activity which does not comprise any farm work but is directly related to the holding using its resources and has an economic impact on the holding' (Eurostat 2007). The term is narrower than the definition of farm diversification in this paper.

sized) enterprise. The subject of this paper is to discuss how farm diversification can be approached within the resource-based theory framework. Key questions are: what kinds of resources are important in diversified farms and how diversified farms can compete with specialized firms.

Core Concepts

In this paper, the term ‘diversified farm’ refers to a farm where a farmer/farm family runs the farm and also to a non-agricultural enterprise (Vihtonen and Haverinen, 1995; Rantamäki-Lahtinen, 2004). The term ‘diversification’ covers farming and non-agricultural diversification within the same enterprise and portfolio entrepreneurship. The former has two or more business economic sector entries within the one company (Robson et al., 1993, p. 38). Portfolio entrepreneurs are people who run at least two separate registered businesses simultaneously (see e.g., Carter, 1998; Rosa and Scott, 1999; Ucbasaran et al., 2003). The majority of farm businesses could be classified as ‘farm family businesses’ (Gasson et al., 1988; Gasson and Errington, 1993). Reed et al. (2002) stress that the role of the family might actually be even more important in diversified farms. Given the crucial importance of the family, the concept of the single portfolio entrepreneur has been extended to cover the entire farm family.

Resource-Based Theory (RBT)

The resource-based theory (RBT) combines two different approaches: a management perspective and an economics perspective. It can provide resource-level and firm-level explanations of sustained performance differences among firms. However, it is not very suitable for industry-level analysis. Hence, it is complementary, for example, for Porter’s Diamond theory and game theory (Peteraf and Barney, 2003).

In RBT, the firm is defined as a collection of resources (Penrose, 1995, p. 77). These resources and the products of the firm are two sides of the same coin: most products require several resources (Wernerfelt, 1984). Vice versa, most resources can be used in different ways, and a firm can seek new competitive advantages by using these resources in new ways, turning them to new products or services (Coates and McDermott, 2002). In RBT, it is seen that firms – or farms – are *bundles* of heterogeneous resources. The resources can be defined broadly as inputs into the production process (Grant, 1991) or as tangible or intangible assets which firms use to develop their strategies (Barney and Arikan, 2005; Ray et al., 2004). There is a common understanding among the researchers of the field that the focus should be on valuable or *critical* resources and capabilities

which have a significant positive effect on costs or perceived benefits. These critical resources are important for their value-generating ability and their scarcity (Peteraf and Barney, 2003).

According to Barney and Arikan (2005), many basic assumptions of the RBT are similar to those of other theories of persistent superior performance. In fact, it has only two fundamental assumptions which are different from other frameworks. These assumptions are, first, resource heterogeneity and, second, resource immobility. Heterogeneity of available and potential resources gives each firm its unique character (Penrose, 1995, p. 75). According to Barney and Arikan (2005), it is assumed that some firms, for some of the time, *may* possess valuable resources which enable them to develop and implement strategies better than competitors (resource heterogeneity) and that these resource differences *may* be continuous (resource immobility). In empirical work, this type-positioning of RBT and strategic management is used as a means of determining which resources offer competitive advantage (see e.g., Forsman, 2004; Perry et al., 2005). Competitive advantage means that the firm implements a *value-creating* strategy which is not implemented by current or potential competitors (Barney and Arikan, 2005). Grant (1991) linked the resources and capabilities to long-term strategy. Resources and capabilities, on the one hand, provide the basic direction for the strategy and, on the other hand, they are also the primary sources of profit which one could also understand as the success of the firm.

Diversification and RBT

‘... A firm is essentially a pool of resources the utilization of which is organized in an administrative framework. In a sense, final products being produced by a firm at the any given time merely represent one of the several ways in which the firm could be using its resources, an incident in the development of its basic potentialities’ (Penrose, 1995, pp. 149-150).

Diversification has many advantages for a firm. Firms diversify to other businesses in an effort to reduce risk or dependence on certain products or markets, to capitalize opportunities, to seek synergies in terms of markets, products or technology, to strive for aggressive growth, to gain power through markets or market and capital access or to reflect the owners’ and/or managers’ aspirations and goals (Sambharya, 2000). Penrose (1995) stated that even though it might be true for most lines of production that productivity and costs would, *ceteris paribus*, be lower in specialized firms, the fact is only limited for the determination of the most profitable use of its resources in *changing conditions*. The changing nature of business opportunities provides a firm with

possibilities to invest in new avenues, while at the same time maintaining its current lines of businesses. There are several problems in diversification strategy as well. In order to perform well, a firm must overcome these problems. Diversification strategy has several risk elements, and entering into different markets is obviously a risky business (Markides, 1997). *Over-diversification* refers to the situation when a firm diversifies beyond the optimal limit, and the diversification starts to have a negative effect on profitability and the firm's market value (Markides, 1995).

RBT has been used to explain diversification strategy as it is a theory which is fundamentally concerned with the internal accumulation of assets with asset specificity and, less directly, transaction costs. RBT has a very significant advantage in that it works as a unifying theory which allows it to view both related and unrelated diversification through a common lens (Peteraf, 1993). Thus, RBT has drawn attention from product-market actors to resource factors. RBT has been applied to diversification strategy in different ways. RBT can provide explanation for *limits in a firm's growth*. It suggests that a firm's human and physical resources limit the markets in which the firm can enter and its ability to produce and fund needed investments and growth management. RBT can provide explanations as to why firms diversify and explain the underlying principle for the direction of the diversification. RBT can also provide an explanation for the relationship between performance and a chosen diversification strategy. In particular, the theory explains how resources which are associated within certain diversification types are related to performance. RBT can provide an explanation for portfolio-level relationships and how such linkages can be used to explain financial performance and, finally, it can also provide new insights for the efficient management of diversification strategy (Bergh, 2005, pp. 362-367).

Markides and Williamson (1996) stressed that diversification will only enhance performance, if it allows a firm to obtain preferential access to critical resources which cannot be purchased or replaced by its non-diversified rivals. Even then, the advantage will eventually perish when non-diversified competitors imitate them and asset erosion affects these resources. One of the most important ways to obtain new strategic assets or critical resources is to accumulate them through learning. A diversified firm might have a possibility to use its former experiences when it is creating new critical assets or core competences in other fields, and thus, derive long-term benefit of this kind of *dynamic relatedness*. In order to gain a sustainable competitive advantage by sharing these critical resources between different lines of industry,

the firm must also have an organizational structure which is more efficient in realizing the benefits of sharing than the alternative transaction modes used by competing non-diversified firms (Robins and Wiersema, 1995).

Farm Diversification and RBT

Over the years, researchers representing numerous disciplines have studied farm diversification and portfolio entrepreneurship. They have been studied, e.g., from viewpoint of agricultural economics, small business research, sociology, rural policy studies, development studies, and social anthropology. Some studies have focused on a single farm diversification industry, like agro-tourism (Hjalager, 1996; Busby and Rendle, 2000; Nickerson et al., 2001) or on on-farm processing (Ekman and Andersson, 1998). In addition, diversification could be classified as one of the key issues in strategic management literature concerning large enterprises (see e.g., Penrose, 1995; Markides, 1997; Sambharya, 2000; Park, 2002; Carter and Ram, 2003; Singh et al., 2004). However so far, not much small business or farm management research has used an RBT framework directly, although it is very promising approach.

Pascotto (2006) stated that, in diversified Italian farms, a diversification enterprise produces a high contribution to total revenues, even though the greater proportion of work time is spent on agriculture. This is due to the use of agricultural resources in the diversification activity, i.e., *joint resources*. Cabrera-Suárez et al. (2001) argued that family firms have some resources which have brought them competitive advantage on the markets. These *family business types* with critical resources are, for instance, the high level of commitment of the family members and employees and their dedication to the firm, and the quality and trust which are often related to family businesses. Torkko (2006) studied farm diversification in her dissertation. Her main objective was to find factors by which positive development could be promoted. A qualitative study was made using hermeneutic methods and a case-study approach. The main results were that farmers had stronger product-related skills as compared to marketing, and diversified farms did not have official strategies. Kujala et al. (2006) studied innovative business concepts among farmers who ran diversified farms in the area of Etelä-Pohjanmaa in western Finland. Triangulation of quantitative and qualitative data and methods were used. According to the results, the farmer himself is the key actor when successful innovative business concepts are created. His ideas, know-how and courage were the most crucial factors when ideas were developed for innovations. In order to create business growth

among diversified farms, resources which are based on an innovation environment should be in more effective use and attention should be paid especially to focusing these resources.

Alsos and Carter (2006) studied resource transfer from agriculture to other business ventures and performance consequences on diversified Norwegian farms. Their results indicate that there is a substantial resource transfer, especially when a diversification enterprise is closely related to agriculture through horizontal or vertical integration. Farms which have relatively more resources, such as knowledge or office premises, also transferred more of them to the new business. According to the study, resource transfer affects both positively and negatively the profitability performance of new ventures. The transfer of physical resources did enhance the performance, but the transfer of know-how actually hindered the performance of the new venture.

There are several studies which have not directly used RBT but have results which help to understand farm diversification from the resource-based angle. There are several studies to hand from all over the world which have explored why farmers have diversified in the first place, and whether they are happy with the chosen path. Nickerson et al. (2001) studied motivations for agro-tourism among farmers and ranchers in Montana. According to their results, farmers/ranchers had multiple reasons for diversification, including economic factors, such as agricultural income fluctuations, tax incentives and meeting the demand of growing recreational markets.

Rantamäki-Lahtinen (2004) studied diversification strategy and decision-making in diversified Finnish farms from the perspective of management. According to the results, the objectives to start non-agricultural entrepreneurial activities on farms were driven by both opportunity and necessity. Farm diversification could be implemented through vertical integration or horizontal integration or agriculture and the non-agricultural enterprise might be unrelated. Results also indicate that existing (spare) resources affect the direction of the diversification. On those farms which had vertically or horizontally integrated agriculture and diversified enterprise, the initial objectives to diversify linked in closely with existing spare physical resources, such as own raw materials and machinery.

Preliminary Empirical Findings from Finnish Data

Diversification is relatively common on Finnish farms. In 2005, there were 24 200 diversified farms in Finland, which is about 35% of the total farm

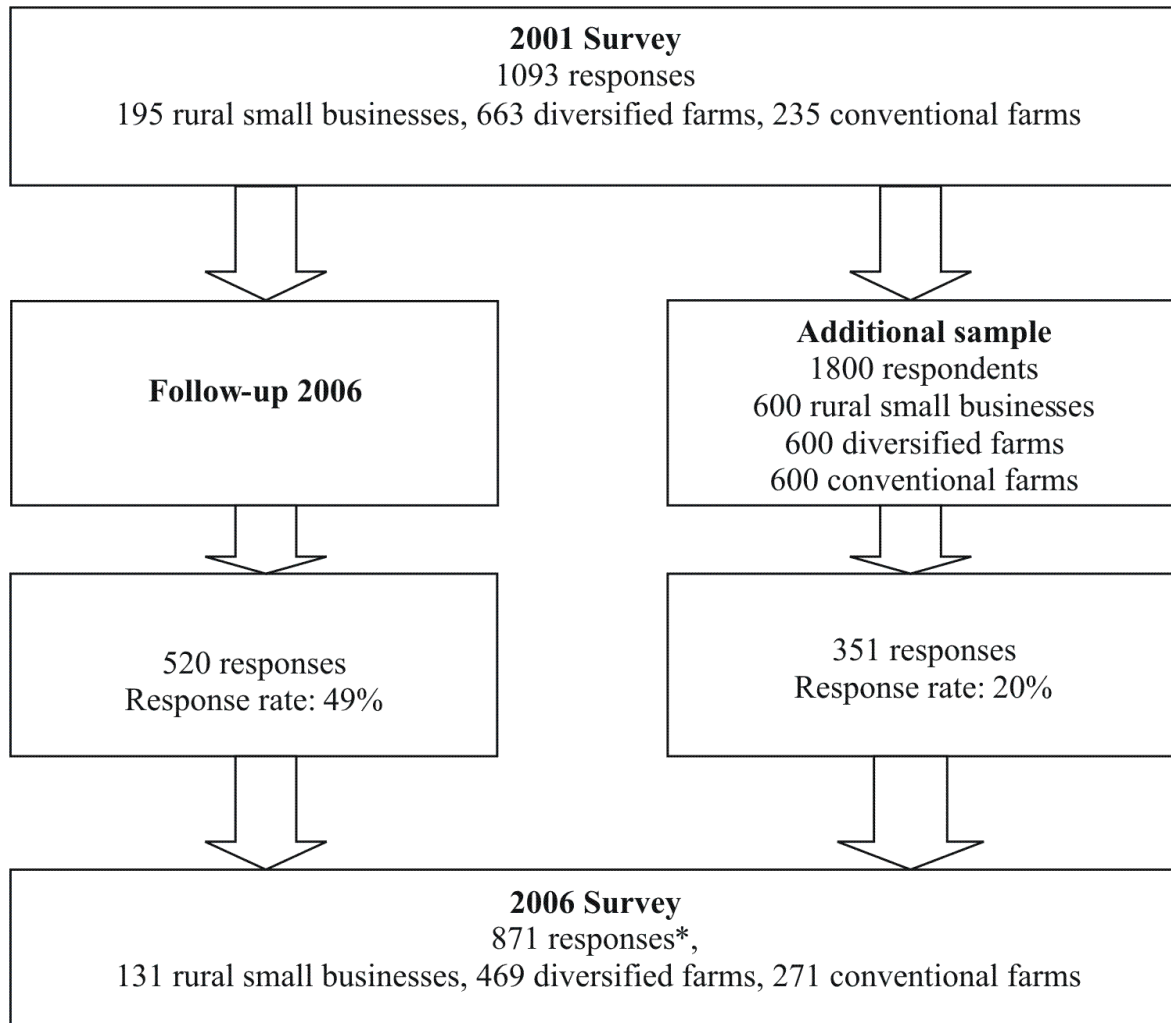
population. Of these, 86% used their agricultural resources (labor and machinery, land or raw materials) in their diversification enterprise (Mustalahti and Rantamäki-Lahtinen, 2006). Resource allocation, therefore, is indeed an important issue for these farms.

MTT Agrifood Research, TTS Research and the Department of Social Psychology of the University of Helsinki are currently working with an ongoing study 'Changing rural entrepreneurship—Changes on entrepreneurial identity and resource management among Finnish farmers and other rural entrepreneurs during 2000–2006'. The focus of the project is on resource management and entrepreneurial identity. The large postal survey data collected in 2006 are utilized. The data consist of two data sets: panel data that was the follow-up survey for the similar survey 2001 and an additional sample.

The data consisted of three main groups: 1) non-agricultural small-scale businesses ('non-farm enterprises'), 2) farmers who also had non-agricultural business ('diversified farms'), and 3) conventional farmers concentrating only on agriculture ('conventional farms'). Data collection procedure and response rates are illustrated in Figure 1.

The survey was sent in autumn 2006, and for those who did not respond at the first time, it was sent again about a month later. The questionnaire consisted of questions or of a series of questions organized under different headings, such as background information about the respondent, identity, economic information about the firm/farm, resource management, firm/farm co-operation and outsourcing of work, organization of the administrative and management tasks. In this article four variables were utilized:

- How important resource ... is/are in your industry in general? (The list of 13 resources, evaluated in scale 1-3, where 1 = not important, 3 = very important.)
- Own resources compared to competitors. (The list of same 13 resources, evaluated in scale 1-5, where 1 = significantly weaker, 3 = similar, 5 = significantly better.)
- The use of agricultural resources to diversification enterprise. (The list of 7 possible farm resources that could be utilized in other activities, evaluated in scale 1-5, where 1 = not at all, 5 = very much.)
- The use of non-agricultural resources to diversification enterprise. (The list of 7 possible farm resources that could be utilized in other activities, evaluated in scale 1-5, where 1 = not at all, 5 = very much.)
- The use of non-farm resources to farming. (The list of 6 possible non-farm resources that could



* Of which 749 were accepted to analysis concerning resources. Some questionnaires were incompletely filled, and some respondents had retired/closed down their enterprise.

Fig. 1. Data collection procedure and response rate.

be utilized in farming, evaluated in scale 1-5, where 1 = not at all, 5 = very much.)

There are two limits of the data. As mentioned, only the data collected in 2006 concerning the use of resources are used in the analysis presented in this paper. The 2001 data did not have variables that could be used in the analysis concerning the resource use. Second, the focus on diversified farms were on farms where the turnover of non-farm activity is relatively significant (over 8 400 Euros). In addition, some of the respondents had not answered to all questions. This is why results cannot be generalized for the whole population of diversified farms as such. However, it can be assumed that the outcomes that have come to light during the analysis also exist for real-life decision-making among the whole population of diversified farms.

Results

What Kinds of Resources are Important to Diversified Farms?

The use of resources and their importance was measured on different kinds of rural firms. Forsman (2004) created indicators for critical and base resources in small rural food-processing firms, and her results were utilized when this study was designed. The questions concerning the relative importance of different resources on the whole industry and questions on the same resources possessed by the respondent's firm or farm were asked of all respondents (conventional farms, diversified farms, and non-farm enterprises). Different resources are important (or critical) in different industries. As shown in Table 1, only two variables, technology and networks, were valued similarly in all three enterprise groups. Farmers

Table 1

Importance of different resources in different rural enterprises (2006 data)

How important resource ... is/are in your industry in general?	Non-farm rural enterprises (n = 127)		Diversified farms (n = 377)		Conventional farms (n = 245)		Kruskall-Wallis test	
Scale 1–3: 1 = not important 2 = important 3 = very important	Mean	Mode	Mean	Mode	Mean	Mode	Chi square	p
Raw materials	1.80	1	2.12	3	2.34	3	36.00	0.000
Technology	2.19	2	2.36	2	2.35	2	5.89	0.053
Buildings	1.93	2	2.23	2	2.37	2	28.69	0.000
Capital	2.05	2	2.35	2	2.38	2	19.60	0.000
Labour	2.65	3	2.47	3	2.50	3	8.28	0.016
Products	2.08	2	2.03	2	1.77	2	24.62	0.000
Business skills	2.57	3	2.53	3	2.40	2	11.87	0.003
Firm image	2.73	3	2.53	3	2.17	2	67.13	0.000
Customer relationships	2.87	3	2.70	3	2.35	2	89.12	0.000
Professionalism of owners	2.86	3	2.84	3	2.74	3	12.72	0.002
Networks	2.35	2	2.44	3	2.37	2	3.40	0.183
Quality	2.86	3	2.79	3	2.71	3	10.46	0.005
Logistic systems	2.04	2	2.27	2	2.40	2	20.28	0.000

Table 2

Own resources compared to competitors

Own resources compared to competitors	Non-farm rural enterprises (n = 127)		Diversified farms (n = 377)		Conventional farms (n = 245)		Kruskall- Wallis test	
Scale 1–5: 1 = significantly weaker 3 = similar 5 = significantly better	Mean	Mode	Mean	Mode	Mean	Mode	Chi square	p
Raw materials	3.05	3	3.16	3	3.08	3	4.46	0.108
Technology	2.92	3	3.09	3	2.84	3	1.14	0.565
Buildings	3.00	3	2.98	3	2.92	3	13.36	0.001
Capital	2.96	3	3.22	3	3.17	3	6.70	0.035
Labour	3.38	3	3.29	3	3.17	3	7.90	0.019
Products	3.10	3	3.09	3	2.83	3	14.95	0.001
Business skills	3.25	3	3.27	3	3.14	3	3.90	0.142
Firm image	3.52	3	3.50	3	3.21	3	22.74	0.000
Customer relationships	3.54	3	3.60	3	3.25	3	31.74	0.000
Professionalism of owners	3.58	3	3.60	3	3.39	3	11.46	0.003
Networks	3.14	3	3.21	3	3.15	3	0.83	0.662
Quality	3.64	3	3.62	3	3.36	3	22.31	0.000
Logistic systems	2.99	3	3.02	3	3.10	3	3.03	0.220

valued tangible results (raw materials, buildings) higher than non-farm entrepreneurs did. The latter, on the other hand, valued intangible things higher, such as the firm's image or customer relationships. Diversified farms were sort of an in-between group, which is very typical and natural to them, as they have common characteristics with both groups (see e.g., Vesala and Peura, 2002; Rantamäki-Lahtinen et al., 2007).

The respondents were also asked to describe what was their own situation possessing resources when

they compared their situation with their competitors (scale 1–5: 1 = significantly weaker, 3 = similar, 5 = significantly better), i.e., if they did have competitive advantage in owning that resource. The results are shown in Table 2. Between enterprise groups, there were statistically significant differences ($p < 0.05$) almost in all variables except for four resources: control of raw materials, technology, business skills and networks, and logistics systems. According to this data, diversified farms were equally successful or even slightly more successful in possessing

Use of agricultural resources to other activities 2006 on Finnish diversified farms (N=360)

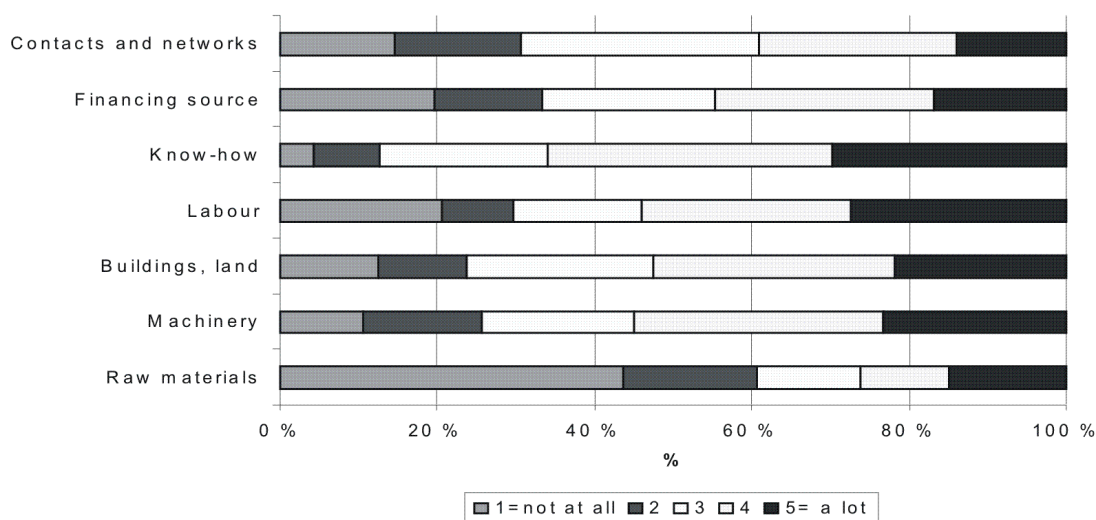


Fig. 2. The use of agricultural resources to diversification enterprise.

Use of non-farm resources to farming 2006 on Finnish diversified farms (N=361)

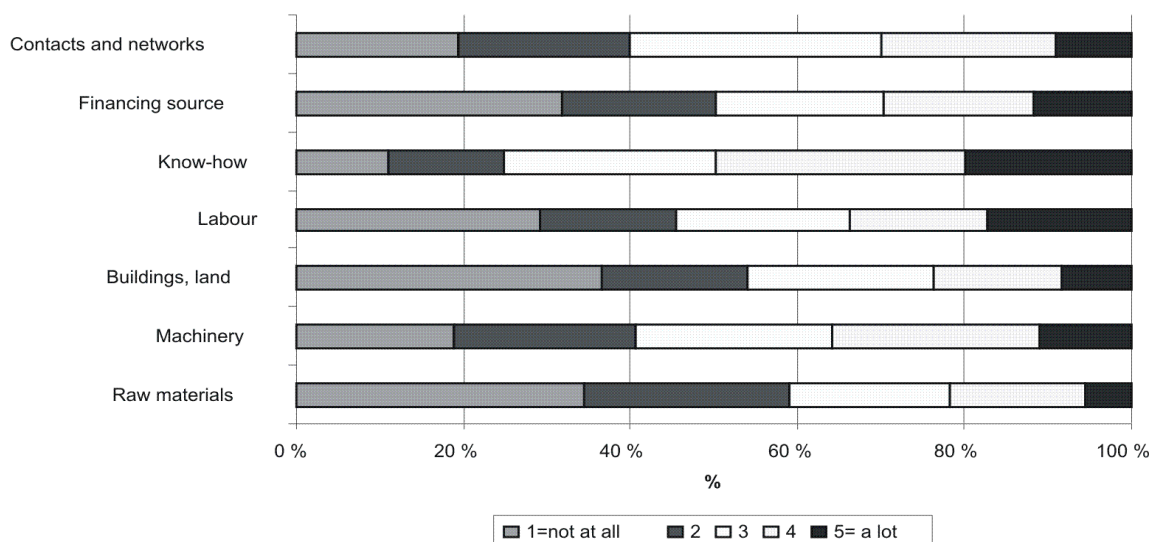


Fig. 3. The use of non-farm resources to farming.

needed resources over non-farm enterprises in most variables. Thus, it can be concluded that, in general, diversified farms do have quite a good situation in possessing general resources to run their farm-firm complexes.

Use of Agricultural Resources to Other Entrepreneurial Activities

The use of agricultural resources on non-agricultural activities was queried in the survey. As expected, it turned out that most of the diversified farms use at least some farm resources in their other activities (Figure 2). The most used resources from farming were know-how, machinery and labor, and the least used were raw materials produced on the farm. The use of joint resources goes also the other way around. Many farms utilize resources of the diversification enterprise in their farming (Figure 3), although these resources were slightly less used. The most used resources of diversification enterprise utilized in farming were know-how, machinery and labor, and the least used were raw-materials and buildings. The project is on-going. The data will be analyzed by using structural equation model in order to find out the causal linkages between the use of resources and the firm success. Special attention will be paid to knowledge and the learning enterprise approach will be utilized.

Conclusions

The resource-based theory provides a promising framework for firm- and resource-level analysis of farm diversification from farm management studies. Although the resource-based theory is seldom used in farm management studies, somewhat similar ideas and approaches have been used by researchers, advisers and farmers. For instance, calculating gross margins for different agricultural products, and then optimizing the gross margin of the farm, has been used for decades. Farms and rural areas do have many specific valuable resources which can be turned into non-agricultural products and services. In the current turbulent situation of agricultural markets, these non-farm products and services in many cases give better profits in the long run over conventional farm products.

However, diversification is not an easy option for a farm. Small diversified firms must compete with specialized firms. Unless such a firm can efficiently use joint resources, competing might be difficult, just as for a specialized firm it is easier to develop economies of scale.

According to results from Finnish postal survey data (n= 749) presented in this article, diversified farms were equally successful or even slightly

more successful in possessing needed resources than non-farm enterprises and in most cases were more successful than conventional farms. Thus, it can be concluded that, in general, diversified farms do have quite a good situation in possessing general resources to run their farm-firm complexes and can compete with more specialized rural firms. Lines of industries differ in their needs, and this shows in the results of this study. Conventional farmers valued tangible results higher than non-farm entrepreneurs did, and the latter valued intangible things higher, such as the firm's image or customer relationships. Diversified farms were sort of an in-between group which is very typical and natural to them as they have common characteristics with both groups. These findings are in line of other studies made in the field. Pascotto (2006) found in diversified Italian farms that a diversification enterprise makes a high contribution to the total revenues, even though the greater part of the work time is spent on agriculture. This is due to the use of agricultural resources in the diversification activity, i.e., joint resources. The results of this article indicate that using joint resources is very common among diversified farms, and use of joint resources might enhance their general resources, although this link needs more elaborating and more detailed data.

At the moment many joint tangible resources play a big role in many cases and special attention should be paid to their use in the short run. However, according to results presented in this paper, also intangible resources, such as contacts and networks and know-how, are very much used jointly in agriculture and other activities. These findings are in line with other studies. According to Kujala et al. (2006), in order to create business growth among diversified farms, resources which are based on an innovation environment should be in more effective use and attention should be paid especially to focusing on these resources. Similarly, Alsos and Carter (2006) found that a transfer affects both positively and negatively the profitability performance of new ventures, and that the transfer of physical resources does enhance the performance, but the transfer of know-how actually hinders the performance of the new venture.

Although the tangible resources were in much focus in this study, it can be presumed that in the future, intangible resources, such as organizational learning, are becoming more and more important in many sectors, so in the long run we should focus on them. Also, according to results of this survey, diversified farms very commonly use agricultural resources in their non-farm business.

References

1. Alsos, G.A., Carter, S. (2006) Multiple business ownership in the Norwegian farm sector: Resource transfer and performance consequences. *Journal of Rural Studies* 22, pp. 313-322.
2. Barney, J.B., Arikan, A.M. (2005) The resource-based view: origins and implications. In: Hitt, M.A. et al. (eds.) *The Blackwell Handbook of Strategic Management*. Malden, USA; Oxford, UK; Carlton, Australia: Blackwell Publishing Ltd., pp. 124-188.
3. Bergh, D.D. (2005) Diversification strategy research at crossroads. In: Hitt, M.A. et al. (eds.) *The Blackwell Handbook of Strategic Management*. Malden, USA; Oxford, UK; Carlton, Australia: Blackwell Publishing Ltd., pp. 363-383.
4. Busby, G., Rendle, S. (2000) The transition from tourism on farms to farm tourism. *Tourism Management* 21, December, pp. 635-642.
5. Cabrera-Suarez, K., Saa-Perez, P., Garcia-Almeida, D. (2001) The Succession Process from a Resource- and Knowledge-Based View of the Family Firm. *Family Business Review*, 14, pp. 37-48.
6. Carter, S. (1998) Portfolio entrepreneurship in the farm sector: indigenous growth in rural areas? *Entrepreneurship and Regional Development*, 10, pp. 17-32.
7. Carter, S., Ram, M.E. (2003) Reassessing Portfolio Entrepreneurship. *Small Business Economics*, 21, pp. 371-380.
8. Coates, T.T., McDermott, C.M. (2002) An exploratory analysis of new competencies: a resource based view perspective. *Journal of Operations Management*, 20, September, pp. 435-450.
9. Ekman, S., Andersson, H. (1998) The economics of on-farm processing: model development and an empirical analysis. *Agricultural Economics*, 18, pp. 177-189.
10. Eurostat 2007. *Agricultural holdings with another gainful activity than agricultural production*: http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page?_pageid=1996,39140985&_dad=portal&_schema=PORTAL&screen=detailref&language=en&product=Yearlies_new_agriculture&root=Yearlies_new_agriculture/E/E1/E11/eda12570 – Accessed on 20 April 2007.
11. Forsman, S. (2004) How do small rural food-processing firms compete? A resource-based approach to competitive strategies. *Agricultural Food and Science*, 13, pp. 1-130.
12. Friedmann, H. (1986) Family enterprises in agriculture: structural limits and political possibilities. In: Cox, G. et al. (eds.) *Agriculture—people and policies*. London: Allen & Unwin, pp. 41-60.
13. Gasson, R., Crow, G.E., Errington, A., Hutson, J., Marsden, T., Winter, D.M. (1988) The farm as a family business: a review. *Journal of Agricultural Economics*, 39, pp. 1-41.
14. Gasson, R., Errington, A. (1993) *The farm family business*. Oxon, UK: CAP international, 290 pp.
15. Grant, R.M. (1991) The Resource-Based Theory of Competitive Advantage: Implications for Strategy Formulation. *California Management Review*, 33, p. 114.
16. Haines, M., Davies, R. (1987) *Diversifying the farm business*. UK: BSP Professional Books, 304 pp.
17. Hjalager, A. (1996) Agricultural diversification into tourism: Evidence of a European Community development programme. *Tourism Management*, 17, March, pp. 103-111.
18. Kujala, P., Ylätaalo, M., Lehtonen, P. (2006) Maatilakytkentäisten yritysten innovatiiviset liiketoimintakonseptit. Hopponen A. (ed.). In: *Maataloustieteen Päivät 2006 [verkkojulkaisu]*. <http://www.smts.fi/esit06/1302.pdf>: Suomen Maataloustieteellinen Seura, pp. 1-6.
19. Markides, C. (1997) To diversify or not to diversify. *Harvard Business Review*, November 1997, pp. 93-99.
20. Markides, C.C. (1995) Diversification, Restructuring and Economic Performance. *Strategic Management Journal*, 16, pp. 101-118.
21. Markides, C.C., Williamson, P.J. (1996) Corporate Diversification and Organizational Structure: A Resource-Based View. *The Academy of Management Journal*, 39, pp. 340-367.
22. Mustalahti, I., Rantamäki-Lahtinen, L. (2006) *Maatilojen muu yritystoiminta 2005*. Tike. Vantaa, pp. 1-37.
23. Nickerson, N.P., Black, R.J., McCool, S.F. (2001) Agritourism: Motivations behind Farm/Ranch Business Diversification. *Journal of Travel Research*, 40, pp. 19-26.
24. Park, C. (2002) The Effects of Prior Performance on the Choice Between Related and Unrelated Acquisitions: Implications for the Performance Consequences of Diversification Strategy. *Journal of Management Studies*, 39, pp. 1003-1019.
25. Pascotto, S. (2006) Labour organization and economical aspects with on-farm diversifying households; some evidence from Italian Alpine Areas. *International Journal of Rural Management*, 2, pp. 1-28.

26. Penrose, E. (1995) *The theory of the growth of the firm*. 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press, 272 pp.
27. Perry, L.T., Hansen, M.H., Reese, C.S., Pesci, G. (2005) Diversification and Focus: a Bayesian Application of the Resource-Based View. *Schmalenbach Business Review (SBR)*, 57, pp. 304-319.
28. Peteraf, M.A. (1993) The Cornerstones of Competitive Advantage: a Resource-Based View. *Strategic Management Journal*, 14, pp. 179-191.
29. Peteraf, M.A., Barney, J.B. (2003) Unraveling the Resource-Based Tangle. *Managerial and Decision Economics*, 24, pp. 309-23.
30. Rantamäki-Lahtinen, L. (2004) Maatilojen monialaistaminen: empiirinen analyysi monialaisuuteen vaikuttavista tekijöistä. *Maa-ja elintarviketalous 50*. MTT Agrifood Research, Economic Research. Helsinki, 131 pp.
31. Rantamäki-Lahtinen, L., Vesala, H., Vesala, K., Ylätaalo, M., Karttunen, J., Tuure, V. (2007) How to measure success in rural small business? How to measure success in rural small business? *International council for small business 52nd world conference. Conference proceedings (CD-rom)*. Turku: Turku School of Economics, pp. 1-23.
32. Ray, G., Barney, J.B., Muhanna, W.A. (2004) Capabilities, business processes, and competitive advantage: choosing the dependent variable in empirical tests of the resource-based view. *Strategic Management Journal*, Vol. 25, pp. 23-37.
33. Reed, M., Lobley, M., Winter, M., Chandler, J. (2002) *Family farmers on the edge: Adaptability and change in farm households*. Final report for countryside agency. University of Plymouth and University of Exeter, UK, pp. 1-128.
34. Robins, J., Wiersema, M.F. (1995) A Resource-Based Approach to the Multibusiness Firm: Empirical Analysis of Portfolio Interrelationships and Corporate Financial Performance. *Strategic Management Journal*, 16, pp. 277-299.
35. Robson, G., Gallagher, C., Daly, M. (1993) Diversification strategy and practice in small firms. *International Small Business Journal*, 11, pp. 37-53.
36. Rosa, P., Scott, M. (1999) The prevalence of multiple owners and directors in the SME sector: implications for our understanding of start-up and growth. *Entrepreneurship and Regional Development*, 11, pp. 21-37.
37. Sambharya, R.B. (2000) Assessing the Construct Validity of Strategic and SIC-Based Measures of Corporate Diversification. *British Journal of Management*, 11, pp. 163-173.
38. Singh, M., Mathur, I., Gleason, K.C. (2004) Governance and Performance Implications of Diversification Strategies: Evidence from Large U.S. Firms. *The Financial Review*, 39, pp. 489-526.
39. Torkko, M. (2006) Maatilakytkentäisten yritysten toimintamalleja : laadullinen tutkimus resursseista, kehittymisestä ja ohjaustarpeista. Oulun yliopisto. *Acta Universitatis Ouluensis*, 239, p. 141.
40. Ucbasaran, D., Wright, M., Westhead, P., Busenitz, L.W. (2003) The impact of entrepreneurial experience on opportunity identification and exploitation: habitual and novice entrepreneurs. In: Jerome A. Katz and Dean A. Shepherd (ed.). *Advances in Entrepreneurship, Firm Emergence and Growth*. JAI, pp. 231-263.
41. Vesala, K.M., Peura, J. (2002) Yrittäjäidentiteetti monialaisilla maataloilla. Mikkeli: Helsingin yliopisto, maaseudun tutkimus- ja koulutuskeskus. *Julkaisuja / Helsingin yliopisto. Maaseudun tutkimus- ja koulutuskeskus*, 78, p. 95.
42. Vihtonen, T., Haverinen, T. (1995) *Monialaisen maatilayrityksen tuloslaskenta*. Helsinki: MTTL. MTTL:n tiedonantoja 202, 110 pp.
43. Wernerfelt, B. (1984) A Resource-based View of the Firm. *Strategic Management Journal*, 5, pp. 171-180.

Anotājija

Lauku saimniecībām pieder daudz vērtīgu resursu, kurus var izmantot pilnīgi jaunu, ar lauksaimniecību nesaistītu uzņēmumu izveidošanā. Raksta mērķis ir analizēt, kā saimniecību darbības profila paplašināšanu var pielietot uz resursiem balstītas teorijas ietvaros. Atslēgas jautājumi ir: kādi resursu veidi ir nozīmīgi plaša profila saimniecībās un kā tās var sacensties ar specializētiem uzņēmumiem. Lai gan uz resursiem balstītā teorija reti tiek izmantota saimniecību vadības studijās, tā sniedz labu teorētisko pamatu saimniecību darbības dažādošanā. Saskaņā ar aptaujas datiem (n=871), kas 2006. gadā tika veikta pa pastu, materiālos rezultātus augstāk vērtēja somu tradicionālie lauksaimnieki nekā ar lauksaimniecību nesaistītie uzņēmēji. Turklāt pēdējie augsti vērtēja nemateriālas lietas, tādas kā firmas tēls un attiecības ar klientiem. Plaša profila saimniecības atradās starp šīm abām grupām, tās bija vienlīdz veiksmīgas vai pat nedaudz veiksmīgākas par nelauksaimnieciskajiem uzņēmumiem nepieciešamo resursu apgūšanas ziņā. Var prognozēt, ka nākotnē daudzus sektoros arvien nozīmīgāki kļūs nemateriālie resursi, tādēļ uzmanība jākoncentrē uz tiem.

Daži kūtsmēsļu normatīvu izstrādes metodiskie aspekti Methodological Approach for Development of Manure Reference Values

Aldis Kārklīšs, Ināra Līpenīte

LLU Lauksaimniecības fakultāte

Faculty of Agriculture, LLU

e-mail: Aldis.Karklins@llu.lv

Abstract. Development of reference values for manure mass balance and NP content calculations has high priority within the EC considering environmental problems. The objective is to harmonize the calculation approach and methods within the EC member States necessary for establishment of common environmental standards and unified risk assessment. Afterwards such reference values are incorporated into the national legislative acts to set up the framework for control and monitoring of NP loads from farming activities. The objective of the research was to test the recommended method of EEC for NP excretion by animals using animal feed norms, typical of Latvia, for calculations. The obtained results for dairy and beef cattle and pigs show a good agreement between reference values used in other EC countries if NP consumption-excretion model is applied. Therefore not significant differences between Latvia and other EC countries in terms of manure standards and animal unit definitions might be realistic.

Key words: N and P in manure, manure normatives, animal units.

Ievads

Lai mazinātu un kontrolētu lauksaimnieciskās darbības negatīvo ietekmi uz vidi, Eiropas Savienības (ES) Nitrātu direktīva (91/676/EEC) un tai sekojošie likumdošanas akti nosaka maksimāli pieļaujamo ar kūtsmēsliem augsnē iestrādājamo slāpekļa daudzumu un paredz kūtsmēslos esošā N un P iekļaušanu kultūraugu mēslošanas plānos un bilances aprēķinos. Tas nozīmē, ka šo divu bioķīmiski aktīvo elementu plūsmām ar kūtsmēsliem ir jāvelta atbilstoša uzmanība un tos nevar vienkārši ignorēt, t.i., neņemt vērā daudzumus, kas nonāk kūtsmēslos un ar tiem – augsnē. Aprīte nav noslēgta, tās laikā novērojami zudumi – emisijas vai noplūdes. Tādējādi lopkopības operācijas producē un izplata vidē bioķīmiski aktīvus savienojumus. Cik to veidojas, kāda ir to aprīte agroekosistēmā un ekosistēmā, kāda ir lopkopībā un augkopībā lietoto tehnoloģiju nozīme, un citi faktori – tie ir jautājumi, kas rada interesi, lai objektīvi izvērtētu lauksaimniecības slodzi vidē.

Slāpekļa un fosfora daudzuma uzskaitē saimniecībā saražotajos kūtsmēslos nav iespējama bez ticamiem, pašreizējiem saimniekošanas apstākļiem atbilstoši iegūstamā kūtsmēsļu daudzuma un to sastāva normatīviem. Pagaidu kūtsmēsļu normatīvi (Labas lauksaimniecības ..., 1999) un precīzētie kūtsmēsļu ķīmiskā sastāva rādītāji (ZM Rīkojums ..., 2005) sniedz informāciju par dažādu dzīvnieku sugu, vecuma un produktivitātes grupu gadā saražoto kūtsmēsļu masu atšķirīgās lopu turēšanas sistēmās, kā

arī par kūtsmēsļu sausas saturu un ķīmisko sastāvu, kas noteikts kūtsmēsliem pēc to uzglabāšanas. Tomēr pastāv pamatotas bažas par pašreizējo (publicēto) kūtsmēsļu ķīmiskā sastāva normatīvu atbilstību reālajai situācijai.

Tā kā kūtsmēsli nav homogēns materiāls, praktiski nav iespējams iegūt viendabīgu paraugu, kas adekvāti raksturotu barības elementu saturu to kopējā masā. Slāpekļa saturs kūtsmēslos samazinās to uzkrāšanas un uzglabāšanas laikā, tāpēc kūtsmēsļu paraugu analīžu rezultāti netiek uzskatīti par pietiekami reprezentatīviem rādītājiem. Eiropas Komisija (EK) Nitrātu direktīvas ieviešanai Eiropas Savienības (ES) valstīs 1999. gadā ir izstrādājusi un rekomendējusi vienotu metodoloģiju dzīvnieku izdalītā slāpekļa (kopš 2005. g. arī izdalītā fosfora) daudzuma aprēķināšanai (ERM/AB–DLO, 1999; ERM, 2003; Cottrill and Smith, 2005; Funaki and Parris, 2005; Poulsen et al., 2006). Metode pamatojas uz bilances principu, kas nosaka, ka no dzīvnieka izdalītais N un P daudzums ir starpība starp elementu masu, ko dzīvnieks uzņem ar barību un masu, kas tiek izmantota dzīvības procesu uzturēšanai, dzīvmasas palielināšanai, kā arī pāriet attiecīgajā lopkopības produkcijā. Līdzīga metodoloģija kūtsmēsļu normatīvu noteikšanai tiek izmantota arī citviet pasaulē (Powers and Koelsch, 2002; Erickson et al., 2003; Nennich et al., 2005; Wustenberghs et al., 2008).

Aprēķiniem nepieciešamie dati par slāpekļa un fosfora patēriņu dzīvības procesu uzturēšanai,

reprodukcijai un produkcijas veidošanai dažādām dzīvnieku sugām, vecuma un produktivitātes grupām tiek iegūti daudzveidīgos izmēģinājumos un ir salīdzinoši stabili rādītāji (Wilkerson et al., 1997; Dourmad et al., 1999; Poulsen et al., 1999; Ferguson et al., 2002; ERM, 2003). Izdalītā slāpekļa normatīvs ir paredzēts dzīvnieku vienību definēšanai katrai dzīvnieku sugai un to vecuma grupām, kā arī kopējā pieļaujamā dzīvnieku skaita (dzīvnieku blīvuma) noteikšanai saimniecībās. Pēdējā laikā šo aprēķinu principu izmanto, lai mērķtiecīgi koriģētu ar dzīvnieku barības devām izdalītā slāpekļa un fosfora samazināšanu kūtsmēslos (Dou et al., 2002; O'Connell et al., 2006).

Latvijā kūtsmēsļu normatīvu izstrāde pēc minētās metodes pagaidām nav veikta, jo praktiski vairumā saimniecību, it sevišķi nelielās, nav apkopotī dati par reāli izlietotiem dzīvnieku barības līdzekļiem un to devām. Pētījuma mērķis bija pārbaudīt Eiropas Savienībā ieteiktās metodikas (turpmāk tekstā – EEC metodika) izmantošanas iespējas jaunu kūtsmēsļu normatīvu izstrādei, balstoties uz iespējamo dzīvnieku ēdināšanai rekomendēto barības līdzekļu devu variantiem, kā arī vērtēt Latvijā pieņemto dzīvnieku vienību aprēķina atbilstību ES standartiem.

Materiāli un metodes

Dzīvnieku izdalītā slāpekļa un fosfora daudzuma noteikšana veikta atbilstoši EEC metodikai (ERM/AB–DLO, 1999; Cottrill and Smith, 2005; Standard values ..., 1998), par pamatu ņemot Latvijā dzīvnieku ēdināšanai rekomendētos lopbarības saunas, proteīna un fosfora vajadzības normatīvus (Osītis, 1998; Latvietis, 1977). Atbilstoši metodikai kūtsmēsļu slāpekļa un fosfora normatīvu pēc dzīvniekiem

izbarotās lopbarības daudzuma un sastāva nosaka, balstoties uz sakarību:

$$NP_k = NP_b - NP_{pr} - NP_z,$$

kur

NP_k – slāpekļa un fosfora masa kūtsmēslos pēc to uzglabāšanas, kg uz dzīvnieku vai dzīvnieka vietu gadā;

NP_b – slāpekļa un fosfora masa dzīvniekiem izbarotajā lopbarībā, kg uz dzīvnieku gadā;

NP_{pr} – slāpekļa un fosfora masa, kas pāriet dzīvniekos un to saražotajā produkcijā, kg uz dzīvnieku gadā;

NP_z – slāpekļa un fosfora zudumi kūtsmēsļu ieguves, uzkrāšanas un uzglabāšanas laikā, % no izdalītā daudzuma.

Dzīvnieka izdalītā slāpekļa un fosfora masu NP_i nosaka pēc starpības starp to daudzumiem izbarotajā lopbarībā NP_b un saražotajā produkcijā NP_{pr} :

$$NP_i = NP_b - NP_{pr}.$$

Pētījumā dzīvnieku vecuma grupas un produktivitātes parametri izvēlēti atbilstoši to iedalījumam esošajos kūtsmēsļu normatīvos, kā arī ņemot vērā pieejamos datus par barības vajadzību. Slāpekļa un fosfora daudzumu, kas tiek izmantots dzīvmasas un produkcijas veidošanai, nosaka pēc dzīvmasas pieauguma, saražotās produkcijas apjoma un N un P satura attiecīgās dzīvnieku sugas vai grupas dzīvmasā un produkcijā. Aprēķinos izmantotie slāpekļa un fosfora satura rādītāji dzīvnieku dzīvmasā un produkcijā apkopoti 1. tabulā.

1. tabula / Table 1

Daži slāpekļa un fosfora satura normatīvi dzīvmasas pieaugumam un produkcijai

(pēc ERM/AB–DLO, 1999; ERM, 2003; Cottrill and Smith, 2005)

N and P normatives for the production of live weight and animal products

Dzīvnieku grupa / Category of animals	Parametrs / Parameter	N saturs, % / N content, %	P saturs, g kg ⁻¹ / P content, g kg ⁻¹
Slaucamās govīs / Dairy cows	dzīvmasas pieaugumā / in gain	2.5	7.5
	iegūtajā teļā / in calf	2.9	6.0
	pienā / in milk	0.53	1.05
Nobarojamie jaunlopi / Growing cattle	dzīvmasas pieaugumā / in gain	2.7	7.5
Nobarojamās cūkas / Fattening pigs	dzīvmasas pieaugumā / in gain	2.5	6.0
	dzīvmasas pieaugumā cūkai / in gain for sow	2.5	3.3
Sivēnmātes / Sows	dzīvmasā sivēniem / in piglets	2.5	7.0

Aprēķinu piemērā izmantotie organiskās masas, slāpekļa, fosfora un kālija zudumi, kas var rasties kūtsmēsļu savākšanas–glabāšanas laikā, ir ņemti no literatūras: Environmental Impacts ..., 1991. Šajā publikācijā fosfora un kālija saturs ir izteikts atbilstošu elementu P un K veidā.

Rezultāti un diskusija

Izdalītā slāpekļa un fosfora daudzumi slaucamajām govīm atkarībā no to dzīvmasas un saražotā piena daudzuma ir apkopoti 2. tabulā. Pētījumā iegūtie dati rāda, ka Latvijā dzīvnieku ēdināšanai paredzētie barības saunas normatīvi ir nedaudz augstāki, nekā to paredz EC metodikā ietvertais aprēķina modelis, kas izveidots, balstoties uz Dānijā, Holandē un Vācijā veikto pētījumu datiem (ERM/AB–DLO, 1999; ERM, 2003). Govīm ar dzīvmasu no 425 līdz 650 kg un izslaukumu no 5000 līdz 7000 kg nepieciešamais saunas apjoms minētajās valstīs noteikts intervālā no 4280 līdz 5945 kg lopbarības saunas gadā, paredzot 0.5 kg saunas 1 kg piena saražošanai, bet pārējo daudzumu – dzīvmasas un teļa veidošanai. Vidējais

slāpekļa saturs lopbarībā, ko aprēķinājām pēc kopproteīna vajadzības, mūsu aprēķinos svārstījās no 2.16 līdz 2.47% un bija salīdzinoši zemāks par EC normatīvu – 2.8% N.

Latvijas barības normatīvos paredzētā fosfora vajadzība slaucamajām govīm ir 3.2–3.8 g kg⁻¹ P, kas arī bija zemāka par literatūrā sastopamajiem datiem – 3.8–4.8 g kg⁻¹ P (Dou et al., 2002; Cottrill and Smith, 2005). Izmantojot 1. tabulas datus, tika aprēķināta iegūtajā pienā, teļā un govīs dzīvmasas pieaugumā akumulētā slāpekļa un fosfora masa. No kopējā uzņemtā šo elementu daudzuma izmantošanās veidoja aptuveni 23% N un 33% P, turklāt lielākā daļa uzkrājās pienā. Pēc barības vajadzības noteiktais izdalītā slāpekļa daudzums govīm ar izslaukumu 5000 kg piena gadā bija 90–97 kg N, bet ar izslaukumu 7000 kg – 107–129 kg N uz 1 dzīvnieku gadā. Iegūtie rezultāti samērā labi sakrīt ar vairākās ES valstīs noteiktajiem vidējiem rādītājiem (Cottrill and Smith, 2005), kā arī ar EC normatīvu (ERM, 2003), kas līdzīgas produktivitātes slaucamo govju grupām ir attiecīgi 92 un 127–128 kg N gadā. Pēc

2. tabula / Table 2

Barības vajadzība¹ un izdalītā slāpekļa un fosfora daudzums slaucamajām govīm Feed requirement and NP excreted by milking cows

Rādītājs / Parameter	Vērtības / Values					
Dzīvmasa, kg / Live weight, kg	400		500		600	
Izslaukums, kg / Milk production, kg	5000	7000	5000	7000	5000	7000
Barības vajadzība, kg saunas gadā / Feed requirement, kg DM year ⁻¹	5031	5813	5209	6081	5712	7008
N barībā (pēc kopproteīna vajadzības), % / Feed N content, % (crude protein requirement)	2.32	2.47	2.23	2.39	2.16	2.37
P barībā (pēc P vajadzības), % / Feed P content, %	0.35	0.38	0.34	0.38	0.32	0.36
SLĀPEKLIS, kg dzīvn. ⁻¹ gadā / NITROGEN, kg animal ⁻¹ year ⁻¹						
N, uzņemts ar barību / Feed N intake	117	144	116	145	123	166
N, akumulēts dzīvmasā un produkcijā / N in gain and produce	27	37	26	36	26	37
N, izdalīts / N excretion	90	107	90	109	97	129
FOSFORS, kg dzīvn. ⁻¹ gadā / PHOSPHORUS, kg animal ⁻¹ year ⁻¹						
P, uzņemts ar barību / Feed P intake	18	22	18	23	18	25
P, akumulēts dzīvmasā un produkcijā / P in gain and produce	6	8	6	8	5	7
P, izdalīts / P excretion	12	14	12	15	13	18

¹ Osītis, U. (1998) Barības līdzekļu novērtēšana atgremotāju ēdināšanā. Jelgava, 38 lpp.

Latvijā izstrādātajiem barības un fosfora vajadzības normatīviem aprēķinātais dzīvnieka izdalītais fosfora daudzums atkarībā no govju produktivitātes bija 12–18 kg P gadā. Tas praktiski neatšķīrās no citviet iegūtajiem datiem: Vācijā un Šveicē – 17, Holandē – 17.9, Zviedrijā – 15, Īrijā – 13 kg P no slaucamās govys gadā (Cottrill and Smith, 2005).

Atšķirībā no slaucamām govīm izdalītā slāpekļa un fosfora daudzuma aprēķins nobarojamiem jaunlopiem un telēm ir vienkāršāks, jo ēdināšanai lietotajos barības līdzekļos esošie NP krājumi tiek izmantoti tikai dzīvmasas pieauguma veidošanai. No dzīvnieka gada laikā izdalītais šo elementu daudzums tiek diferencēts pēc dzīvnieku vecuma grupām ar atšķirīgu barības vajadzību un sastāvu, ņemot vērā dzīvmasas izmaiņas. Pēc EC datiem jaunlopiem vecumā līdz 1 gadam normatīvais sausnas patēriņš ir 1400 kg (telītēm) un 1700 kg (bullīšiem), 1–2 gadu vecumā – attiecīgi 2600 kg un 2700 kg ar slāpekļa saturu no 2.0 līdz 3.4%.

3. tabulā apkopoti dati par jaunlopu ar barību patērētā, izmantotā un izdalītā slāpekļa un fosfora daudzumu atbilstoši normatīvajam barības patēriņam Latvijā. Tā kā aprēķiniem izmantotajos barības vajadzības normatīvos noteikta dzīvmasas pieauguma nodrošināšanai nepieciešamais sausnas, kopproteīna un fosfora daudzums atšķiras pa vecuma periodiem, tika noteikts aptuvenš vidējais barības patēriņš un

NP saturs tajā. Iegūtie orientējošie rezultāti uzrāda nedaudz paaugstinātu barības sausnas vajadzību (īpaši telēm), bet zemāku slāpekļa saturu. Izdalītais slāpekļa daudzums 39 kg N telēm un 45 kg N gadā 1–2 gadus veciem nobarojamiem jaunlopiem labi sakrīt ar Dānijas, Francijas, Šveices un Vācijas datiem, bet ir mazāks nekā Holandē (69.2 kg N) un Austrijā (52.6 kg N). Pēc fosfora vajadzības noteiktais izdalītā fosfora daudzums, kas bija 8–9 kg P gadā, līdzinās Holandes datiem, bet ir par 2–3 kg lielāks nekā citās iepriekšminētajās valstīs (Cottrill and Smith, 2005).

Izdalītā slāpekļa un fosfora aprēķinu rezultāti nobarojamām cūkām un sivēnmātēm ar sivēniem parādīti 4. tabulā. Šīm dzīvnieku grupām aprēķins nedaudz atšķiras, jo nobarojamām cūkām jāņem vērā nobarošanas ciklu skaits gadā, bet sivēnmātēm – barības vajadzība gan cūkai, gan sivēniem, kā arī slāpekļa un fosfora izmantošanās dzīvmasas pieaugumam gan cūkai, gan arī sivēniem.

Pēc barības sausnas, kopproteīna un fosfora vajadzības normatīviem, kas paredzēti cūkām nobarošanai no 20 līdz 130 kg, noteikts aptuvenš vidējais barības sausnas patēriņš – 340 kg uz dzīvnieku vai, rēķinot uz 2.2 nobarošanas cikliem, 748 kg uz dzīvnieka vietu gadā, vidējais slāpekļa saturs barībā – 2.86%, fosfora saturs – 0.66%. Aprēķinātais nobarojamo cūku izdalītā slāpekļa un fosfora daudzums veidoja 15 kg N un 3.3 kg P

3. tabula / Table 3

Barības vajadzība² un izdalītā slāpekļa un fosfora daudzums nobarojamiem jaunlopiem un telēm
Feed requirement and NP excreted by young stock

Rādītājs / Parameter	Nobarojamie jaunlopi / Beef cattle (150–450 kg)	Teles (6–24 mēn.) / Heifers (6–24 months)
Barības vajadzība, kg sausnas gadā / Feed requirement, kg DM year ¹	2765	2786
N barībā (pēc kopproteīna vajadzības), % / Feed N content, %	1.91	1.56
P barībā (pēc P vajadzības), % / Feed P content, %	0.39	0.38
SLĀPEKLIS, kg dzīvn. ⁻¹ gadā / NITROGEN, kg animal ⁻¹ year ¹		
N, uzņemts ar barību / Feed N intake	53	44
N dzīvmasas pieaugumā / N in gain	8	5
N, izdalīts / N excretion	45	39
FOSFORS, kg dzīvn. ⁻¹ gadā / PHOSPHORUS, kg animal ⁻¹ year ¹		
P, uzņemts ar barību / Feed P intake	11	10
P dzīvmasas pieaugumā / P in gain	2	2
P, izdalīts / P excretion	9	8

² Latvietis J. (sast.) (1977) *Dzīvnieku ēdināšanas normatīvi un barības sastāvs*. Rīga, Liesma, 49.–51. lpp.

Barības vajadzība³ un izdalītā slāpekļa un fosfora daudzums nobarojamām cūkām un sivēnmātēm
Feed requirement and NP excreted by pigs

Rādītājs / Parameter	Nobarojamās cūkas / Fattening pigs (20 – 130 kg)	Sivēnmātes (ar 18 sivēniem līdz 20 kg) / Sows (with 18 piglets up to 20 kg)
Barības vajadzība, kg sausnas gadā / Feed requirement, kg DM year ⁻¹	748	1360
N barībā (pēc kopproteīna vajadzības), % / Feed N content, %	2.86	2.59
P barībā (pēc P vajadzības), % / Feed P content, %	0.66	0.51
SLĀPEKLIS, kg dzīvsn. ⁻¹ gadā / NITROGEN, kg animal ⁻¹ year ⁻¹		
N, uzņemts ar barību / Feed N intake	10	47
N, akumulēts dzīvmasā / N in gain	3	10
N, izdalīts / N excretion	7	–
N, izdalīts, kg uz dzīvsn. vietu gadā / N excretion, kg per animal place per year	15	37
FOSFORS, kg dzīvsn. ⁻¹ gadā / PHOSPHORUS, kg animal ⁻¹ year ⁻¹		
P, uzņemts ar barību / Feed P intake	2.2	11
P, akumulēts dzīvmasā / P in gain	0.75	3
P, izdalīts / P excretion	1.5	–
P, izdalīts, kg uz dzīvsn. vietu gadā / P excretion, kg per animal place per year	3.3	8

uz dzīvnieka vietu gadā. Salīdzinājumam: pēc EK normatīviem vidējais barības sausnas patēriņš uz dzīvnieka vietu gadā (nobarojot no 25 līdz 105 kg) ir apmēram 700 kg ar 2.8% slāpekļa un 0.44% fosfora, bet izdalītā slāpekļa daudzums – vidēji 13.5 kg gadā. Dati par izdalītā fosfora daudzumu nobarojamām cūkām vairākās ES valstīs variē no 2.6 līdz 3.3 kg uz dzīvnieka vietu (ERM, 2003; Cottrill and Smith, 2005).

Veicot izdalītā slāpekļa un fosfora aprēķinus sivēnmātēm, nebija pieejami dati par sivēnu barības sausnas vajadzību un sastāvu, tāpēc izmantoti iepriekšminētajās publikācijās dotie rādītāji. Noteiktais izdalītā slāpekļa daudzums uz dzīvnieka vietu gadā bija 37 kg, kas ir nedaudz vairāk par vidējiem rādītājiem ES valstīs (21–32 kg N), bet izdalītā fosfora daudzums bija 8 kg, salīdzinot ar 6–10 kg P citās valstīs (Poulsen et al., 1999; Cottrill and Smith, 2005).

Pēc barības sausnas, kopproteīna un fosfora vajadzības noteiktie dažādu dzīvnieku grupu dzīvnieku izdalītā slāpekļa un fosfora daudzumi,

veicot aprēķinus pēc EC rekomendētām metodēm, praktiski neatšķirās no vidējiem rādītājiem citās ES valstīs. Minētās aprēķinu metodes ir pietiekami vienkāršas, lai tās varētu izmantot kūtmēsļu normatīvu izstrādē. Tomēr, nosakot izdalītā slāpekļa un fosfora normatīvu pēc patērētās lopbarības, būtiski ir zināt dzīvnieku izmantotos barības līdzekļus, t.i., daudzumu un ķīmisko sastāvu.

Saimniecības atkarībā no dzīvnieku ēdināšanas tipa, izmantotajiem barības līdzekļiem un devām arī izdalītais slāpekļa un fosfora daudzums varētu būt visai atšķirīgs. Lai par to pārliecinātos, tika veikti aprēķini dažādiem dzīvnieku barības devu variantiem, izmantojot dzīvniekiem nepieciešamos barības līdzekļus un to daudzuma rekomendācijas, kā arī izvēlēto barības līdzekļu ķīmiskā sastāva rādītājus (Latvietis, 1999; Osītis u.c., 2000). Iegūtie orientējošie rezultāti parādīja, ka, lietojot rekomendētās barības līdzekļu normas, praktiski visos gadījumos lopbarības sausnas patēriņš bija augstāks par vajadzību, tāpēc iegūtie izdalītā slāpekļa daudzumi pārsniedza normatīvos lielumus. Tā,

³ Latvietis J. (sast.) (1977) *Dzīvnieku ēdināšanas normatīvi un barības sastāvs*. Rīga, Liesma, 49.–51. lpp.

slaucamām govīm ar izslaukumu 5000 kg un 7000 kg atkarībā no izvēlētajiem barības līdzekļiem izdalītā slāpekļa daudzums bija attiecīgi 127–149 kg un 151–185 kg gadā, nobarojamiem jaunlopiem – 58–85 kg gadā, nobarojamām cūkām – 17–35 kg N uz dzīvnieka vietu gadā. Lai noteiktu faktisko Latvijas saimniecībās dažādu dzīvnieku sugu, produktivitātes un vecuma grupu gadā izdalītā slāpekļa un fosfora normatīvu, ir nepieciešams veikt regulāru, pilnīgu dzīvnieku ēdināšanai izmantotās lopbarības uzskaiti saimniecībās un noteikt lopbarības ķīmisko sastāvu.

Kūtsmēsļu normatīvu noteikšana pēc izēdinātās lopbarības neaprobežojas tikai ar dzīvnieku izdalītā slāpekļa un fosfora daudzuma aprēķinu. Galvenais normatīvais rādītājs, kuru izmanto praksē, ir no dzīvnieka gadā iegūtais slāpekļa un fosfora daudzums kūtsmēslos, ko izmanto kultūraugu mēslošanai, t.i., kūtsmēsļu masa un ķīmiskais sastāvs pēc to uzglabāšanas. Lai to noteiktu, papildus ir jāzina kūtsmēsļu ieguves laikā izmantoto pakaišu daudzums un sastāvs, saražoto kūtsmēsļu apjoms dažādās dzīvnieku turēšanas sistēmās saimniecībā, kā arī slāpekļa un fosfora masas zudumi no kūtsmēsliem to ieguves, uzkrāšanas un uzglabāšanas laikā. Šo lielumu noteikšanai arī ir vajadzīgi specifiski (un objektīvi) normatīvie lielumi, izlietoto materiālu (pakaiši) uzskaitē un atbilstoši aprēķini.

Ņemot vērā to, ka uzkrāto kūtsmēsļu daudzuma un ķīmiskā sastāva uzskaitē Latvijā ir jau saistoša četru rajonu (Rīgas, Jelgavas, Dobeles un Bauskas)

saimniecībām, kas atrodas Latvijā noteiktajās „Īpaši jutīgajās” teritorijās, tad šādu aprēķinu veikšanai nepieciešams praktiski realizējams modelis. Piedāvājam aprēķinu secību, kuru viegli var ieprogrammēt MS-EXCEL darba burtnīcā. Tad, izmantojot saimniecības lopbarības un pakaišu patēriņa datus, var noteikt gan uzkrājamo kūtsmēsļu masu, gan arī to iespējamo ķīmisko sastāvu, t.i., datus, kas nepieciešami mēslošanas plānošanā, kā arī vides risku izvērtēšanā. Aprēķina funkcionālā iespējamība tiek demonstrēta ar datiem, kas iegūti no reāli eksistējošas saimniecības, un tie var neatspoguļot zinātniski rekomendēto vai arī tipisko (Latvijai vidējo) situāciju, taču pieņemsim, ka absolūtajiem lielumiem šajā gadījumā nav būtiskas nozīmes.

5. tabulā redzami vienas slaucamās gov, kuras dzīvmasa ir 600 kg un izslaukums 6500 kg gadā, ēdināšanai izmantotie barības līdzekļi, kuru ķīmiskā sastāva dati ir ņemti no Latvijā publicētajiem normatīviem (Latvietis, 1977; Latvietis, 1999; Osītis u.c. 2000). Šajā piemērā tiek pieņemts, ka govīs ganībās uzturas samērā īslaicīgi un zāles zaļmasa tiek pļauta un piegādāta mājdzīvniekiem novietnē.

Dzīvnieku mītnē lietoto pakaišu masa un to ķīmiskais sastāvs, rēķinot uz vienu slaucamo govī, ir parādīts 6. tabulā.

Aprēķina secība, izmantojot 5. un 6. tabulā dotos izejas datus un literatūrā atrodamos normatīvus, ir apkopota 7. tabulā. Normatīvos lielumus aprēķinu gaitā ir iespējams mainīt, ja ir pieejami dati, kas

5. tabula / Table 5

**Lopbarības patēriņš vienas slaucamās govīs ēdināšanai gadā
Feed consumption per one milking cow per year**

Barības līdzekļi / Feed	Patērēts, kg / Consumption, kg	Sastāvs, dabiski mitrs, % / Composition, natural moisture content, %				Patērēts, kg / Consumption, kg			
		sausna / dry matter	N	P	K	sausna / dry matter	N	P	K
Ganību zāle / Pasture grass	10 400	16.16	0.44	0.05	0.31	1680.6	45.8	5.2	32.2
Siens / Hay	900	80.28	0.82	0.31	0.40	722.5	7.4	2.8	3.6
Skābbarība / Silage	11 250	20.69	0.42	0.08	0.42	2327.6	47.3	9.0	47.3
Placināti graudi (mieži+kvieši+auzas) / Rolled grain (barley+wheat+oats)	2190	88.23	2.26	0.24	0.49	1932.2	49.5	5.3	10.7
Sojas, rapša rauši / Soybean, rape cake	1094	87.00	6.40	0.97	1.42	952.1	70.0	10.6	15.5
Kopā / Total	×	×	×	×	×	7615.2	219.9	32.9	109.4

Izlietotais pakaišu materiāls gadā
Litter per one milking cow per year

Pakaiši, kompostējams materiāls / Litter, composting additives	Patērēts, kg / Consumption, kg	Sastāvs, dabiski mitrs, % / Composition, natural moisture content, %				Patērēts, kg / Consumption, kg			
		sausna / dry matter	N	P	K	sausna / dry matter	N	P	K
Zāģu skaidas / Saw dust	1500	70	0.04	0.01	0.03	1050	0.6	0.2	0.5
Kopā / Total	×	×	×	×	×	1050	0.6	0.2	0.5

saimniecības situāciju raksturo objektīvāk. Taču aprēķina loģika saglabājas.

Kūtsmēsļu sastāva aprēķina rezultātus būtiski var ietekmēt zudumu vērtības, kādas tiek pieņemtas attiecībā uz tiem slāpekļa savienojumiem (daļēji arī fosfora un kālija), kas emitē vai izskalojas (ja kūtsmēsli tiek uzkrāti kaudzēs bez ūdensnecaurlaidīga pamata) no izdalījumiem (ekskrementiem, urīna) un kūtsmēsliem novietnēs un uzglabāšanas vietās. Šo zudumu skaitliskās vērtības var variēt plašās robežās atkarībā no mājdzīvnieku novietnēs lietotajām tehnoloģijām un kūtsmēsļu uzkrāšanas-uzglabāšanas apstākļiem. Latvijā tieši mērījumi līdz šim nav veikti, tāpēc aprēķinā tiek izmantoti Dānijā iegūtie rādītāji (Standard values ..., 1998). Apzināti tiek pieņemtas vērtību augstākās robežas, apzinoties, ka tehnoloģiskais līmenis lopkopībā (dzīvnieku novietņu aprīkojums mēsļu izvākšanā, ventilācijas sistēmas, kūtsmēsļu glabātavas) Latvijā vidēji ir zemāks, salīdzinot ar Dāniju. Taču, ja ir objektīvi iemesli, šo zudumu skaitliskās vērtības var izvēlēties zemākas.

Apkopojot aprēķina piemērā iegūtos datus, varam teikt, ka pie minētajiem nosacījumiem gada laikā no slaucamās govys var iegūt 15 tonnas pakaišu kūtsmēsļu (pēc to uzglabāšanas, gatavus pielietošanai kā organisko mēslojumu), kuri dabiski mitrā veidā satur 0.46% slāpekļa, 0.12% fosfora (0.27%, ja izsaka P_2O_5 veidā) un 0.45% kālija (0.54%, ja izsaka K_2O veidā).

Rezultāti par izdalīto un kūtsmēslos uzkrāto slāpekļa un fosfora daudzumu, kas noteikti pēc piedāvātā aprēķinu modeļa un EEC metodikas, ir līdzīgi. Tā, piemēram, kūtsmēslos pēc uzglabāšanas uzkrātais slāpekļa daudzums, kas noteikts pēc EEC metodikas, ir 117 kg no govys gadā (tāpat kā 7. tabulā pieņemot, ka slāpekļa zudumi ir 40%). Tas raksturo kopējo gan krātuvē, gan arī ganībās nonākušo slāpekļa daudzumu. Atrēķinot slāpekļa daudzumu, kas izdalīts, dzīvniekiem atrodoties ārpus novietnes, iegūstam tā krātuvē uzkrāto masu – 79 kg N, kas tikai par 10 kg pārsniedz 7. tabulā 2.13. punktā noteikto

rādītāju – 69 kg N. Dati par iegūtajos kūtsmēslos uzkrāto fosfora masu ir vēl tuvāki, attiecīgi 18.8 un 18.4 kg P. Tādējādi piedāvātā metodika dod iespēju noteikt gan dzīvnieku izdalīto NPK daudzumu, gan arī krātuvē esošo kūtsmēsļu masu un tajā akumulēto augu barības elementu daudzumu, ko iespējams izmantot kultūraugu mēslošanai.

Iegūtos rezultātus var izmantot dzīvnieku vienību (DV) definēšanai, kā arī pieļaujama dzīvnieku skaita (dzīvnieku blīvuma) noteikšanai saimniecībās, ko reglamentē ES Nitrātu direktīva. Dzīvnieku vienības jēdziens ES valstīs nav vienots. Atkarībā no pielietošanas mērķa to nosaka gan pēc dzīvnieku dzīvības, gan barības vajadzības, gan dzīvnieka izdalīto barības elementu daudzuma. Latvijā (Grozījumi ..., 2007) dzīvnieku vienība ir nosacīts dzīvnieks, no kura gada laikā kūtsmēslos uzkrājas 100 kg N, rēķinot tikai to daļu, kas nonāk kūtsmēsļu krātuvē. Netiek ņemti vērā izdalījumi ganībās un pastaigu laukumos, kā arī tie zudumi (emisija, iespējamā izskalošanās, ja krātuves nav hermētiskas), kas rodas dzīvnieku novietnēs un kūtsmēsļu krātuvēs uzglabāšanas laikā. Pēc dotajiem normatīviem, piemēram, 1 slaucamā govys atbilst 0.7 dzīvnieku vienībām. Līdzīgu rezultātu uzrāda arī 7. tabulā veikto aprēķinu rezultāti, kur slāpekļa daudzums kūtsmēslos pēc to uzglabāšanas ir 69 kg uz 1 slaucamo govī, kas atbilst 0.69 DV.

Tomēr šāda pieeja neatspoguļo visu slāpekļa daudzumu, kas no dzīvnieka nonāk uz 1 ha LIZ, kā to nosaka ES Nitrātu Direktīvas III pielikuma 2. punkts, kur oriģinālvalodā ir teikts: „These measures will ensure that, for each farm or livestock unit, the amount of livestock manure applied to land each year, including by the animals themselves, shall not exceed a specific amount per hectare” (Council Directive ..., 1991). Latviešu valodā veiktais neprecīzais tulkojums: „Šie pasākumi nodrošina, ka zemē iestrādāto kūtsmēsļu daudzums gadā attiecībā uz katru lauku saimniecības vai ganāmpulka vienību,

Aprēķina piemērs, uz vienu slaucamo govi gadā
Example of calculation, per one milking cow per year

N.p.k. / Position	Rādītāji / Variables	Aprēķins / Result	Piezīmes / Notes
A	Govs dzīvmasa, kg / Live weight, kg	600	
B	Izslaukums gadā, kg / Milk yield, kg	6500	
1.1.	Patērētā lopbarības sausna, kg / DM ⁴ consumed, kg	7615	Kopējais daudzums gadā (5. tab) / Total per year (see Table 5)
1.2.	Sausnas izmantošanās koeficients, % / DM digestion rate, %	71	Vidējs rādītājs, barojot kūtī un ganībās (Standard values ..., 1998) / Average per grazing and in-barn period
1.3.	Sausna ekskrementos, kg / DM in faeces, kg	2208	Sausnas masa ekskrementos gadā (1.1. × 0.71) / DM in faeces per year
1.4.	Ekskrementu masa, kg / Amount of faeces, kg	14 723	Ekskrementi, dabiski mitri (15% sausnas) gadā, kg / Faeces, natural moist (15% of DM), per year, kg
1.5.	Urīna masa, kg / Amount of urine, kg	6692	Pieņemot, ka urīns ir 45% no ekskrementu masas (Standard values ..., 1998) / Assuming urine makes up 45% of faeces
1.6.	Sausnas saturs urīnā, % / DM in urine, %	5.0	Vidējais rādītājs, no literatūras / Average data from the literature
1.7.	Sausna izdalījumos (ekskrementi+urīns), kg / DM ex animal (faeces+urine), kg	2543	Sausna, kas nonāk kūtsmēslos / DM, excreted
1.8.	Dienas, ko dzīvnieki pavada ārpus novietnes / Out-of-barn days	91	Dzīvnieki ārpus novietnes (ganības, pastaigas); šajā gadījumā īslaicīgi, jo arī vasarā zaļmasa tiek piegādāta novietnē / Cows out of barn; in this case, for a short period, because barns are supplied with green forage also in summer
1.9.	Sausna, kas paliek ganībās, kg / DM left out of barn, kg	636	Sausna izdalījumos ganīšanas (pastaigu) laikā / DM excreted out of barn
1.10.	Sausna pakaišos, kg / DM in litter, kg	1050	Pakaišos un kompostējamā materiālā (6. tab.) / In litter and composting material (see Table 6)
1.11.	Sausnas zudumi, uzglabājot krātuvē, % / DM losses during storage, %	15	Zudumi uzglabāšanas laikā mēslu krātuvē / Losses in storage pit
1.12.	Sausna kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg / DM in manure ex storage, kg	2514	Kopējais daudzums gadā / Total per year
1.13.	Sausna kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg t⁻¹ / DM in manure ex storage, kg t⁻¹	166	Kūtsmēsļu sastāvs, kg uz tonnu dabiski mitru mēslu / kg of DM per ton of manure
2.1.	Slāpekļlis lopbarībā, kg / N in feed, kg	219.9	Kopējais daudzums gadā (5. tab.) / Total per year (see Table 5)

⁴DM – dry matter.

7. tabulas turpinājums 1 / Table 7 continued (1)

2.2.	N organisma uzturēšanai, kg / N in gain, kg	1.0	Vidējais rādītājs, no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
2.3.	N teļa embrijā, kg / N in embryo, kg	0.7	Vidējais rādītājs, no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
2.4.	Proteīna saturs pienā, % / Milk protein, %	6.38	Vidējais saturs gadā / Average per year
2.5.	Proteīna kopievākums, kg / Protein yield, kg	415	Proteīns pienā gada laikā / Total amount per year
2.6.	N saturs piena proteīnā, kg / N in protein, kg	66.4	Aprēķināts, pieņemot, ka proteīns satur 6.25% N / Calculated from milk protein
2.7.	N izdalījumos (urīns+tvirtie ekskrementi), kg / N ex animal (faeces+urine), kg	151.8	N, kas tiek izdalīti no dzīvnieka (2.1.–2.2.–2.3.–2.6.) / N excreted
2.8.	N zudumi dzīvnieku novietnē, % / In-barn N losses, %	15	Kopējs visa veida zudumiem, apzināti augsts rādītājs / Totalling all losses; deliberately high value
2.9.	N, kas paliek ganībās, kg / N excreted out of barn, kg	38.0	Aprēķins, ņemot vērā ganīšanas (pastaigu) laiku / N excreted out of barn
2.10.	N, kas nonāk mēsļu krātuvē, kg / N input in manure storage, kg	91.1	Teorētiski iespējamais / Theoretically feasible
2.11.	N zudumi mēsļu uzglabāšanas laikā, % / N losses during storage, %	25	Vidēji, visa veida zudumiem, apzināti augsts rādītājs / Average, all losses; deliberately high value
2.12.	N pievienots ar pakaišiem, kg / N added with litter, %	0.6	Pakaišos un kompostējamā materiālā (6. tab.) / In litter and composting material (see Table 6)
2.13.	N kūstmēslos pēc uzglabāšanas, kg / N in manure ex storage, kg	69	Kopējais daudzums, atņemot visa veida zudumus / Total per year, subtracting all kinds of losses
2.14.	N kūstmēslos pēc uzglabāšanas, kg t⁻¹ / N in manure ex storage, kg t⁻¹	4.6	Kūstmēsļu sastāvs, kg uz tonnu dabiski mitru mēsļu / kg of N per ton of manure
3.1.	Fosfors lopbarībā, kg / P in feed, kg	32.9	Kopējais daudzums gadā (5. tab.) / Total per year (see Table 5)
3.2.	P organisma uzturēšanai, kg / P in gain, kg	0.13	Vidējais rādītājs, no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
3.3.	P teļa embrijā, kg / P in embryo, kg	0.09	Vidējais rādītājs, no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
3.4.	Fosfora saturs pienā, % / P in milk, %	0.1	Vidējais saturs gadā (Standard values ..., 1998) / Average per year
3.5.	Fosfora kopievākums, kg / P in milk, total, kg	6.5	Fosfors pienā gada laikā / Total amount per year
3.6.	P izdalījumos (urīns+tvirtie ekskrementi), kg / P ex animal (faeces+urine), kg	26.2	P, kas tiek izdalīts no dzīvnieka (3.1–3.2–3.3–3.5) / P excreted
3.7.	P zudumi dzīvnieku novietnē, % / In-barn P losses, %	2.0	Vidējais rādītājs, no literatūras / Average data from the literature
3.8.	P, kas paliek ganībās, kg / P excreted out of barn, kg	6.5	Aprēķins, ņemot vērā ganīšanas laiku / Estimate based on out-of-barn days

7. tabulas turpinājums 2 / Table 7 continued (2)

3.9.	P, kas nonāk mēslu krātuvē, kg / P input in manure storage, kg	19.1	Teorētiski iespējama / Theoretically feasible
3.10.	P zudumi mēslu uzglabāšanas laikā, % / P losses during storage, %	5.0	Vidēji, visa veida zudumiem / Average, all losses
3.11.	P pievienots ar pakaišiem, kg / P added with litter, kg	0.2	Pakaišos un kompostējamā materiālā (6. tab.) / In litter and composting material (see Table 6)
3.12.	P kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg / P in manure ex storage, kg	18.4	Kopējais daudzums, atņemot visa veida zudumus / Total per year, subtracting all kinds of losses
3.13.	P kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg t⁻¹ / P in manure ex storage, kg t⁻¹	1.2	Kūtsmēsļu sastāvs, kg uz tonnu dabiski mitru mēslu / kg of P per ton of manure
4.1.	Kālijs lopbarībā, kg / K in feed, kg	109.4	Kopējais daudzums gadā (5. tab.) / Total per year (see Table 5)
4.2.	K organisma uzturēšanai, kg / K in gain, kg	0.21	Vidējais rādītājs no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
4.3.	K teļa embrijā, kg / K in embryo, kg	0.2	Vidējais rādītājs no literatūras (Standard values ..., 1998) / Average data from the literature
4.4.	Kālija saturs pienā, % / K in milk, %	0.13	Vidējais saturs gadā (Standard values ..., 1998) / Average per year
4.5.	Kālija kopievākums, kg / K in milk, total, kg	8.5	Kālijs pienā gada laikā / Total amount per year
4.6.	K izdalījumos (urīns+tvirtie ekskrementi), kg / K ex animal (faeces+urine), kg	100.5	K, kas tiek izdalīts no dzīvnieka (4.1.–4.2.–4.3.–4.5.) / K excreted
4.7.	K zudumi dzīvnieku novietnē, % / In-barn K losses, %	3.0	Vidējais rādītājs, no literatūras / Average data from the literature
4.8.	K, kas paliek ganībās, kg / K excreted out of barn, kg	25.1	Aprēķins, ņemot vērā ganīšanas (pastaigu) laiku / Estimate based on out-of-barn days
4.9.	K, kas nonāk mēslu krātuvē, kg / K input in manure storage, kg	72.4	Teorētiski iespējama / Theoretically feasible
4.10.	K zudumi mēslu uzglabāšanas laikā, % / K losses during storage, %	7.0	Vidēji, visa veida zudumiem / Average, all losses
4.11.	K pievienots ar pakaišiem, kg / K added with litter, kg	0.5	Pakaišos un kompostējamā materiālā (6. tab.) / In litter and composting material
4.12.	K kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg / K in manure ex storage, kg	67.8	Kopējais daudzums atņemot visa veida zudumus / Total per year, subtracting all kinds of losses
4.13.	K kūtsmēslos pēc uzglabāšanas, kg t⁻¹ / K in manure ex storage, kg t⁻¹	4.5	Kūtsmēsļu sastāvs, kg uz tonnu dabiski mitru mēslu / kg of K per ton of manure
	Tehnoloģiskajos procesos pievienotais ūdens, kg / Water added, kg	300	Skalošanas ūdeņi, skābbarības sula u.c. šķidrums / Washing water, silage effluent, and other liquids
	Sausna ekskrementos, urīnā, pakaišos u.c., vidēji % / DM in faeces, urine, litter, etc., average %	18	Vidējais rādītājs, kūtsmēsļu pārrēķinam uz dabiski mitru masu / Average value for recalculation on natural-moist basis
	Kūtsmēsļu masa pēc uzglabāšanas, kg / Amount of manure ex storage, kg	15 127	Kopējā, dabiski mitru mēslu masa krātuvē / Manure outcome (natural-moist) ex storage

ieskaitot pašus dzīvniekus, nepārsniedz noteikto daudzumu uz hektāru.” (Padomes Direktīva ..., 1991). Attiecīgi interpretējot šo punktu, LR MK „Noteikumi par ūdens un augsnes aizsardzību no lauksaimnieciskas darbības izraisītā piesārņojuma ar nitrātiem” 16. punkts nosaka, ka dzīvnieku vienība (DV) ir nosacīts dzīvnieks, kas gadā saražo 100 kg slāpekļa kūtsmēslus no uzglabāšanas laikā (Grozījumi ..., 2007). Tātad tiek veikta atsauce uz to slāpekļa daudzumu, kas pēc uzglabāšanas perioda ir atrodams mēsļu krātuvē vai kaudzē.

Praktiski dzīvnieku vienību noteikšana notiek, ņemot kūtsmēsļu paraugus no to uzkrāšanas vietām, tos analizējot un uz šo rezultātu pamata rēķinot izdalītā slāpekļa daudzumu gadā. Ņemot vērā kūtsmēsļu kā analizējamā materiāla lielo heterogenitāti, atšķirīgos to glabāšanas ilgumus un apstākļus, kā arī citus faktorus, analīžu datiem raksturīga ievērojama izkliede. Šādā veidā aprēķinātā dzīvnieku vienība neietver to slāpekļa daļu, kas no dzīvnieka organisma ir izdalīts, taču palicis ganībās, pastaigu laukumos, emitējis pašā dzīvnieku novietnē un mēsļu uzkrāšanas vietās, kā arī izskalojies, ja mēsli nav uzglabāti uz ūdeni necaurīdīga pamata.

Lai pilnīgāk raksturotu lauksaimniecības dzīvnieku ietekmi uz vides piesārņošanu ar nitrātiem, veicot dzīvnieku vienību noteikšanu, vismaz būtu jāņem vērā arī slāpekļa daudzums, kas ganību sezonā nonāk tieši uz lauka. To saskaņā ar Nitrātu Direktīvu paredz Eiropas Komisijas rekomendētā dzīvnieku izdalītā slāpekļa noteikšanas metode pēc patērētās lopbarības. Tāda pieeja un praktiskā realizācija ir arī citās ES dalībvalstīs (Chesterton, 2006; Is enough ..., 2007; Livestock units ..., 2008). Mūsu pētījumā (skat. 2. tabulu) slaucamām govīm pēc barības vajadzības normatīviem noteiktais gadā izdalītais N daudzums bija 90–129 kg dzīvniek⁻¹. Atrēķinot slāpekļa zudumus, ko EEC metodika nosaka tikai 10% apmērā, kopējais uz 1 ha lauksaimniecībā izmantojamās zemes nonākušais slāpekļa daudzums no govju veido 87–116 kg N. Pēc šiem aprēķiniem 1 slaucamā govju atkarībā no dzīvnieku un produktivitātes atbilst 0.87–1.16 DV (vidēji 1.0 DV). Ja zudumus novērtējam 40% apmērā, kā iepriekšminētajā piemērā (skat. 7. tabulu), tad 1 slaucamā govju atbilst 0.59–0.84 DV (vidēji 0.72 DV).

Jāņem vērā, ka HELCOM konvencijas pielikums par lauksaimniecību (HELCOM Recommendation ..., 2007) prasa nepieļaut par 25 kg ha⁻¹ lielāku fosfora iestrādi ar organisko mēslojumu (nokļuvi augsnē ar dzīvnieku izdalījumiem) gadā. Tādējādi Latvijai kā HELCOM dalībvalstij dzīvnieku vienību un dzīvnieku blīvuma aprēķins jāveic, balstoties uz diviem rādītājiem – atbilstoši gan slāpekļa, gan arī fosfora daudzumam, kas tiek izdalīti no mājdzīvniekiem gada laikā. 7. tabulā dotajā piemērā vienai slaucamajai

govij tie bija 26.2 kg P gadā, kas atbilst 1.05 dzīvnieku vienībām. Tas liecina, ka dzīvnieku vienību aprēķins, balstoties vai nu uz vienu, vai otru videi bīstamo ķīmisko elementu, uzrāda līdzīgu rezultātu. Latvijā vidējās dzīvnieku un vidēja izslaukuma slaucamajai govij būtu jāatbilst vienai dzīvnieku vienībai.

Secinājumi

Izmantojot Eiropas Komisijas rekomendētās metodes pēc Latvijā esošajiem dzīvnieku barības saunas, kopproteīna un fosfora vajadzības normatīviem, aprēķināti izdalītā slāpekļa un fosfora daudzumi slaucamām govīm, nobarojamiem jaunlopiem, telēm, sivēnmātēm un nobarojamām cūkām. Iegūtie rezultāti līdzinās izdalītā slāpekļa un fosfora normatīviem vairākās citās ES valstīs. Lai izstrādātu kūtsmēsļu normatīvus pēc dzīvniekiem izēdinātās lopbarības, Latvijā nepieciešams ieviest dzīvnieku ēdināšanas kontroles sistēmu, noteikt saimniecībās faktiski lietotās barības līdzekļu normas, periodiski kontrolēt slāpekļa un fosfora saturu barības līdzekļos, kā arī kvantitatīvi noteikt slāpekļa zudumus dzīvnieku mītnēs dažādās turēšanas sistēmās un NP zudumus kūtsmēsļu uzkrāšanas un uzglabāšanas laikā. Dzīvnieku vienību ekvivalenti dažādām mājdzīvnieku sugām un vecuma grupām, kā arī pieļaujamā dzīvnieku blīvuma normatīvi turpmāk būtu jānosaka, pamatojoties uz zinātniskiem pētījumiem un loģiskiem aprēķiniem.

Literatūra

1. Chesterton, C. (2006) Revised calculation of livestock units for higher level stewardship agreements. *Rural Development Service Technical Advice Note 33*, 2nd ed. 3 p.: http://www.defra.gov.uk/rds/publications/technical/tan_33.pdf – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
2. Cottrill, B.R., Smith, K.A. (2005) Evaluation and control of nutrient excretion in livestock manures. *Draft report of a contract between ADAS and DG ENV*. ADAS Consulting Ltd. (UK), January 2005, 54 pp.
3. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources (91/676/EEC): <http://ec.europa.eu/environment/water/water-nitrates/directiv.html> – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
4. Dou, Z., Knowlton, K.F., Kohn, R.A., Wu, Z., Satter, L.D., Zhang, G., Toth, J.D., Ferguson, J.D. (2002) Phosphorus Characteristics of dairy feces affected by diets. *Journal of Environmental Quality*, 31(6), 2058-2065.
5. Dourmad, J.Y., Seve, B., Latimier, P., Boisen, S., Fernandez, J., VanderPeet-Schwering, C.,

- Jongbloed, A.W. (1999) Nitrogen consumption, utilization and losses in pig production in France, The Netherlands and Denmark. *Livestock Production Science*, 58, 3, 261-264.
6. *Environmental Impacts of Nutrient Emissions in Denmark*. (1991) National Agency of Environmental Protection, 208 pp.
 7. Erickson, G., Auvermann, B., Eigenberg, R., Greene, L., Klopfenstein, T., Koelsch, R. (2003) Proposed beef cattle manure excretion and characteristics standard for ASAE. *American Society of Agricultural Engineers Meetings Papers*, 269-276.
 8. ERM (2003) *Livestock Manures – Nitrogen Equivalents*. EC DG Environment D1. Brussels, Belgium, 27 pp.
 9. ERM/AB–DLO (1999) *Establishment of Criteria of the Assessment of Nitrogen Content of Animal Manures*. European Commission, Final Report. November 1999, 65 pp.
 10. Ferguson, J.D., Dou, Z., Vecchiarelli, B., Lees, S., Beach, J., Ramberg, F. (2002) Flow of N through a dairy herd. *Abstracts of 6th Joint EAAP/ASAS Workshop on Biology of Lactation in Farm Animals*. July 20-25, 2002, Quebec City, Quebec, Canada, 139 pp.
 11. Funaki, Y., Parris, K. (2005) The OECD Agricultural Nutrient Balance Indicators: establishing a consistent OECD set of nitrogen and phosphorus coefficients. EC (DG Environment) *Workshop “Nitrogen and phosphorus in livestock manure”*, Brussels, 14 February 2005, 10 pp.
 12. Grozījumi MK 2001. gada 18. decembra noteikumos Nr. 531 „Noteikumi par ūdens un augsnes aizsardzību no lauksaimnieciskas darbības izraisītā piesārņojuma ar nitrātiem” (MK 27.12.2005. not. Nr. 1015; MK 16.10.2007. not. Nr. 708). (2007): <http://www.likumi.lv/doc.php?id=124799> – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
 13. HELCOM Recommendation 28E/4. Amendments to Annex III “Criteria and measures concerning the prevention of pollution from land-based sources” of the 1992 Helsinki Convention. Adopted on 15 November 2007: http://www.helcom.fi/Recommendations/en_GB/rec28E_4/ – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
 14. Is enough land available for spreading all manure on your farm? (2007) *Nitrates Consultation Supporting Paper E2 – Whole Farm Limit calculation*. DEFRA, UK, 6 p.: http://www.tionestop.com/argon/vudoc.asp?pp=4&Ntk=simple&Ntt=Nitrates+calculation&help=30&qs=1&soc_id=37784&Nty=1&R=18705&Ntx=mode%2Bmatchall&doc_id=878669&suppl=5 – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
 15. *Labas lauksaimniecības prakses nosacījumi Latvijā*. (1999) Jelgava, LLU, 103 lpp.
 16. Latvietis, J. (sast.) (1977) *Dzīvnieku ēdināšanas normatīvi un barības sastāvs*. Rīga, Liesma, 208 lpp.
 17. Latvietis, J. (sast.) (1999) *Lopbarības vajadzības plānošana*. 5. izd., Jelgava, LLU, 27 lpp.
 18. Livestock units in agriculture. (2008) *Statistics Denmark*: <http://www.dst.dk/HomeUK/Guide/documentation/Varedeklarationer/emnegruppe/emne.aspx?sysrid=001105> – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
 19. Nennich, T.D., Harrison, J.H., Van Wieringen, L.M., Meyer, D., Heinrichs, A.J., Weiss, W.P., St-Pierre, N.R., Kincaid, R.L., Davidson, D.L., Block, E. (2005) Prediction of Manure and Nutrient Excretion from Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 88, 3721-3733.
 20. O’Connell, J.M., Callan, J.J., O’Doherty, J.V. (2006) The effect of dietary crude protein level, cereal type and exogenous enzyme supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, fecal volatile fatty acid concentration and ammonia emissions from pigs. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 127, No. 1–2, pp. 73–88.
 21. Osītis, U. (1998) *Barības līdzekļu novērtēšana atgremotāju ēdināšanā*. Jelgava, 38 lpp.
 22. Osītis, U., Strikauska, S., Grundmane, A. (2000) *Lopbarības analīžu rezultātu apkopojums*. Ozolnieki, LLKC, 62 lpp.
 23. Padomes Direktīva (1991. gada 12. decembris) attiecībā uz ūdeņu aizsardzību pret piesārņojumu, ko rada lauksaimnieciskas izcelsmes nitrāti (91/676/EEK): <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31991L0676:LV:HTML> – Resurss aprakstīts 25.06.2008.
 24. Poulsen, H.D., Jongbloed, A.W., Latimier, P., Fernandez, J.A. (1999) Phosphorus consumption, utilization and losses in pig production in France, The Netherlands and Denmark. *Livestock Production Science*, 58, 3, 251-259.
 25. Poulsen, H.D., Lund, P., Sehested, J., Hutchings, N., Sommer, S.G. (2006) Quantification of nitrogen and phosphorus in manure in the Danish normative system. 12th Ramiran International conference “Technology for recycling of manure and organic residues in a whole-farm perspective”, Vol. II. DIAS report No. 123, August 2006, pp. 105-107.
 26. Powers, W., Koelsch, R. (2002) National standards for estimating manure nutrient excretion based upon animal feed program. *Abstracts of 6th Joint*

- EAAP/ASAS Workshop on Biology of Lactation in Farm Animals. July 20–25, 2002, Quebec City, Quebec, Canada, p. 138.
27. *Standard values for farm manure*. (1998) A revaluation of the Danish standard values concerning the nitrogen, phosphorus and potassium content of manure. Ed. by H.D. Poulsen, V.F. Kristensen. DIAS Report No. 7 (Animal Husbandry), December 1998. Danish Institute of Agricultural Sciences, 160 pp.
28. Wilkerson, V.A., Mertens, D.R., Casper, D.P. (1997) Prediction of excretion of manure and nitrogen by Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80, 12, 3193-3204.
29. Wustenberghs, H., Fernagut, B., Lauwers, L., Overloop, S. (2008) Exploring the variability in dairy cattle N-excretion for monitoring regional N-balances: http://www.ilvo.vlaanderen.be/documents/NGsept07/N_workshop_paper.pdf – Resurss apraksts 25.06.2008.
30. ZM Rīkojums “Par pasākumu ieviešanu īpaši jūtīgās teritorijās” Nr. 20 no 02.02.2005. 9 lpp.: <http://www.agropols.lv/dokumenti.php?dienali=26&dienano=1&gadsli=2007&gadsno=1997&kasizdeva=&likumaveids=2&meklesana=1&menesli=1&menesno=1&searchtext=%F0%E2d> – Resurss apraksts 25.06.2008.

Levels of Benzo(a)pyrene (BaP) in Fish, Smoked According to Different Procedures

Benzo(a)pirēna (BaP) saturs zivīs, tās kūpinot dažādos apstākļos

Ilze Stumpe-Vīksna, Andris Morozovs

LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultāte
Faculty of Food Technology, LLU
e-mail: ilze_st@inbox.lv

Vadims Bartkevičs, Agnese Kukāre

Nacionālais diagnostikas centrs
The National Diagnostic Centre
e-mail: vadims.bartkevics@ndc.gov.lv

Abstract. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are widespread environmental contaminants representing an important group of carcinogens that have been detected in smoked fish. Benzo(a)pyrene (BaP) is the most well-known and studied representative of these compounds because it is one of the most potent carcinogens for animals. Occurrence of BaP in smoked fish and canned sprats in vegetable oil has been studied. Raw fish, vegetable oil, smoked fish as well as canned smoked fish in oil and its fish and oil fractions separately were analyzed using method of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Generally, the level of BaP in smoked fish samples varied (from 0.8 up to 13.9 $\mu\text{g kg}^{-1}$) depending on the disposition of fish in the smoking chamber and on the method used for smoke production. The results suggest that another factor affecting the concentration of BaP in finished canned fish in oil is a diffusion of benzo(a)pyrene from fish fraction in oil fraction, which could reduce the level of benzo(a)pyrene in fish. Oil from canned smoked fish cannot be recommended as edible constituent.

Key words: smoked fish, benzo(a)pyrene, smoking procedures, gas chromatography–mass spectrometry.

Introduction

Foodstuffs such as meat and fish and some types of cheese have been smoked in many countries for centuries. Originally the purpose was to preserve the food, partly by reducing the moisture content and partly through the transfer of anti-microbiological components, such as aldehydes and phenols, from the smoke to the food. Now the smoking is primarily used to achieve the characteristic taste and appearance of smoked food, with preservation playing a minor role. Nevertheless, smoking can still influence the shelf life of food because components of the smoke may inhibit growth of some microorganisms. Smoking in uncontrolled technological conditions, characteristic for traditional smoking process, results in high levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) (Alonge, 1987, 1988; Afolabi et al., 1983; Šimko, 2002).

Polycyclic aromatic hydrocarbons constitute a large class of organic compounds that have the carcinogenic activity. PAH have been found in water, air, soil, and in different foods, including oil, fat, smoked/grilled products, plants, marine products, smoking flavourings, coffee, tee, beverages (Gomaa

et al., 1993). In food, PAH may be present as a result of processing and cooking, such as smoking, drying, roasting, baking, frying, or grilling. Vegetables may be contaminated by the deposition of airborne particles or by growth in contaminated soil (Guillen et al., 1997).

To simplify the problems that have been related with PAH variety and content multiplicity, benzo(a)pyrene (BaP) has been accepted as indicator for PAH content in food products. The European Commission has introduced maximum levels for PAH in certain foodstuffs via Commission Regulation No. 1881/2006. The maximum level of benzo(a)pyrene (5 ng g^{-1}) was set for smoked meat and smoked fish products.

In this work we have studied the influence of the type of smokehouse and fish disposition into the smoking chamber during smoking on the BaP content in the product.

Materials and Methods

Materials and Smoking Equipment

The fish, used for this research, was from the Baltic Sea and Riga Gulf region. The vegetable oil

(rapeseed and soya oil) was obtained from commercial suppliers.

Technological process of canned sprats in oil involves hot smoking including drying (50-70 °C, 10-20 min), cooking (100-135 °C, 15-20 min), and smoking (60-80 °C, 25-35 min), with subsequent sorting, packing, filling of oil, and sterilization. The total level of benzo(a)pyrene in canned sprats consists of the content of BaP in raw fish, BaP level emerging from smoking process, and benzo(a)pyrene – from oil used for canning.

Smoke generators were used for smoking of fish. The temperature of smoke was from 60 to 80 °C. Alder chips were used as firewood; moisture content of alder chips was 35-45%. Burning temperature of woodchips and the grating reached 400-450 °C.

In general, a conveyor-tunnel type smoking chamber consists of a welded foundation and welded vertical frames covered on either side and on the top with steel plates to form a double wall space. The chamber consists of two symmetrical parts forming two tunnels. Each compartment of the chamber consists of several sections. There are two intermediate sections in the chamber (entrance and exit) that divide the chamber in three areas: 1) drying, 2) cooking and smoking, and 3) chilling.

Hot air, which is brought inside from the heat generator by means of the ventilator through the supply pipeline in drying area, flowing through containers with fish is further brought out through the exit pipeline. The mixture of smoke and air brought inside by means of the ventilator is supplied to the cooking and smoking area through the supply pipeline and is flowing through containers with fish in a similar manner.

In this research, five different smoking ovens were used:

- A – an oven with two-tunnel conveyor-type smoking chambers with a smoke generator, produced by JSC “Miiduranna Texas”, Estonia;
- B – an oven with two-tunnel conveyor-type smoking chambers with a smoke generator, produced by “Peruza” Ltd, Latvia;
- C – a Kverner-Bruk oven with smoke chambers with a ventilator and underneath location of a smoke generating furnace;
- D – a Kverner-Bruk oven with tunnel-type modified smoking chambers with a smoke generator;
- E – an electrical oven with a smoke chamber with a smoke generator.

Sprats in the smoking chamber were hanged up on frames. Frames in the chamber were placed at different height.

Sampling

After the smoking process, approximately a sample of 500 g of fish was taken according to the sampling procedure (from specific frame or from different places on several frames). The sample was cooled at +4 °C and then sent to the laboratory. Afterwards it was homogenated in laboratory using sample mills.

Chemicals

For the sample treatment, cyclohexane (*ECD* tested), *N,N*-dimethylformamide, methanol (HPLC grade), and sodium chloride (ACS) were purchased from Acros, ethanol – from J.T. Baker, sodium sulphate (ACS) – from Fluka, potassium hydroxide – from Avsista, and silica solid phase extraction (SPE) tubes (500 mg) – from Phenomenex. Ultra pure water was produced by a MilliQ filter system. Standards of benzo(a)pyrene and deuterated standard benzo(a)pyrene- d_{12} were purchased from Dr. Ehrenstrofer.

Analysis of BaP

Homogenized samples were hydrolyzed with the solution of potassium hydroxide in ethanol, and the extracted with cyclohexane. The cyclohexane solution was washed with water, afterwards – with a mix of methanol and water, then re-extracted with *N,N*-dimethylformamide/water (9:1) blend, and repeatedly extracted from it with cyclohexane. After sample cyclohexane solution purification on Silica SPE column, it was concentrated and analyzed on Agilent Model 6890 gas chromatograph equipped with the mass selective detector Model 5973 (Stumpe-Vīksna et al., 2007).

Results and Discussion

In this study, raw fish, vegetable oil, smoked fish, as well as canned smoked fish in oil, and fish and oil fractions separately were analyzed using method of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Fish and marine invertebrates may naturally contain small amounts of different PAH absorbed from the environment (Stolyhwo, Sikorski, 2005). The edible parts of fish from unpolluted seas generally do not contain detectable amounts of BaP (Rainio et al., 1986). We found that levels of BaP in the raw fish were insignificant. BaP content was under the limit of detection ($<0.1 \mu\text{g kg}^{-1}$) in 30 different samples of sprats used for canned fish production.

The main amount of PAH in smoked foods comes from the wood smoke. Cold- and hot-smoked fish contain much more PAH than raw fish, depending on the properties of the fish, method and parameters of smoking, composition of the smoke, and exposure of the edible parts to the smoke. The concentration of

BaP found in different studies varies from about 0.05 to 60 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Lawrence, Weber, 1984).

The BaP levels found in smoked fish from commercial smokehouses are shown in Figure 1. Depending on the used construction of smoking equipment and disposition of fish into the smoking chamber, the average level of benzo(a)pyrene in smoked semi-finished fish (after the smoking stage and before canning) ranged from 0.7 up to 13.9 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Fish products which were smoked in smokehouses with a ventilator and underneath location of a smoke generating furnace (C), contained the highest BaP levels in comparison to those with a smoke generator or to the electrical smokehouse (Figure 1).

The content of benzo(a)pyrene in smoked semi-finished fish products differed substantially depending not only on the type of a smokehouse, but also on fish disposition into the smoking chamber in vertical plane (Figure 1).

Comparison of BaP concentration in smoked fish by sampling in different places in smokehouses with a smoke generator and with upper input of smoke showed that samples smoked on upper frame contained highest amount of BaP due to its full concentration in incoming smoke. The greatest differences in benzo(a)pyrene content, depending on placement of fish samples, were found in fish samples smoked in the older generation smokehouse (A) with

a smoke generator in comparison with the modified smokehouse (B) and Kverner-Bruck smokehouse (D), although between them greater concentrations of BaP in fish smoked in such type of smokehouse were found in fish samples using smokehouse (B); however, that might be explained by differences in the smoking methods. A higher amount of BaP was also found in fish samples smoked on upper frame of the electrical smokehouse. Similarly, BaP concentration distribution between smoked fish sampled in different places of the smokehouse (C) with a ventilator was higher than in samples from other smokehouses.

We compared the concentration of BaP in smoked fish by sampling in different points (places located at similar height) on the same frame. Results showed relatively great differences between BaP concentrations in fish samples smoked in smokehouse A with a smoke generator (see Figure 2). Obviously, smoke flow distribution in that smoking chamber is greatly uneven.

Although we observed general tendency towards dependency of BaP content in smoked fish on the construction and operation of a smokehouse as well as on the position of fish in the flux of smoke, the results of samples analysis showed high dispersion of benzo(a)pyrene level in the smoked product even in the same equipment and at the same fish location.

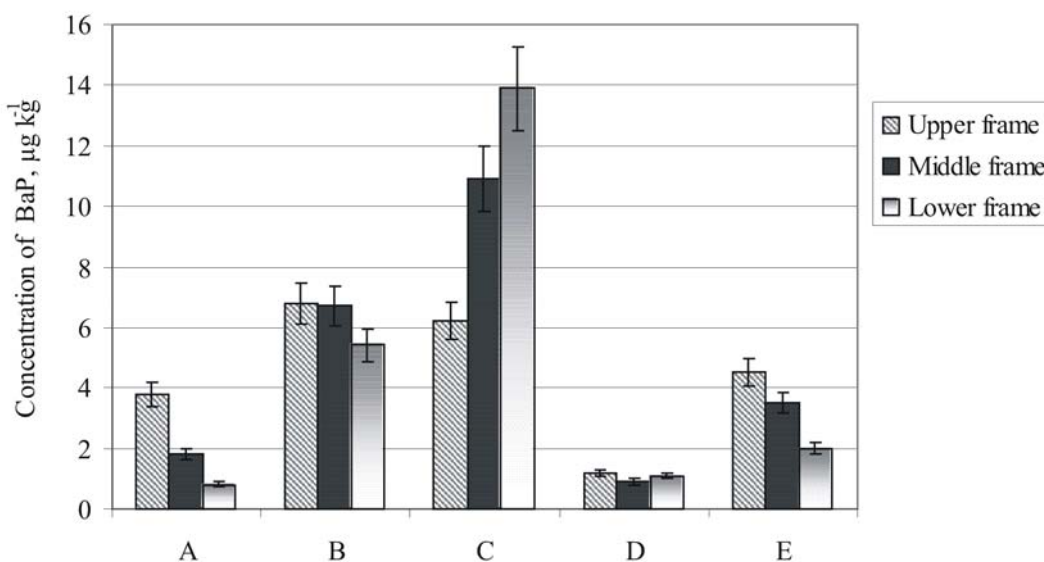


Fig. 1. Average benzo(a)pyrene levels in fish samples smoked in different smokehouses and in different places in a smoking chamber: A – a smokehouse with two-tunnel conveyor-type smoking chambers with a smoke generator, produced by JSC “Miiduranna Texas”, Estonia, and upper smoke inflow; B – a smokehouse with two-tunnel conveyor-type smoking chambers with a smoke generator, produced by “Peruza” Ltd, Latvia, and upper smoke inflow; C – a Kverner-Bruk smokehouse with a ventilator and underneath location of a smoke generating furnace, and smoke inflow from below; D – a Kverner Bruck smokehouse with modified smoking chambers with a smoke generator and upper smoke inflow; E – an electrical smokehouse with a smoke generator and upper smoke inflow.

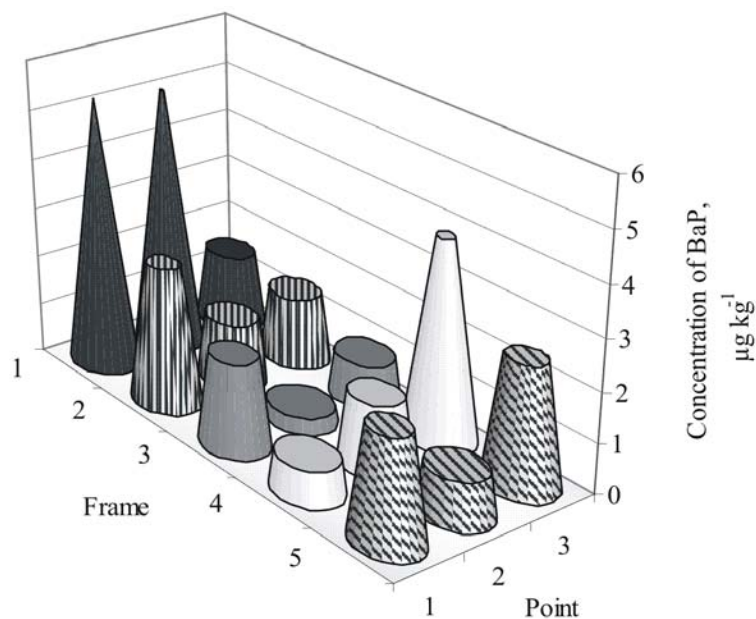


Fig. 2. Benzo(a)pyrene levels in fish samples taken from different points on the same frame in smoking chamber A.

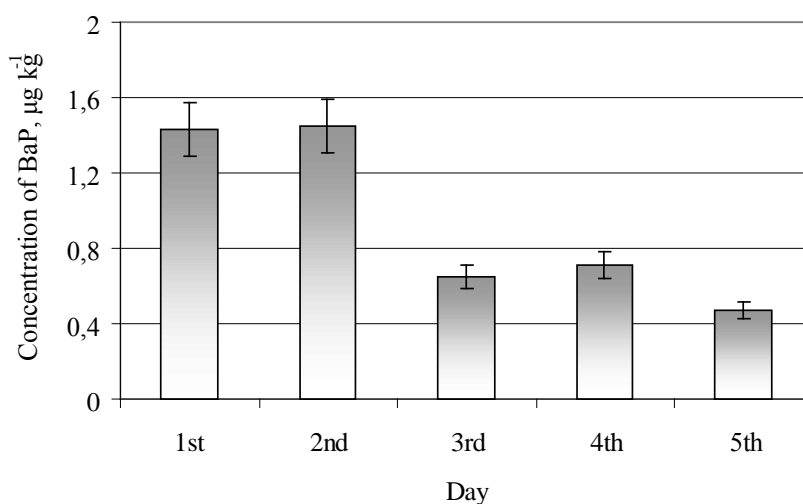


Fig. 3. Changes in benzo(a)pyrene concentration during a week in fish samples smoked in smokehouse A with a smoke generator.

This dispersion could be provoked by differences in fat content in raw fish or by changes in smoke chemical composition during the smoking process. Influence of other unknown factors on the content of contaminants can not be excluded.

Since the smokehouses were cleaned once a week, it can be assumed that the product has been fouled by tar residues from the previous processing. The changes in BaP levels in smoked fish during a week were investigated to verify such hypothesis. Analysis of results showed that the level of carcinogen on 3rd-

5th day after smokehouse cleaning had diminished approximately by half (see Figure 3). The reduction in BaP levels in smoked fish produced at the end of the week can be explained by the PAH sorption in tar deposits on the walls of the smoking chamber or by some unknown factors.

However, in canned smoked fish in oil, the part of contamination with PAH might have originated from the vegetable oil used. The average BaP level found in the vegetable oil used for canned, smoked sprats production was $0.38 \mu\text{g kg}^{-1}$.

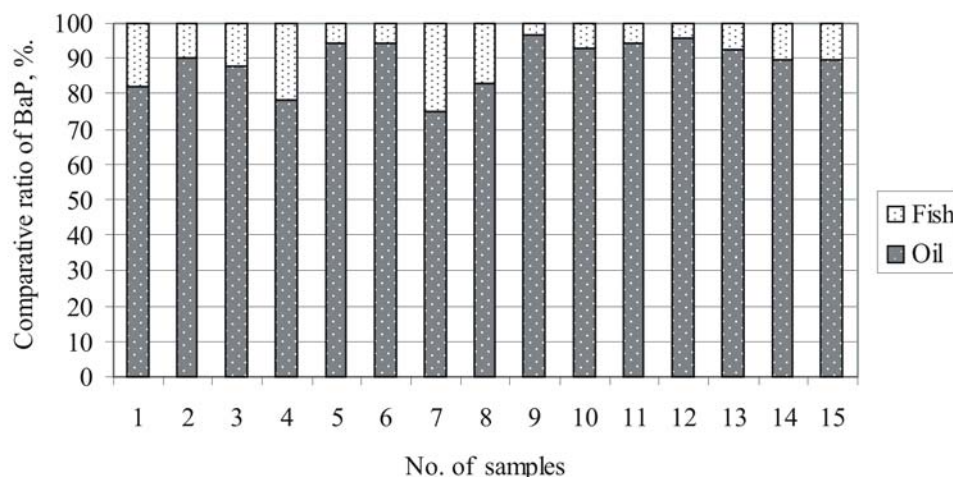


Fig. 4. Comparative ratio of benzo(a)pyrene (%) in fish and oil fractions.

Another factor that affects the concentration of BaP in finished canned fish in oil is a diffusion of benzo(a) pyrene from fish fraction in oil fraction, which could reduce the level of benzo(a)pyrene in fish. By separate detection of BaP concentration in oil and fish fraction of canned fish in oil as well as undivided sample, a decrease by about 73 up to 95 percent of the initial BaP amount in fish was found. For the BaP content in percentage in fish and oil fractions see Figure 4. If a person consumes only a fish fraction of canned smoked fish in oil, he becomes by 56 ± 8 percent less contaminated than if he consumes the same amount of fish and oil together. By comparison, an equivalent mass of only an oil fraction produces approximately a 355 ± 108 percent higher dose of BaP. The change in the level of contamination with BaP in fish fraction in comparison with the total contamination level in the whole product was calculated according to equation 1. In the same way it was done for oil fraction according to equation 2:

$$C(\%)_f = \frac{c_f - c_t}{c_t} \cdot 100, \quad (1)$$

$$C(\%)_o = \frac{c_o - c_t - c_{av}}{c_t} \cdot 100, \quad (2)$$

where

$C(\%)_f$ – alteration in benzo(a)pyrene content in fish fraction relative to BaP content in an undivided sample of canned fish in oil, %;

$C(\%)_o$ – alteration in benzo(a)pyrene content in oil fraction relative to BaP content in an undivided sample of canned fish in oil, %;

c_f – concentration of BaP in fish fraction, $\mu\text{g kg}^{-1}$;

c_o – concentration of BaP in oil fraction, $\mu\text{g kg}^{-1}$;

c_{av} – average concentration of BaP in the vegetable oil used in production, $\mu\text{g kg}^{-1}$;

c_t – concentration of BaP in an undivided sample, $\mu\text{g kg}^{-1}$.

The research suggests that the consumer, using smoked fish as food, ingests less content of BaP than its total content in the product, therefore the oil from canned smoked fish cannot be recommended as an edible constituent.

Conclusions

Generally, the level of BaP in smoked fish samples varies depending on the disposition of fish in the smoking chamber and on the method used for smoke production. In order to obtain characteristic and favourite properties of canned sprats, it is very difficult to ensure the level of benzo(a)pyrene below $5.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ in all stages of the technological procedure of a batch.

After sterilization and storage, part of BaP from canned sprats is transferred to oil which is not usually consumed. This diminishes the risk of contamination. Oil from canned smoked fish cannot be recommended as an edible constituent.

Treatment of smoked fish with oil can be used for diminishing the PAH level in the final product.

Literature

1. Afolabi, A.O., Adesulu, E.A., Oke, O.L. (1983) Polynuclear aromatic hydrocarbons in some Nigerian preserved freshwater fish species.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, pp. 1083-1090.
2. Alonge, D.O. (1987) Factors affecting the quality of smoke-dried meats in Nigeria. *Acta Aliment*, 16, pp. 263-270.
 3. Alonge, D.O. (1988) Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) determined in Nigerian kundi (smoke-dried meat). *J. Sci. Food Agric.*, 43, pp. 167-172.
 4. Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. (2006) *Official Journal of European Union*, L 364/5.
 5. Gomaa, E.A., Gray, J.I., Rabie, S., Lopez-Bote, C., Booren, A.M. (1993) Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. *Food Additives and Contaminants*, 10, pp. 503-521.
 6. Guillen, M.D., Sopelana, P., Partearroyo, M.A. (1997) Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens. *Rev. Environ. Health*, 12, pp. 133-146.
 7. Lawrence, J.F., Weber, D.F. (1984) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Canadian commercial fish, shellfish, and meat products by liquid chromatography with confirmation by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, pp. 789-794.
 8. Rainio, K., Linko, R.R., Routsila, L. (1986) Polycyclic aromatic hydrocarbons in mussel and fish from the Finnish archipelago sea. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 37, pp. 337-343.
 9. Stolyhwo, A., Sikorski, Z.E. (2005) Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. *Food Chemistry*, 91, pp. 303-311.
 10. Stumpe-Vīksna, I., Kukāre, A., Bartkevičs, V. (2007) Policiklisko aromātisko ogleņdeņražu noteikšana pārtikas produktu ar maspektrometrijas metodēm. *Latvijas Ķīmijas žurnāls*, Nr. 2, 138.-146. lpp.
 11. Šimko, P. (2002) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *Journal of chromatography B*, 770, pp. 3-18.

Anotācija

Policikliskie aromātiskie ogleņdeņraži (PAO) ir viena no lielākajām organisko savienojumu klasēm, kam piemīt kancerogēna aktivitāte un kurus atrod arī kūpinātās zivīs. Benzo(a)pirēns (BaP) ir viens no visvairāk pētītajiem savienojumiem, un to izmanto kā marķieri PAO noteikšanā. Šajā darbā mēs veicām pētījumu par BaP saturu zivīs, kas kūpinātas dažādos apstākļos. Nozīmīgi benzo(a)pirēna koncentrāciju ietekmējoši faktori ir dūmu ģenerators, atrašanās vieta kūpināšanas kamerā, kā arī citi faktori. Kūpinātu zivju konservos lielākā daļa BaP pāriet eļļas frakcijā, tādējādi patērētāji, uzturā lietojot kūpinātu zivju produktus eļļā, uzņem mazāku BaP daudzumu nekā produktā kopumā.

Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs eļļās The Content of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oils

Ilze Stumpe-Vīksna, Andris Morozovs

LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultāte

Faculty of Food Technology, LLU

e-mail: ilze_St@tvnet.lv

Vadims Bartkevičs, Agnese Kukāre

Nacionālais diagnostikas centrs

The National Diagnostic Centre

e-mail: vadims.bartkevics@ndc.gov.lv

Abstract. The presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) has been studied in different samples of olive, pumpkin, sunflower and rapeseed oil. The highest benzo(a)pyrene (BaP) concentration was found in sunflower oil, and the highest concentrations of PAHs – in olive oil. The detected concentration of BaP ranged from detection limit to $7.7 \mu\text{g kg}^{-1}$, but the total PAH concentration – from 0.21 to $46 \mu\text{g kg}^{-1}$. The PAH content in refined sunflower oil was generally higher than that of crude sunflower oils. Treatment of the oils with 1.5% activated carbon resulted in reduction of the initial PAH contamination to 96%. Effect of frying on PAH concentrations in oil was studied.

Key words: oil, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), gas chromatography–mass spectrometry.

Ievads

Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži (PAO) eļļās galvenokārt nonāk ar atmosfēras piesārņojumu vai piesārņošanu tās ražošanas procesā. Ļoti augstas PAO koncentrācijas atrastas neapstrādātās eļļās no augiem, kuri bijuši pakļauti industriālai darvas kondensāta emisijai, un nedaudz zemākas eļļās, kas iegūtas no augiem, kuri bijuši pakļauti transporta līdzekļu dūmgāzēm (Guillen, Sopolana, 2004). Kaltējot sēklas ar gaisu, kurš satur sadegšanas procesā radušās gāzes, no tām iegūtā neapstrādātā eļļa var saturēt lielas PAO koncentrācijas (Moret et al., 2000). Šķīdinātāji, ko izmanto eļļu ekstrakcijā, var būt iespējamie piesārņojuma ar PAO avoti (Larsson et al., 1987). Pēc citu autoru (Cejpek et al., 1998) uzskatiem šie šķīdinātāji nav uzskatāmi par eļļu piesārņotājiem, kam arī varētu piekrist, jo eļļu ekstrakcijā no sēklām izmanto viegli gaistošus šķīdinātājus. Kā piesārņojuma ar PAO avoti tiek minēti arī re-difūzija no otrreizējās pārstrādes polietilēna pudelēm, kuras izmantotas eļļu iepakošanā, un piesārņošana no minerāleļļām vai smērvielām (Moreda et al., 2001). Nevar izslēgt arī PAO metabolisko izcelsmi augos (Moret, Conte, 2000).

Kaut arī lielākā uzmanība pievērsta kūpinātiem produktiem, jo tie bieži satur augstas PAO koncentrācijas (Guillen et al., 1997), tomēr vairāki pētījumi par šo piesārņotāju klātbūtni un citu pārtikas grupu izmantošanu dažādās valstīs (Dennis et al.,

1983; 1991; Lodovici et al., 1995) liecina, ka kopējo PAO daudzumu vairāk uzņem ar citām pārtikas grupām, nevis kūpinātiem produktiem. Dennis et al. pētījumos secināts, ka graudaugi, eļļas un tauki dod vislielāko PAO devu uzturā.

Literatūrā aprakstītas dažādas metodes PAO noteikšanai augu eļļās (Koralovič, Traitler, 1982; Menichini et al., 1991; Moret, Conte, 1998; 2000; Van Stijn, 1996). Vairumā metožu paraugu izšķīdina nepolārā šķīdinātājā, piemēram, n-pentānā, n-heksānā vai cikloheksānā, kam seko PAO ekstrakcija ar dimetilformamīda–ūdens šķīdumu (9:1, v/v) (Barranco et al., 2003; Larsson et al., 1987) vai dimetilsulfoksīdu (Menichini et al., 1991). PAO ekstrakcijai var izmantot arī kofeīna kompleksāciju (Koralovič, Traitler, 1982). Vairākās metodēs, lai ekstrahētu PAO no triacilglicerola matricas, pirms šķīduma–šķīduma ekstrakcijas veic eļļu pārziepošanu (Gertz, Kogelheide, 1994; Stijve, Hischenhuber, 1987). Neatkarīgi no tā, kādu ekstrakcijas paņēmieni izmanto, nepieciešama tālāka eļļas ekstrakta attīrīšana, ko parasti veic, izmantojot kolonnas hromatogrāfiju uz dažādiem adsorbējošiem materiāliem (Moret, Conte, 2000a).

Šajā darbā veikti pētījumi par dažādu augu eļļu piesārņojumu ar PAO, to izmaiņām, eļļās cepot dažādus produktus, kā arī samazināšanas iespējām, izmantojot aktivēto ogli. PAO tika identificēti un kvantificēti, izmantojot gāzu hromatogrāfiju–masspektrometriju (GH–MS).

Materiāli un metode

Paraugu pagatavošana

Analīzei izmantojām Latvijas tirgū iegādātas rafinētas un nerafinētas saulespuķu, rapša, olīvu un ķirbju eļļas (kopā 14 paraugi). Katra parauga pagatavošanai 15 g eļļas izšķīdināja 50 ml cikloheksāna (Acros/ECD tested), kam pievienoja noteiktus daudzumus iekšējā standarta benzo(a)pirēna- d_{12} šķīduma (Dr. Ehrenstrofer). Iegūtajam šķīdumam pievienoja 50 ml N,N-dimetilformamīda (Acros/HPLC)–ūdens šķīduma (9:1) un iegūto maisījumu kratīja. Pēc tam N,N-dimetilformamīda–ūdens šķīduma slāni atdalīja un pievienoja 50 ml 1% NaCl (Acros/ACS) šķīduma ūdenī, un PAO ekstrahēja ar 75 ml cikloheksāna. Cikloheksāna slāni atdalīja, filtrēja caur bezūdens nātrija sulfātu (Acros/ACS) un ietvaicēja rotācijas ietvaicētājā 40 °C temperatūrā, vakuumā 235 mbar. Sauso atlikumu izšķīdināja 3 ml cikloheksāna un uznesa uz silikagela kolonnas (500 mg, Phenomenex), kuru kondicionēja ar 5 ml cikloheksāna, un PAO eluēja ar 6 ml (3 ml × 2) cikloheksāna. PAO cikloheksāna šķīdumu ietvaicēja līdz sausam atlikumam slāpekļa plūsmā 40 °C temperatūrā un atlikumu izšķīdināja 50 µl cikloheksāna. Cikloheksāna šķīdumu pārnesa automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktņos un izmantoja noteikšanai ar GH-MS metodi.

Mērījumu apstākļi un izmantotās iekārtas

PAO un benzo(a)pirēna noteikšana veikta, izmantojot firmas Hewlett Packard 6890 gāzu hromatogrāfu ar Hewlett Packard masselektīvo detektoru HP 5973 N un automātisku paraugu ievadīšanas iekārtu HP 7683. Gāzu hromatogrāfijas kolonna: Varian Factor Four, 30 m × 0.25 mm (nekustīgās fāzes slāņa biezums – 0.25 µm). Gāzhromatogrāfiskās analīzes parametri: nesējgāze – hēlijs ar plūsmas ātrumu 1 cm³ min⁻¹, inžektora un detektora temperatūra – 280 °C, parauga tilpums – 1 µl. Kolonnas temperatūras programma: 120 °C (1 min); 120 °C → 250 °C (15 °C min⁻¹); 250 °C (13 min); 250 °C → 280 °C (20 °C min⁻¹); 280 °C (1 min) 280 → 300 °C (35 °C min⁻¹), 300 °C (20 min). Kopējais analīzes laiks – 45.74 min. Gāzu hromatogrāfa–maspektrometra pārejas temperatūra – 280 °C. Elektronu enerģija – 70 eV, spriegums uz elektrodiem – 1941 V. MS detektora parametrus skatīt 1. tabulā. Izmantojot šo metodi, nebija iespējams atdalīt B₁F un B₂F, tāpēc tie noteikti kā summa.

Eļļas attīrīšana ar aktivēto ogli

100 ml saulespuķu eļļas pievienoja attiecīgi 0.1, 0.3, 0.5, 1.0 vai 1.5 g aktivētās ogles, maisīja 30 min istabas temperatūrā, filtrēja un analizēja kā aprakstīts iepriekš.

PAO satura noteikšana eļļā pēc to izmantošanas cepšanā

Olas (2 gab., 115 g), nomizotus kartupeļus (sagrieztus garenos kubiciņos: 35×7×7 mm; 250 g), papriku (sagrieztu kubiciņos: 10×5×5; 210 g), smalki sagrieztu liesu gaļu (200 g) un smalki sagrieztu treknu gaļu (speķa saturs 40%, 250 g) uz pannas katru cepa 45 ml saulespuķu eļļas, kurai iepriekš bija noteikts PAO saturs. Produktus cepa, līdz tie bija gatavi lietošanai uzturā: olas – 15 min, papriku – 20 min, kartupeļus – 35 min, lieso gaļu – 20 min, trekno gaļu – 20 min. Eļļu nolēja un noteica PAO saturu.

Rezultātu izteiksmes veidi

PAO satura salīdzināšanai dažādās eļļās izmantota normēšana pret lielāko atrasto kopējo PAO saturu olīvu eļļai. Aprēķini veikti, izmantojot vienādojumu (1):

$$NPAO = \frac{C_{PAO}^i}{C_{PAO}^{max}} \cdot 100, \quad (1)$$

kur

$NPAO$ – anormētais PAO saturs, %;

C_{PAO}^i – AO saturs dotajā eļļā, µg kg⁻¹;

C_{PAO}^{max} – maksimālais summārais PAO saturs eļļā ar lielāko kopējo PAO saturu, µg kg⁻¹.

Kopējā PAO satura novērtēšanai dažādās eļļās normēšanai izmantojām kopējo PAO saturu olīvu eļļā. Rafinētas un nerafinētas saulespuķu eļļas PAO satura salīdzināšanai normēšanai pēc formulas (1) izmantojām kopējo PAO saturu nerafinētā saulespuķu eļļā. Savukārt rezultātu izvērtēšanā, izmantojot toksiskās ekvivalences faktoros, PAO saturs dažādās augu eļļās normēts pēc lielākā atrastā kopējā PAO satura.

Pētījuma rezultāti un diskusija

Četriem dažādiem Latvijas tirgū iegādātiem eļļu veidiem analizējām Eiropas Komisijas rekomendācijā (Commission Recommendation 2005/108/EC) minētos 15 PAO, kuri ieteikti turpmākiem pētījumiem. Benzo(a)pirēna saturs eļļu paraugos bija sākot no nosakāmās robežkoncentrācijas (0.1 µg kg⁻¹) līdz 7.7 µg kg⁻¹, bet PAO kopējais saturs – no 0.21 līdz 46 µg kg⁻¹. Analizētajos rapšu un saulespuķu eļļu paraugos atradām visus analizētos PAO (1. att.).

Vislielākais vidējais BaP saturs analizētajos paraugos bija saulespuķu eļļās, bet vislielākais kopējais PAO saturs bija olīvu eļļai. Saulespuķu eļļai

PAO masspektrometriskie raksturlielumi
PAO masspectrometrical parameters

Savienojums / Compound	Saīsinājums / Abbreviation	Masspektra bāzes smaile / MS base peak, Da	Aiztures laiks / Retention time, min
Ciklopenta(c,d)pirēns / Cyclopenta(c,d) pyrene	CPP	226	15.24
Benz(a)antracēns / Benz(a)anthracene	BaA	228	15.26
Hrizēns / Crysene	CHR	228	15.43
5-metilhrizēns / 5-methylchrysene	5MC	242	17.94
Benzo(b)fluorantēns / Benzo(b) fluoranthene	BbF	252	22.60
Benzo(k)fluorantēns / Benzo(k) fluoranthene	BkF	252	22.60
Benzo(j)fluorantēns / Benzo(j) fluoranthene	BjF	252	22.79
Benzo(a)pirēns / Benzo(a)pyrene	BaP	252	24.57
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns / Indeno(1,2,3-cd)pyrene	IcdP	276	28.94
Dibenz(a,h)antracēns / Dibenz(a,h) anthracene	DahA	278	29.11
Benzo(g,h,i)perilēns / Benzo(g,h,i) perylene	BghiP	276	30.00
Dibenzo(a,l)pirēns / Dibenzo(a,l)pyrene	DalP	302	36.10
Dibenzo(a,e)pirēns / Dibenzo(a,e)pyrene	DaeP	302	38.49
Dibenzo(a,i)pirēns / Dibenzo(a,i)pyrene	DaiP	302	39.42
Dibenzo(a,h)pirēns / Dibenzo(a,h) pyrene	DahP	302	39.93

tas bija 83.2%, ķirbju eļļai – 45.2%, un rapša – 24% no BAP satura olīvu eļļā, kas atšķirās no spāņu zinātnieču pētījuma rezultātiem (Guillen, Sopolana, 2004), kur sēklu eļļas saturēja augstākas PAO koncentrācijas nekā olīveļļas. Tomēr olīveļļās galvenokārt sastopami PAO ar mazāku molekulmasu (CPP, BaA, CHR un 5MC), kas dzīvīem organismiem ir mazāk kaitīgi. Salīdzinoši rapšu eļļās šo PAO bija maz, toties atradām arī dibenzpirēnus un dibenz(a,h)antracēnu, kas olīveļļā un ķirbju eļļā netika atrasti (1. att.).

Analizējot viena tipa (nerafrinētas un rafinētas) eļļas, atrastas ļoti dažādas PAO koncentrācijas, līdz ar to būtu vēlama regulāra kontrole. Iespējami daži uztura faktori, kas var daļēji aizsargāt no PAO kancerogenitātes. Visas augu eļļas, bet it īpaši olīveļļas, satur dabiskos antioksidantus, kuri var kavēt PAO toksisko ietekmi (Huang et al., 2002). Līdz ar to

olīveļļa izpelnījies īpašu uzmanību un ir plaši pētīta vairākos darbos (Barranco et al., 2003; Menichini et al., 1991; Moret et al., 1997; Bogusz et al., 2004).

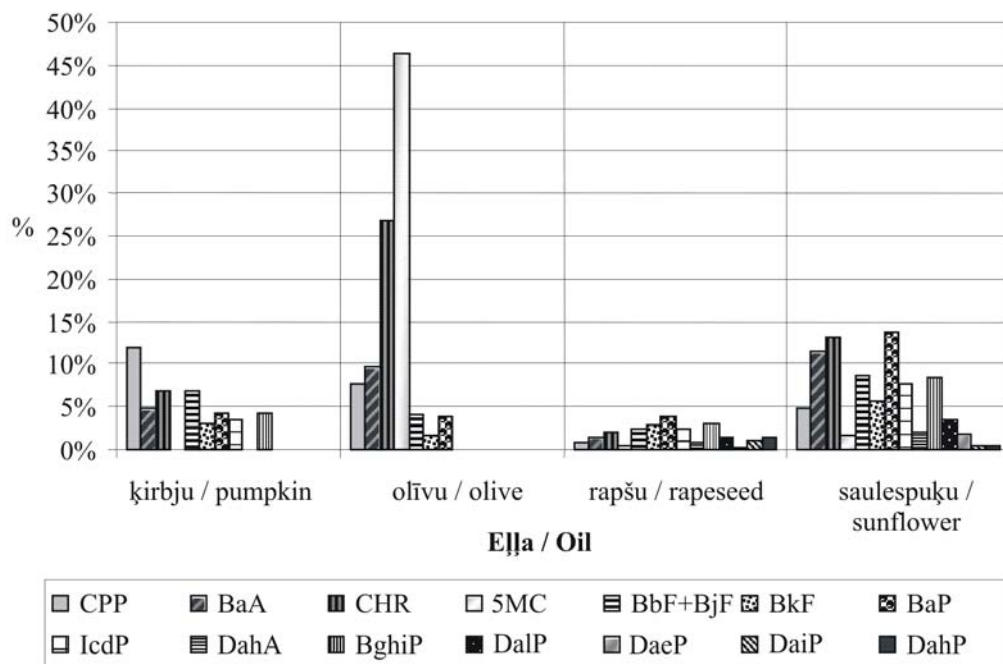
Literatūrā samērā bieži minēti pētījumi par PAO saturu olīveļļās, saulespuķu un citās eļļās (Speer et al., 1990; Moret et al., 1997; Barranco et al., 2004; Pandey et al., 2004), tomēr tie galvenokārt ietver ierobežota skaita PAO analīzi, vai arī daļā pētījumu analizēts tikai benzo(a)pirēns. Iegūtos PAO rezultātus ir grūti salīdzināt ar citu autoru publicētajiem pētījumiem, jo atšķiras ne tikai noteikto PAO skaits, bet arī tas, ka agrākajos darbos PAO summā ietverti arī „vieglie” (satur līdz četriem benzola cikliem) PAO, kuri nav kancerogēni un bieži ir ievērojami augstākās koncentrācijās.

Apskatot literatūras datus par PAO saturu olīveļļā, augstākais PAO saturs konstatēts spiedpalieku eļļām.

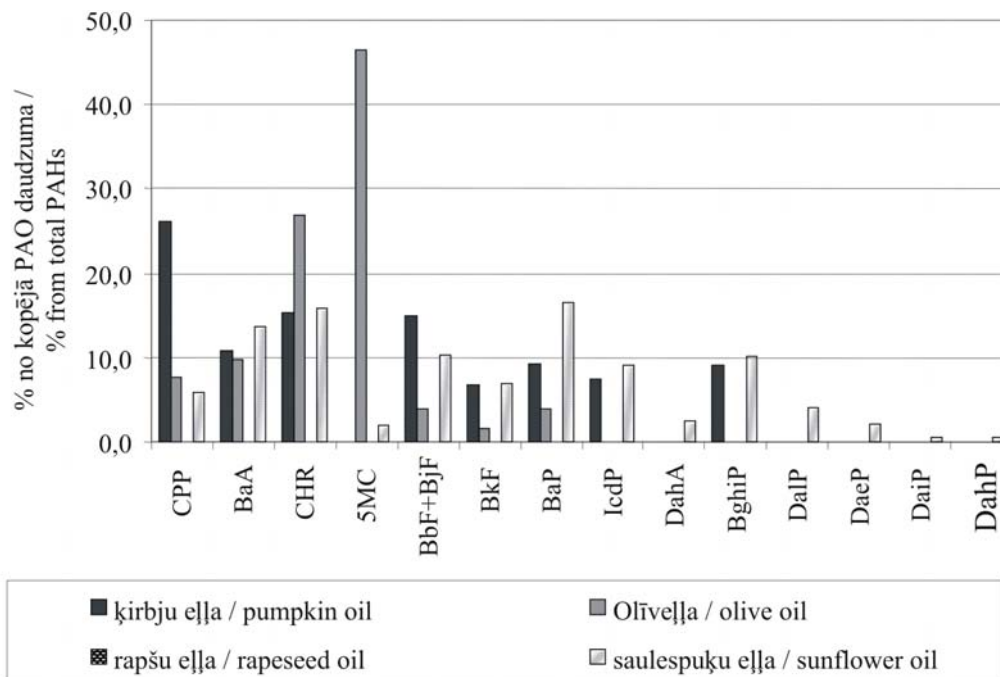
Apvienotās Karalistes Pārtikas Standartu Aģentūra (2001) ziņoja, ka analizētajās olīvu spiedpalieku eļļās no Grieķijas, Spānijas un Itālijas benzo(a)pirēna saturs robežojās no 9 līdz 43 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Van der Wielen et al., 2006). Mūsu iegūtie rezultāti (1. att.) par BaP saturu olīveļļā, saulespuķu un rapšu eļļā saskan ar vairāku autoru (Barranco et al., 2004; Moret et al.,

1997; Larsson et al., 1987) iegūtajām vērtībām, bet ir zemākas nekā citu autoru (Pupin, Toledo, 1996; Koralovič, Traitler, 1982) publicētās koncentrācijas.

Izvērtējot konstatēto individuālu PAO relatīvo saturu dažādās eļļās (2. att.), redzams, ka CPP daudz vairāk sastopams ķirbju eļļās nekā citās analizētajās eļļās. Kaut gan lielākoties visaugstākās individuālo



1. att. PAO saturs dažādās augu eļļās, kas normēts pēc olīveļļas kopējā PAO satura.
Fig. 1. Content of PAHs in different vegetable oils calculated according to total content of PAHs in olive oil.

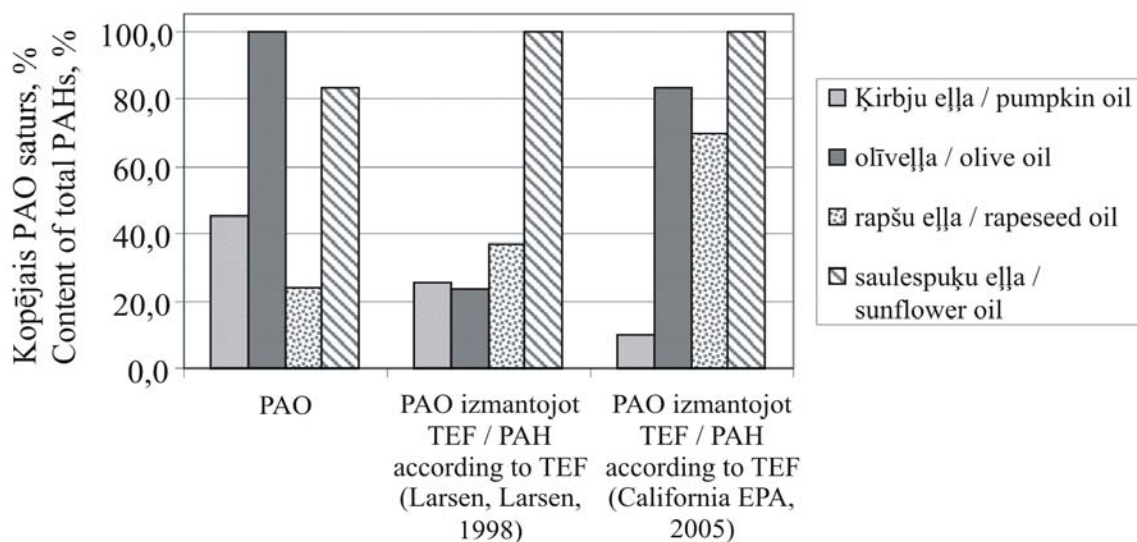


2. att. Individuālo PAO relatīvais saturs dažādās augu eļļās.
Fig. 2. Relative content of PAHs in samples of different vegetable oils.

PAO koncentrācijas tika konstatētas saulespuķu eļļā (1. att.), tomēr procentuāli CPP un BbF+BjF visvairāk bija ķirbju eļļā, bet BkF, IcdP, DahA, BghiP, DalP DaiP un DahP – rapšu eļļā. Savukārt 5MC olīveļļās bija gandrīz puse no kopējā PAO satura, bet ķirbju eļļā tas netika atrasts vispār. Salīdzinājumā ar citām eļļām olīvu eļļā atšķīrās arī citu PAO attiecība, piemēram, benzo(a)pirēns bija daudz mazāk un PAO ar lielāku molekulu masu nebija vispār. Salīdzinoši mazākas atšķirības varēja novērot starp PAO procentuālo saturu rapšu un saulespuķu eļļās. Ja salīdzina atrastās BaP koncentrācijas (1. att.), tad redzams, ka saulespuķu eļļā BaP saturs ir vairāk nekā uz pusi lielāks salīdzinājumā ar citām eļļām. Lai gan procentuālais BaP saturs arī saulespuķu eļļā ir vislielākais, tomēr praktiski tas ir vienāds ar rapšu eļļā noteikto relatīvo saturu (2. att.).

Izmantojot toksiskās ekvivalences faktoros (TEF), mēģinājām objektīvi salīdzināt kopējo PAO daudzumu mūsu analizētajās eļļās un reālo risku cilvēku veselībai. Pēc Larsen, Larsen (1998) publicētajiem toksiskās ekvivalences faktoriem redzams, ka būtiski mainās PAO piesārņojuma risks olīveļļās, kur tas ir tikai 23% no saulespuķu eļļas kopējā PAO daudzuma, kas aprēķināts, izmantojot TEF (3. att.). Savukārt, izmantojot California EPA (Technical..., 2005) toksiskās ekvivalences faktoros, būtiski izmainās piesārņojuma risks ar PAO ķirbju eļļai un rapšu eļļai. Ķirbju eļļai tas ir tikai 9.7% no saulespuķu eļļas, bet rapšu eļļai sasniedz 69% no saulespuķu eļļas PAO daudzuma, kas aprēķināts, izmantojot TEF.

Kā redzams no minētajiem piemēriem un izvērtējot zinātniskajā literatūrā sastopamos datus,



3. att. PAO saturs dažādās augu eļļās, kas normēts pēc lielākā atrastā kopējā PAO satura.

Fig. 3. Content of PAHs in different vegetable oils calculated according to higher total content of PAHs in oil.

2. tabula / Table 2

Iegūtās potenciālās TEF vidējās vērtības
Acquired potencial average values of TEF

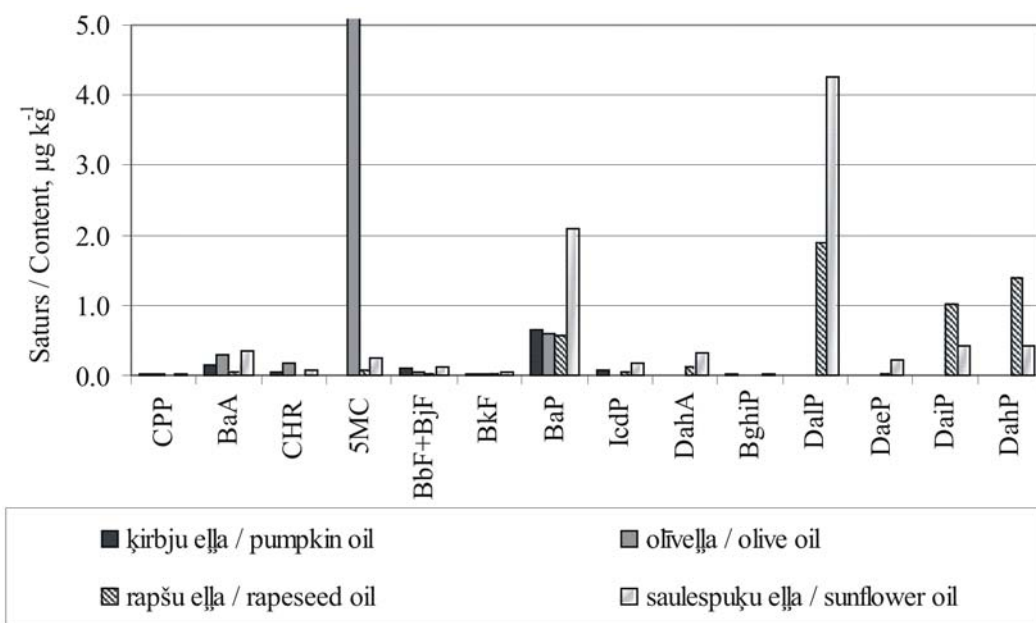
PAO / PAH	Savienojumi / Compounds														
	CPP	BaA	CHR	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	DalP	DaeP	DaiP	DahP
n	1	15	15	3	12	12	6	15	12	12	5	5	6	6	6
TEF	0.02	0.20	0.04	1.0	0.1	0.07	0.1	1.0	0.14	1.08	0.02	8.20	0.82	6.86	6.99
s	0	0.29	0.09	0	0.01	0.04	0.02	0	0.07	1.31	0.01	4.02	0.33	4.88	4.66

n – aprēķinos izmantotais literatūras datu skaits / the number of literature data used in calculation
s – standartnovirze / standard deviation

secinājām, ka PAO savienojumiem dažādi autori (Deshpande, 2002; Guillen et al., 2000; Jira, 2004; Thorslund, Farrer, 1991; Traag et al., 2002; Bolger et al., 1996; Al-Yakoob et al., 1994; Benzo(a)pyrene ..., 1994; Provisional Guidance ..., 1993; Nisbet, LaGoy, 1992; Collins et al., 1998; Larsen, Larsen, 1998; Mumtaz et al., 2007) piešķirūši ļoti dažādus TEF. Līdz ar to, apkopojot literatūras datus, izveidojām kopēju vidējo potenciālo TEF skalu (skat. 2. tabulu). Aprēķinot mūsu analizēto eļļu potenciālo toksiskumu pēc mūsu izveidotās TEF skalas, ieguvām, ka

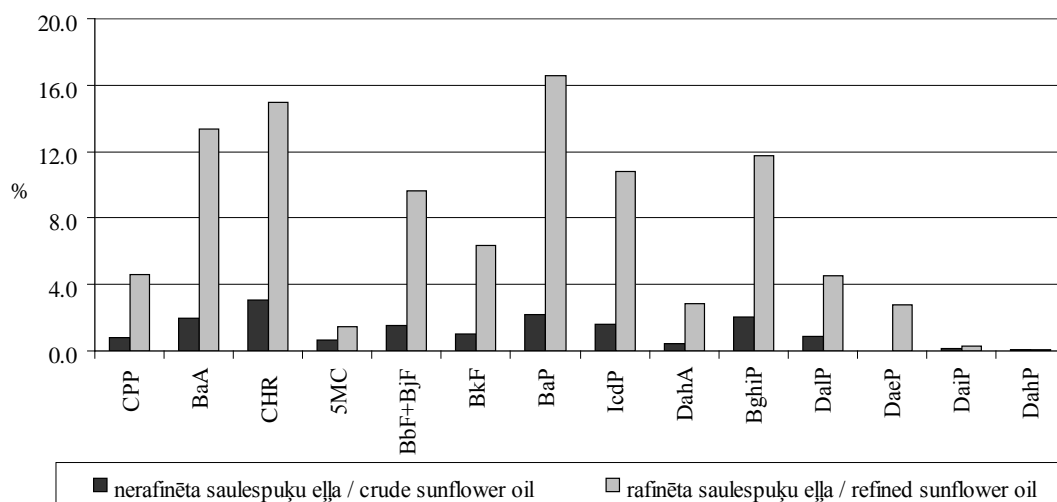
vislielākais piesārņojuma risks ir saulespuķu eļļai, bet vismazākais – ķirbju eļļai. Izmantojot TEF, redzams, ka vislielāko toksisko vielu devu eļļu piesārņošanā izraisa dibenzopirēni, kā arī benzo(a)pirēns (4. att.).

Kaut arī rafinētas eļļas parasti satur mazākas PAO koncentrācijas, jo rafinēšanas procesā ir iespējams samazināt PAO saturu (Cejpek et al., 1998; Dennis et al., 1991; Larsson et al., 1987; Moret et al., 1997), tomēr pēc mūsu analīžu rezultātiem tirdzniecībā sastopamā rafinētā saulespuķu eļļa saturēja daudz augstākas PAO koncentrācijas (5. att.). Līdz ar to



4. att. PAO saturs dažādās augu eļļās, kas aprēķināts, izmantojot iegūto TEF skalu.

Fig. 4. Content of PAHs in different vegetable oils calculated according to acquired scale of TEFs.



5. att. PAO saturs rafinētā un nerafinētā saulespuķu eļļā, kas normēts pēc rafinētas saulespuķu eļļas kopējā PAO satura.

Fig. 5. Content of PAHs in refined and crude sunflower oil calculated according to total content of PAHs in refined sunflower oil.

pieņēmums, ka patērētāji, kas iecienījuši nerafinētas eļļas, varētu būt vairāk neaizsargāti no kaitīgu vielu uzņemšanas (Cejpek et al., 1998), neatbilst patiesībai. Arī spāņu zinātnieču pētījumā rafinētās eļļās atrastas augstas PAO koncentrācijas, kas lielākas par nerafinētās eļļās sastopamajām (Guillen, Sopolana, 2004). Augstākas PAO koncentrācijas, kas konstatētas rafinētās eļļās, varētu izskaidrot ar piesārņotu izejvielu izmantošanu vai eļļu iegūšanas tehnoloģiju, jo rafinēšanas procesā var tikt izmantotas dažādu metožu, piemēram, deodorācijas, balināšanas, apstrādes ar bāzēm un skābēm kombinācijas, kā arī iespējama eļļu piesārņošana rafinēšanas gaitā, ja reaģenti satur PAO.

Ar deodorizāciju iespējams samazināt galvenokārt „vieglus” PAO (satur līdz četriem benzola cikliem) (Cejpek et al., 1998; Dennis et al., 1991), savukārt, apstrādājot ar aktivēto ogli, iespējams samazināt „smagos” PAO (satur piecus vai vairāk benzola ciklus) (Larsson et al., 1987), bet hidrogenēšanas procesa laikā – gan „vieglus”, gan „smagos” (Barranco et al., 2004).

Tā kā nav zināms mūsu pētījumā analizētās rafinētās eļļas ražošanā izmantotie tehnoloģiskie procesi, tad grūti noteikt iespējamos piesārņojuma avotus. Augstās PAO koncentrācijas (vidēji 6.1 reizi), iespējams, iegūtas arī stipri piesārņotas izejvielas nepietiekamas rafinēšanas vai arī vēlākas piesārņošanas dēļ. Visbiežāk piesārņošana ar PAO notiek sēklu žāvēšanas procesā, ja produkts nonāk saskarsmē ar dūmgāzu sastāvā esošiem PAO, kā arī ja eļļu ražošanā izmantotās izejvielas tiek pakļautas piesārņošanai ar smagu. Viens no iespējamiem

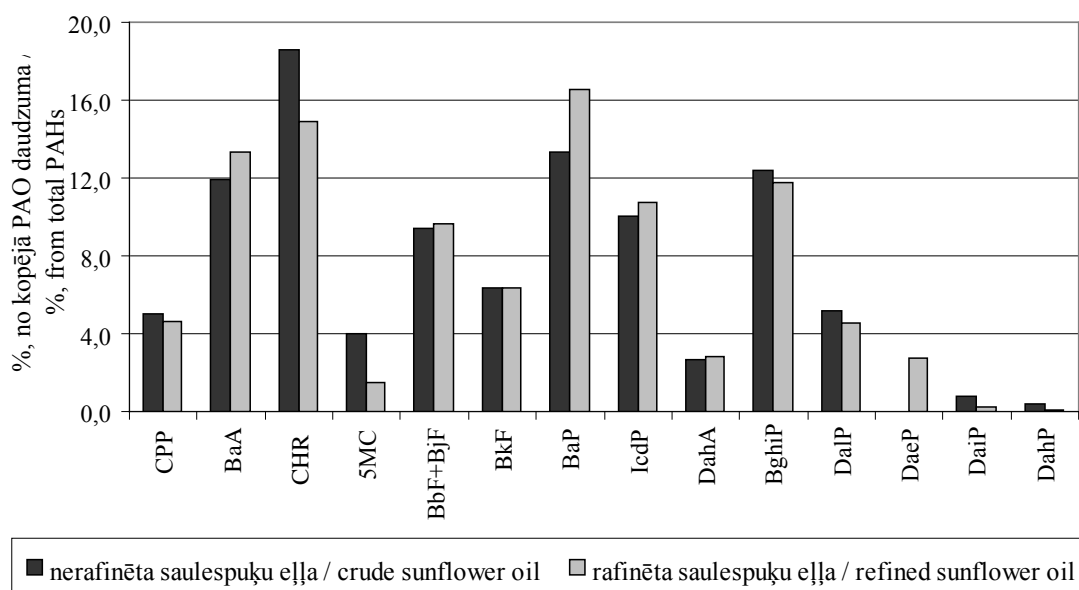
riskiem eļļu piesārņošanai ar PAO ir arī ražošanas iekārtu ieeļļošanai izmantotās minerāleļļas (Moret, Conte, 2000).

Eļļu piesārņošana ar PAO galvenokārt saistīta ar to iegūšanas tehnoloģiskajiem procesiem, kā, piemēram, piesārņota šķīdinātāja izmantošana eļļu ekstrakcijā no sēklām, produkta piesārņošana ar naftas produktu izplūdes gāzēm, kā arī šķīdinātāja ietvaicēšanas laikā (Bogusz et al., 2004). Tāpēc, lai izvairītos no eļļu piesārņošanas, būtu nepieciešama PAO kontrole arī eļļu ražošanas procesā – gan pirms, gan to iegūšanas laikā.

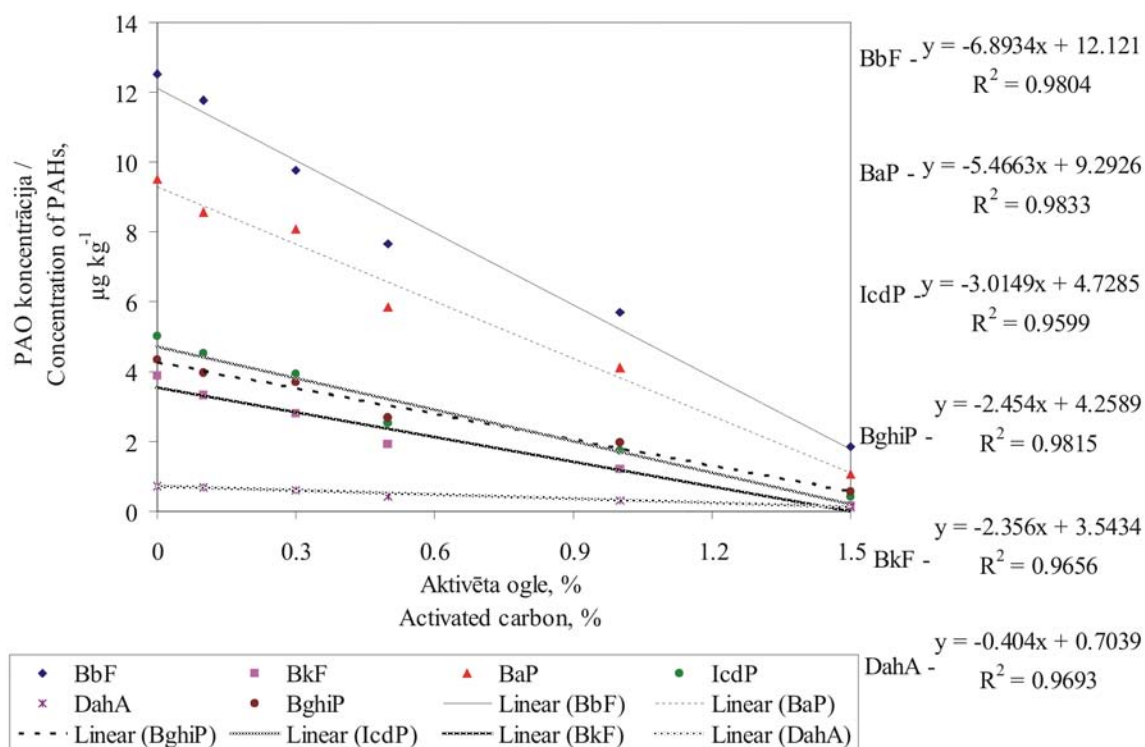
Salīdzinot individuālo PAO relatīvo saturu rafinētā un nerafinētā saulespuķu eļļā (6. att.), redzams, ka lielākajai daļai PAO procentuālās attiecības abās eļļās ir samērā līdzīgas; vienīgi CHR, 5MC, DaiP un DahP relatīvais saturs ir lielāks nerafinētā saulespuķu eļļā. Savukārt atrastais BaA un BaP relatīvais saturs bija lielāks rafinētā saulespuķu eļļā, un DaeP bija tikai rafinētā saulespuķu eļļā.

Mēs pārbaudījām PAO samazināšanas iespējas saulespuķu eļļā, izmantojot aktivēto ogli. Novērojām visu PAO ievērojamu samazināšanos. Eļļu apstrādājot ar 1.5% aktivēto ogli, visi PAO samazinājās par 85 līdz 96% (7. att.). Procentuālā ziņā visvairāk samazinājās BkF, kam jau pēc apstrādes ar 0.1% aktivēto ogli novērojām samazināšanos par 14%. Pirms apstrādes ar aktīvo ogli eļļa 4 reizes pārsniedza maksimāli pieļaujamo BaP līmeni – 2.0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, bet pēc apstrādes BaP saturs eļļā bija vairs tikai 1.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Iegūtie rezultāti arī liecina, ka lai eļļās samazinātu individuālo PAO saturu ar lielāku molekulu masu,



6. att. Individuālo PAO relatīvais saturs rafinētā un nerafinētā saulespuķu eļļā.
Fig. 6. Relative content of individual PAHs in samples of refined and crude sunflower oil.



7. att. PAO samazināšana eļļā, apstrādājot ar aktivētu ogli.
Fig. 7. Decrease in PAHs in oil by treatment with activated carbon.

nepieciešams lielāks aktīvās ogles daudzums. Iegūtā korelācija starp molekulas masu un slīpuma koeficientu bija 0.71, kaut gan ļoti būtiska loma absorbcijā ar ogli ir arī molekulas struktūrai, ko pierāda BbF, BkF un BaP koncentrācijas lineārās regresijas vienādojumu koeficientu krasās atšķirības.

Ar mērķi pārlicināties, vai cepšanas procesā eļļās veidojas vai nonāk papildu PAO no cepamā produkta, mēs veicām arī pētījumu par PAO saturu eļļās pēc to izmantošanas cepšanā. Cepšana ir viens no visbiežāk izmantotajiem termiskās apstrādes veidiem dažādu produktu pagatavošanā. Ir zināms, ka PAO veidojas pārtikas produktos cepšanas procesā (Janoszka et al., 2004), kā arī emisijas rezultātā sastopami cepšanas izgarojumos virtuves gaisā (Li et al., 2003; To et al., 2007).

Tā kā policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži ir lipofili savienojumi un tiem ir tendence difundēt uz nepolāru vidi, tad, ja cepšanas procesa laikā produktā rodas PAO, tie, visticamāk, migrācijas rezultātā nonāk arī eļļā.

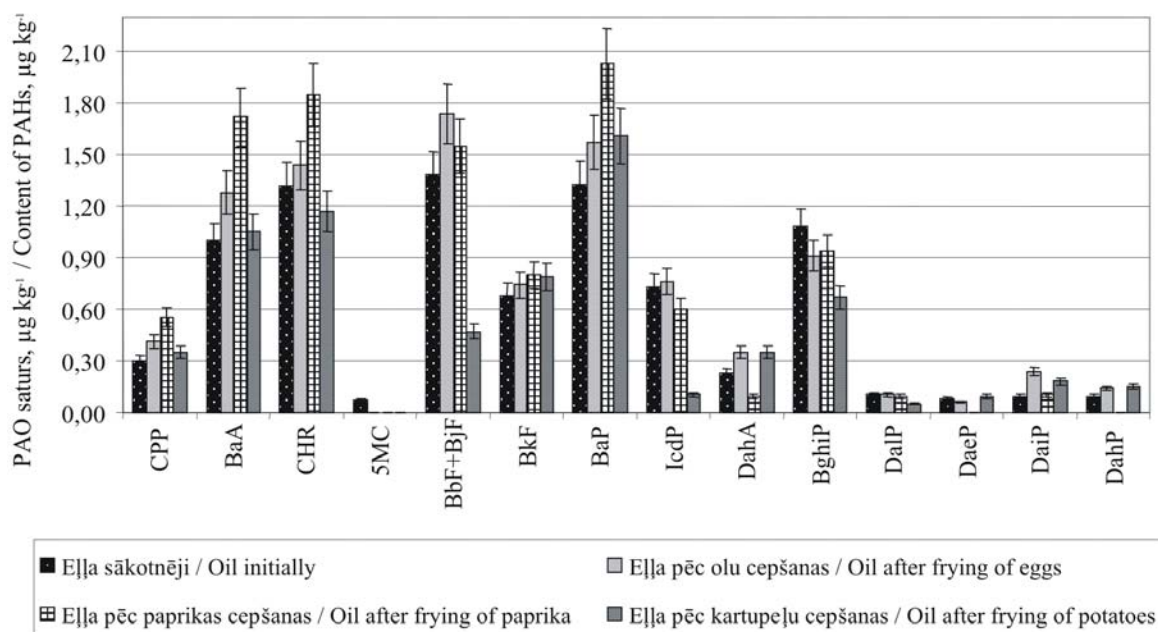
Cepot olas, novērojām nelielu PAO koncentrāciju palielināšanos eļļā (8. att.), ko varētu izskaidrot ar olās esošā holesterīna pārvērtībām (Barranco et al., 2004).

Cepot papriku, eļļā palielinājās PAO ar mazāku molekulas masu koncentrācijas. Iespējams, ka paprika bija piesārņota ar PAO. Pateicoties adsorbcijai, uz

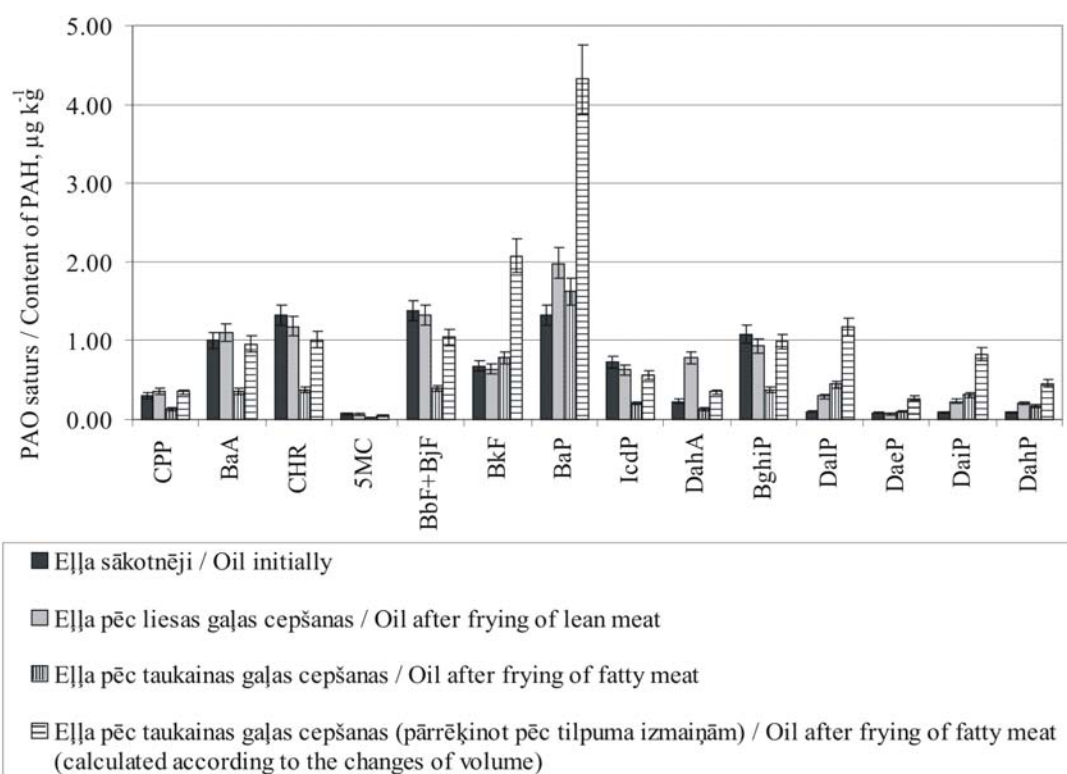
augu un dārzeņu vaskotās virskārtas var koncentrēties „vieglie” PAO (Nielsen et al., 1996). Līdz ar to cepšanas procesa laikā iespējama to resorbcija eļļā. Savukārt PAO ar lielāku molekulas masu par 252 nemainījās vai samazinājās, kas, iespējams, varētu būt to migrācijas vai daļējas sadalīšanās rezultāts un varētu veicināt vieglo PAO koncentrāciju relatīvo palielinājumu.

Kartupeļu cepšanas rezultātā pārsvarā novērojām nemainīgas PAO koncentrācijas vai to samazināšanos eļļā, izņemot BaP un DahA satura palielināšanos. Kartupeļi bija audzēti bioloģiskā saimniecībā, kuras tuvumā neatrodas iespējamie vides piesārņojuma avoti (piem., lielceļš, rūpniecības uzņēmumi), kas varētu radīt PAO piesārņojumu. Cepot kartupeļus, tie uzsūc eļļu samērā lielos daudzumos, kā rezultātā ievērojami samazinās ne tikai eļļas daudzums, bet acīmredzot migrācijas rezultātā arī nedaudz samazinās PAO saturs eļļas pārpalikumā.

Cepot liesu gaļu, PAO saturs eļļā palika praktiski nemainīgs (9. att.), vienīgi BaP un DahA saturs nedaudz palielinājās. Analizējot eļļu pēc taukainas gaļas cepšanas, PAO saturs bija mazāks nekā sākotnēji, jo, tā kā nebija iespējams atdalīt tauku un eļļas fāzi, taukiem izšķīstot eļļā, tās kopējais tilpums bija stipri palielinājies. Līdz ar to absolūtais PAO saturs varētu būt savādāks. Pārreķinot PAO saturu, ievērojot eļļas fāzes tilpuma izmaiņas pēc formulas



8. att. PAO saturs izmaiņas saulespuķu eļļā, cepot dārzeņus un olas.
 Fig. 8. Changes in PAHs content in sunflower oil after frying of vegetables and eggs.



9. att. PAO saturs izmaiņas saulespuķu eļļā, cepot gaļu.
 Fig. 9. Changes in PAHs in sunflower oil after frying of meat.

2, redzams, ka lielākā daļa PAO koncentrāciju pēc cepšanas nemainās, bet cepšanas rezultātā palielinās BkF, BaP, DalP un DaiP saturs (9. att.):

$$C_{PAO}^{kor} = C_{PAO} \cdot \frac{V_b}{V_s}, \quad (2)$$

kur

C_{PAO}^{kor} – koriģēta PAO koncentrācija eļļā pēc cepšanas, ievērojot atšķaidīšanos ar taukiem, $\mu\text{g kg}^{-1}$;

C_{PAO} – eļļas analīzē noteiktā PAO koncentrācija, $\mu\text{g kg}^{-1}$;

V_b – eļļas un tauku kopējais tilpums pēc cepšanas, ml;

V_s – eļļas sākotnējais tilpums, ml.

Tomēr jāatzīmē, ka, novērtējot PAO izmaiņas cepšanas procesā, iespējamas kļūdas gan eļļas tilpuma samazināšanās vai palielināšanās rezultātā, gan arī tāpēc, ka PAO koncentrācijas jau sākumā vairākiem PAO ir zemas vai tuvu nosakāmai robežkoncentrācijai, kas palielina relatīvo kļūdu.

Kaut arī PAO satura izmaiņas eļļā norāda uz iespējamo PAO rašanos produktos cepšanas laikā, tomēr no PAO satura eļļā pēc cepšanas nevar viennozīmīgi spriest par PAO rašanos produktos cepšanas procesā, jo PAO difūzija eļļā var būt ļoti atšķirīga atkarībā no produkta veida un apstākļiem.

Kaut arī PAO izmaiņas eļļā pēc to izmantošanas pārbaudīto produktu cepšanā nav lielas, tomēr nebūtu ieteicams eļļu izmantot atkārtotai cepšanai, jo gan migrācijas, gan citu procesu rezultātā novērojām dažu PAO koncentrācijas palielināšanos eļļā.

Par PAO rašanos eļļās un taukos liecina arī citu zinātnieku pētījumi, kuros konstatēts, ka sakarsētu cepamo eļļu izgarojumu tvaiki satur PAO (Chiang et al., 1997). Kaut arī PAO galvenokārt rodas, cepot gaļas produktus uz atklātas liesmas, tie var rasties arī augstā temperatūrā eļļās un taukos, ko izmanto cepšanas procesā.

Secinājumi

Analizējot PAO saturu pārdošanā esošo olīvu, saulespuķu, rapšu un ķirbju eļļās, benzo(a)pirēna saturs eļļu paraugos bija sākot no nosakāmās robežkoncentrācijas ($0.1 \mu\text{g kg}^{-1}$) līdz $7.7 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet PAO kopējais saturs bija no 0.21 līdz $46 \mu\text{g kg}^{-1}$. Rafinēta saulespuķu eļļa saturēja augstākas PAO koncentrācijas nekā nerafinēta. Eļļu apstrādājot ar 1.5% aktivēto ogli, visi PAO samazinājās par 85 līdz 96%. Iespējamās PAO rašanās dēļ nav ieteicams eļļu atkārtoti izmantot pārtikas produktu cepšanai.

Literatūra

1. Al-Yakoob, S.N., Saeed, T., Hashash, H.A.I. (1994) Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: exposure assessment for Kuwait consumers after the Gulf oil spill of 1991. *Environ. Int.*, Vol. 20, pp. 221-227.
2. Barranco, A., Alonso-Salces, R.M., Bakkah, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Sarobe, M. (2003) Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *J. Chromatography A*, Vol. 988, pp. 33-40.
3. Barranco, A., Alonso-Salces, R.M., Crespo, I., Berrueta, A., Gallo, B., Vicente, F., Sarobe, M. (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbon content in commercial Spanish fatty foods. *Journal of Food Protection*, Vol. 67, pp. 2786-2791.
4. *Benzo(a)pyrene as a Toxic Air Contaminant, Part B. Health Effects of Benzo[a]pyrene.* (1994) Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA), Air Resources Board and Office of Environmental Health Hazard assessment, California Environmental Protection Agency, Berkeley, 23 pp.
5. Bogusz, M.J., Hajj, S.A.E., Ehaideb, Z., Hassan, H., Al-Tufail, M. (2004) Rapid determination of benzo(a)pyrene in olive oil samples with solid-phase extraction and low-pressure, wide-bore gas chromatography–mass spectrometry and fast liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1026, pp. 1-7.
6. Bolger, M., Henry, S.H., Carrington, C.D. (1996) Hazard and risk assessment of crude oil contaminants in subsistence seafood samples from Prince Williams Sound. *American Fisheries Symposium*, Vol. 18, pp. 837-843.
7. Cejpek, K., Hajšlova, J., Kocourek, V., Tomaniova, M., Čmolik, J. (1998) Changes in PAH levels during production of rapeseed oil. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 15, No. 5, pp. 563-574.
8. Chiang, T.A., Wu, P.F., Wang, L.F., Lee, H., Lee, C.H., Ko, Y.C. (1997) Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbon content of fumes from heated cooking oils produced in Taiwan. *Mutation Research*, Vol. 381, pp. 157-161.
9. Collins, F.P., Brown, J.P., Alexeeff, G.V., Salmon, A.G. (1998) Potency Equivalence Factors for some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Derivatives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, Vol. 28, pp. 45-54.
10. Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005 on the further investigation

- into levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. (2005) *Official Journal of European Union*, L 34/43 - L 34/44.
11. Dennis, M.J., Massey, R.C., Cripps, G., Venn, I., Howarthand, N., Lee, G. (1991) Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other products. *Food Addit. Contam.*, Vol. 8, pp. 517-530.
 12. Dennis, M.J., Massey, R.C., McWeeny, D.J., Knowles, M.E., Watson, D. (1983) Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. *Food Chemical Toxicology*, Vol. 21, No. 5, pp. 569-574.
 13. Deshpande, S.S. (2002) Probable Human Carcinogens and Estimated Relative potencies. In: *Handbook of toxicology*. New York; Basel: Marcel Dekker, 852 pp.
 14. Gertz, A., Kogelheide, H. (1994) Untersuchung und Beurteilung von PAK in Speisefetten und Olen. *Fat Sci. Technol.*, Vol. 96. pp. 175-180.
 15. Guillen, M.D., Sopelana, P., Partearroyo, M.A. (1997) Food as source of polycyclic aromatic carcinogens. *Rev. Environ. Health*, Vol. 12, pp. 133-146.
 16. Guillen, M.D., Sopelana, P., Partearroyo, M.A. (2000) Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commercial Liquid Smoke Flavourings of Different Compositions by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* Vol. 48, pp. 128-131.
 17. Guillen, M.D., Sopelana, P. (2004) Load of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils: importance of alkylated derivatives. *Journal of Food Protection*, Vol. 67, No. 9, pp. 1904-1913.
 18. Huang, C.Y., Huang, J.Li., Hu, W., Aziz, R., Tang, M.S., Sun, N., Cassady, J., Stoner, G.D. (2002) Inhibition of benzo(a)pyrene diolepoxide-induced transactivation of activated protein 1 and nuclear factor kappa B by black raspberry extracts. *Cancer Research*, Vol. 62, pp. 6857-6863.
 19. Janoszka, B., Warzecha, I., Blaszczyk, U., Bodzek, D. (2004) Organic compounds formed in thermally treated high-protein food. Part I. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Acta Chromatographica*, Vol. 14, pp. 115-128.
 20. Jira, W. (2004) A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. *Eur. Food Res. Technol.*, Vol. 218, pp. 208-212.
 21. Koralovič, L., Traitler, H. (1982) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils by caffeine complexation and glass capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, Vol. 237, pp. 263-272.
 22. Larsen, J.C., Larsen, P.B. (1998) Chemical carcinogens. In: *Air Pollution and Health*. Eds.: Hester R.E., Harrison R.M. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, pp. 33-56.
 23. Larsson, B.K., Eriksson, A.T., Cervenka, M. (1987) Polycyclic aromatic hydrocarbons in crude and deodorized vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, Vol. 64, pp. 365-370.
 24. Li, C.T., Lin, Y.C., Lee, W.J., Tsai, P.J. (2003) Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Carcinogenic Potencies from Cooking Sources to the Urban. *Atmosphere Environmental Health Perspectives*, Vol. 111, pp. 483-487.
 25. Lodovici, M., Dolara, P., Casalini, C., Ciappellano, S., Testolin, G. (1995) Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food Addit. Contam.*, Vol. 12, pp. 703-713.
 26. Menichini, E., Domenico, A.D., Bonanni, L., Corradetti, E., Mazzanti, L., Zucchetti, G. (1991) Reliability assessment of a gas chromatographic method for polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oil. *Journal of Chromatography*, Vol. 555, pp. 211-220.
 27. Moreda, W., Perez-Camino, M.C., Cert, A. (2001) Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils. *J. Chromatography A*, Vol. 936, pp. 159-171.
 28. Moret, S., Conte, L.S. (1998) Off-line LC-LC determination of PAHs in edible oils and lipidic extracts. *Journal of High Resolution Chromatography*, Vol. 21, pp. 253-257.
 29. Moret, S., Conte, L.S. (2000) Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography*, Vol. 882, pp. 245-253.
 30. Moret, S., Dudine, A., Conte, L.S. (2000) Processing effects on the polyaromatic hydrocarbon content of grapeseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 77, No. 12, pp. 1289-1292.
 31. Moret, S., Piani, B., Bortolomeazzi, R., Conte, L.S. (1997) HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, Band 205, S. 116-120.
 32. Mumtaz, M.M., Ruiz, P., De Rosa, C.T. (2007) Toxicity assessment of unintentional exposure to multiple chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 23, pp. 104-113.
 33. Nielsen, T., Jorgensen, H.E., Larsen, J.C., Poulsen, M. (1996) City air pollution of polycyclic aromatic hydrocarbons and other mutagens:

- occurrence, sources and health effects. *Science of The Total Environment*, Vol. 189, pp. 41-49.
34. Nisbet, I.T.C., LaGoy, P.K. (1992) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, Vol. 16, pp. 290-300.
 35. Pandey, M.K., Mishra, K. K., Khanna, S. K., Das, M. (2004) Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed edible oils and their likely intake in the Indian population. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 81, pp. 1131-1136.
 36. *Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, EPA/600/R-93/089. (1993) United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, 20 pp.
 37. Pupin, A.M., Toledo, M.C.F. (1996) Benzo(a)pyrene in olive oils on Brazilian market. *Food Chem.*, Vol. 55, pp. 185-188.
 38. Speer, K., Steeg, E., Horstmann, P., Kuhn, Th., Montg, A. (1990) Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. *Journal of the High Resolution Chromatography*, Vol. 13, 104-111.
 39. Stijve, T., Hischenhuber, C. (1987) Simplified determination of benzo(a)pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons in various food materials by HPLC and TLC. *Deut. Lebensm. Rundsch.*, Vol. 83, pp. 276-282.
 40. *Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors*. (2005) Air Toxics Hot Spots Program Risk Assessment Guidelines, Part II. Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency (EPA), pp. B 77-B 97.
 41. Thorslund, T., Farrer, D. (1991) *Development of relative potency estimated for PAHs end hydrocarbon combustion product fractions compared to benzo(a)pyrene and their use in carcinogenic risk assessments*. Washington DC: US. Environmental Protection Administration.
 42. To, W.M., Lau, Y.K., Yeung, L.L. (2007) Emission of Carcinogenic Components from Commercial Kitchens in Hong Kong. *Indoor and Built Environment*, Vol. 16, pp. 29-38.
 43. Traag, R.J., Kelly, C., Baker, K., Jones, J., McIntosh, A.D., Modffat, C.F. (2002) Toxic equivalency factors for PAH and their applicability in selfish pollution monitoring studies. *J. Environ. Monit.*, Vol. 4, pp. 383-388.
 44. Van der Wielen, J.C.A., Jansen, J.T.A., Martena, M.J., De Grot, H.N., In't Veld, P.H. (2006) Determination of the level of benzo(a)pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 23, No. 7, pp. 709-714.
 45. Van Stijn, F., Kerkhoff, M.A.T., Vandeginste, B.G. (1996) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by on-line donor-acceptor complex chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, Vol. 750, pp. 263-273.

Prebiotikas – probiotisko baktēriju vairošanās un dzīvotspējas veicinātājas pienā

Prebiotics – the Influencing Factors on Growth and Survival of Probiotics in Milk

Ilze Beitāne, Inga Ciproviča
LLU Pārtikas tehnoloģijas katedra
Department of Food Technology, LLU
e-mail: ilzebeitane@inbox.lv

Abstract. The task of the present study was to investigate the influence of different concentrations of inulin and lactulose on the growth of *Bifidobacterium lactis* in milk during fermentation, and to determine the survival of *Bifidobacterium lactis* in fermented milk during self life of the product. For the experiments, pasteurized milk, freeze-dried culture Bb-12 (*Bifidobacterium lactis*, Chr.Hansen, Denmark), inulin RAFTILINE®HP (ORAFI Active Food Ingredients, Belgium), and syrup of lactulose (Duphalac®, the Netherlands) were used. Different concentrations of lactulose and inulin (1, 2, 3, 4, and 5%) were used. The initial concentration of *B.lactis* was 10⁶ cfu inoculated in milk. Milk samples with and without prebiotics were fermented at 36 °C for 16 hours. Colony forming units of *Bifidobacterium lactis* were determined according to “The Guideline of Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method”. The results showed that inulin and lactulose promote the growth of *B.lactis* in milk during fermentation. The concentrations of inulin and lactulose have significant influence on the growth of bifidobacteria in milk; also prebiotics have influence on the survival of *B.lactis* in fermented milk during self life of the product. Investigations suggest that the properties of one strain of bifidobacteria cannot be referred to the other strains of bifidobacteria. The optimal concentration of lactulose proved to be 2%, and of inulin – 4%.

Key words: *Bifidobacterium lactis*, lactulose, inulin, fermented milk.

Ievads

Viena no visplašāk pārstāvētām funkcionālo pārtikas produktu grupām ir probiotiskie un sinbiotiskie produkti. Tiem ir raksturīga spēja izmainīt un normalizēt cilvēka zarnu trakta mikrofloru. No mikrobiālo fermentācijas procesu norises resnajā zarnā ir atkarīga ne tikai gremošanas trakta normāla funkcionēšana, bet galvenokārt organisma vispārējais stāvoklis (Saarela et al., 2002; Ouwehand et al., 2005). Savukārt zarnu mikrofloras sastāva izmaiņas, pamatā antibiotiku ietekmē, izraisa nopietnus fizioloģiskas dabas traucējumus un var būt par iemeslu veselai virknei saslimšanu (Nord et al., 1997; Gopal et al., 2003). Līdz ar to jautājums par normālas zarnu trakta mikrofloras uzturēšanu ir aktuālāks nekā jebkad. Šī jautājuma risināšana paredz palielināt ar produktiem uzņemamo cilvēkam nozīmīgo mikroorganismu skaitu, kas varētu sekmēt normālu zarnu trakta darbību.

Mikroorganismiem, kas pretendē uz probiotikas statusu, ir jāatbilst noteiktiem kritērijiem – strauji jāvairojas un jāsaglabā sava dzīvotspēja produktā, tie nedrīkst izmainīt produkta pamatgaršu (Ostlie et al., 2005), un tie nevar būt kaitīgi cilvēkam organismam

(Dunne et al., 1999). Lai pierādītu probiotiku labvēlīgo ietekmi uz cilvēka organismu, jāveic klīniskie pētījumi, piesaistot brīvprātīgos pacientus. Probiotikas ir dažādi *Lactobacillus* un *Bifidobacterium* ģints pārstāvji (Orrhage, 1994). Lai probiotikas zarnu traktā varētu konkurēt ar vairāk nekā 400 dažādām mikroorganismu sugām, tām jābūt apveltītām ar īpašām spējām – pārvarēt kuņģa skābes barjeru un žultskābju barjeru tievajās zarnās un piestiprināties zarnu epitēlijā, tādējādi uzlabojot organisma aizsargspēju caur zarnu epitēliju (Dunne et al., 1999). Probiotikām jāspēj kolonizēties tievajā un resnajā zarnā, nomācot nevēlamās mikrofloras attīstību.

Lai probiotikas spētu vairoties gan produktā, gan cilvēka zarnu traktā, ir nepieciešami to augšanu stimulējošie faktori, tādi kā prebiotikas. Prebiotikas ir nesagremojami ogļhidrāti, kas labvēlīgi ietekmē zarnu trakta darbību, stimulējot tajā probiotisko baktēriju vairošanos (Gibson, Roberfroid, 1995; Lewis, Freedman, 1998).

Prebiotikas ir oligosaharīdi ar polimerizācijas pakāpi no 2 līdz 10. Prebiotikas ir gan dabīgas izcelsmes, piemēram, laktuloze (mātes pienā),

inulīns (cigoriņos) vai ogļhidrātu fermentācijas ceļā iegūtie produkti – trehaloze, maltitols u.c. Zinot, ka prebiotikas stimulē probiotiku augšanu zarnu traktā un var kalpot kā selektīvs augšanas substrāts probiotisko mikroorganismu sugām produkta raudzēšanas un uzglabāšanas laikā (Simmering, Blaut, 2001; Manning et al., 2003), patērētājiem tiek piedāvāti produkti, kas satur šos abus bioloģiski aktīvo savienojumu veidus, sauktus par sinbiotikām (Casiraghi et al., 2007).

Līdz ar to pētījuma mērķis bija analizēt *Bifidobacterium lactis* vairošanos pienā ar prebiotiku klātbūtni un bez tās un vērtēt izvēlētās prebiotikas dzīvotspēju raudzēta piena uzglabāšanas laikā.

Materiāli un metodes

Pētījumi veikti LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Mikrobioloģijas un PVD Nacionālā diagnostikas centra Pārtikas un vides izmeklējumu laboratorijās.

Pētījumiem izmantots piens ar tauku saturu 2.5%, liofilizētais ieraugs Bb-12 (*Bifidobacterium lactis*, celms Bb-12, Chr.Hansen, Dānija) un prebiotikas. Laktulozes koncentrāts (Duphalac®, Nīderlande) ar šādu 100 g produkta sastāvu: ne mazāk par 67% laktulozes, ne vairāk par 10% galaktozes un ne vairāk par 6% laktozes. Inulīns RAFTILINE®HP (ORAFI Active Food Ingredients, Beļģija) ar šādu 100 g produkta sastāvu: inulīns ne mazāk par 99.5%, glikoze, fruktoze un saharoze ne vairāk par 0.5%.

Bifidobaktēriju ieraugu pienam pievienoja suspensijas veidā, un tas veidoja 2 ml jeb 2% no produkta daudzuma. Ar ieraugu pienam tika pievienots ne mazāk kā $1 \cdot 10^6$ *B.lactis* KVV. Pētījumos pienam tika pievienots inulīns un laktulozes šķīdums koncentrācijās 1%, 2%, 3%, 4% un 5%. Ņemot vērā ievērojamo laktulozes saturu šķīdumā ($\geq 67\%$), turpmāk tekstā tās apzīmēšanai tiks lietots šāds pieraksts: 1%, 2%, 3%, 4% un 5% laktulozes. Sagatavotie piena paraugi tika inkubēti 16 h 36 °C temperatūrā. Izvēlētie raudzēšanas režīmi balstīti uz Chr. Hansen rekomendācijām un raudzētu piena produktu ar bifidobaktērijām ražošanas praksi. Lai varētu veikt iegūto rezultātu salīdzinājumu, tika sagatavots raudzēts piena paraugs bez prebiotikām jeb kontrole. Raudzēta produkta gatavošana veikta atbilstoši klasiskajai skābpiena dzērienu tehnoloģijai.

Bifidobaktēriju noteikšana veikta saskaņā ar bifidobaktēriju noteikšanas vadlīnijām „*Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method*” (*Bulletin of the International Dairy Federation 411/2007*).

Koloniju veidojošo vienību skaits paraugos noteikts tūlīt pēc ierauga pievienošanas un tālāk ik pēc 2, 4, 6 un 16 h, kā arī gatavam produktam 1. un

7. dienā. Pēc raudzēšanas piena paraugus samaisīja un atdzesēja līdz +10 °C, pēc tam – līdz +4 °C. Šajā režīmā tos arī nogatavināja un uzglabāja. Produkta uzglabāšanas ilgums – 7 dienas. Tas izvēlēts, ņemot vērā vidējo skābpiena dzērienu bez piedevām uzglabāšanas ilgumu. Paraugu analīzes veiktas trīs atkārtojumos. Iegūtajiem rezultātiem noteikti statistiskie rādītāji: vidējais ģeometriskais (\bar{x}_g) un standartkļūda (s_y), izmantojot dispersijas analīzi (ANOVA), Fišera jeb F-testu un t-testu.

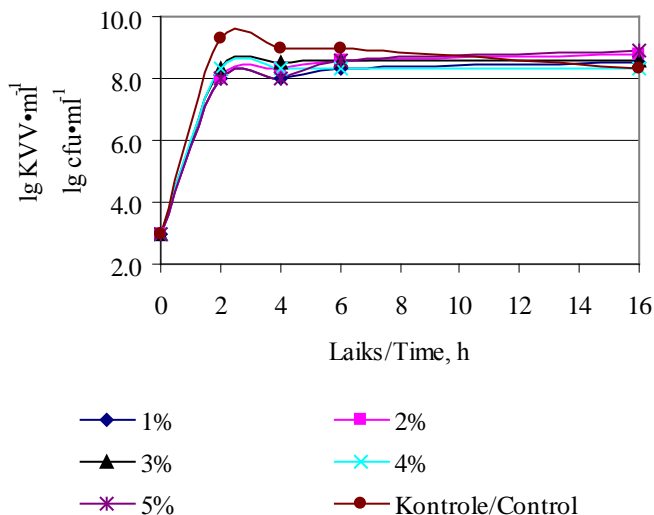
Rezultāti un diskusija

Literatūrā ir atrodams atziņas, ka bifidobaktērijas vāji vairojas un dažkārt pat pilnīgi neairojas pienā (Modler, 1994), tāpēc to augšanai tiek izmantotas prebiotikas, kas var veicināt to vairošanos un dzīvotspēju (Martinez-Villaluenga et al., 2006).

B.lactis vairošanās dinamika paraugos atkarībā no laktulozes un inulīna koncentrācijas atspoguļota 1. un 2. attēlā. Kā redzams no iegūtiem datiem, pirmajās divās stundās paraugos ir vērojams straujš *B.lactis* skaita pieaugums, īpaši kontrolei. Līdzīgas atziņas pauž Rastall un Maitin (2002), norādot, ka *B.lactis* piemīt augstas izdzīvošanas spējas pienā. Arī Martinez-Villaluenga u.c. (2006) norāda uz *B.lactis* ātro vairošanos piena sākotnējā raudzēšanas laikā, salīdzinot ar citām bifidobaktēriju sugām. Tas liecina par noteiktu *B.lactis* skābekļa un skābes toleranci. Tomēr tālākā raudzēšanas laikā kontrolei ir vērojams pakāpenisks *B.lactis* skaita samazinājums.

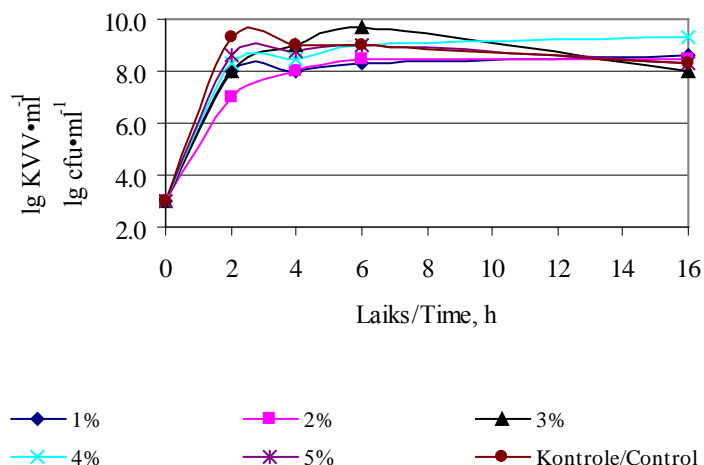
Savukārt raudzētajiem piena paraugiem ar laktulozi (1. attēls), sākot ar otro raudzēšanas stundu, tika konstatēts pakāpenisks *B.lactis* skaita pieaugums. Augstāko *B.lactis* skaitu raudzēšanas beigās noteica paraugiem ar 2% ($6 \cdot 10^8$ KVV ml⁻¹) un 5% laktulozes ($8 \cdot 10^8$ KVV ml⁻¹). Iegūtie rezultāti saskan ar Palframan u.c. (2002) pētījuma atziņām, ka labākais bifidogēnais efekts laktulozei tiek panākts, pievienojot to 2% lielā koncentrācijā. Martinez-Villaluenga u.c. (2006) secina, ka *B.lactis* vairošanās vienlīdz labi tiek veicināta, pievienojot 0.5%, 1% un 2% laktulozes. Turpretī Dubey un Mistry (1996) atzīmē, ka laktulozei ir minimāla ietekme uz bifidobaktēriju vairošanos.

Raudzētajiem piena paraugiem ar 3% un 5% inulīna un kontrolei (2. attēls) pēc pirmajām divām raudzēšanas stundām tika konstatēta lejupejoša tendence. Savukārt piena paraugiem ar 1%, 2% un 4% inulīna bija vērojams pakāpenisks *B.lactis* skaita pieaugums. Raudzēšanas beigās augstākais *B.lactis* skaits tika noteikts piena paraugam ar 4% inulīna ($2 \cdot 10^9$ KVV ml⁻¹). Šeit var vilkt paralēles ar Shin u.c. (2000) pētījumu, kur ir norādes, ka fruktooligosaharīdi ir visefektīvākās prebiotikas starp pētītajiem ogļhidrātu avotiem. Fruktooligosaharīdu efektivitāte



1. att. *B.lactis* vairošanās dinamika piena raudzēšanas laikā atkarībā no pievienotās laktulozes koncentrācijas.

Fig. 1. The dynamic of growth of *B.lactis* in milk depending on the concentration of lactulose.



2. att. *B.lactis* vairošanās dinamika piena raudzēšanas laikā atkarībā no pievienotās inulīna koncentrācijas.

Fig. 2. The dynamic of growth of *B.lactis* in milk depending on the concentration of inulin.

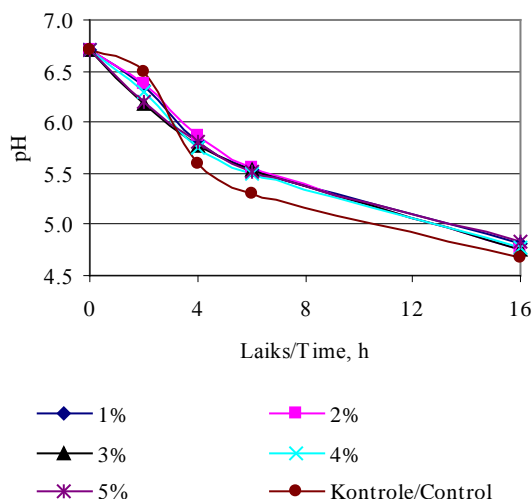
palielinās, palielinoties to koncentrācijai (maksimāli līdz 5%). Savukār Palframan u.c. (2002) norāda, ka fruktooligosaharīdiem augstākais bifidogēnais efekts tiek panākts 1% lielā koncentrācijā. Šīs atšķirīgās atziņas varētu skaidrot ar pētījumos izmantotajām, atšķirīgajām fruktooligosaharīdu polimerizācijas pakāpēm un bifidobaktēriju sugām. Līdz ar to ir jāsecina, ka vienas sugas īpatnības nevar attiecināt uz visu ģinti. To apstiprina arī Bielecka u.c. (2002) pētījuma atziņa, ka tikai 18 no 30 pētītajām bifidobaktēriju sugām (galvenokārt *B.longum* un *B.animalis*) spēj izmantot fruktooligosaharīdus.

Pamatojoties uz lielākajai daļai bifidobaktēriju sugu konstatēto pozitīvo korelāciju starp vairošanās

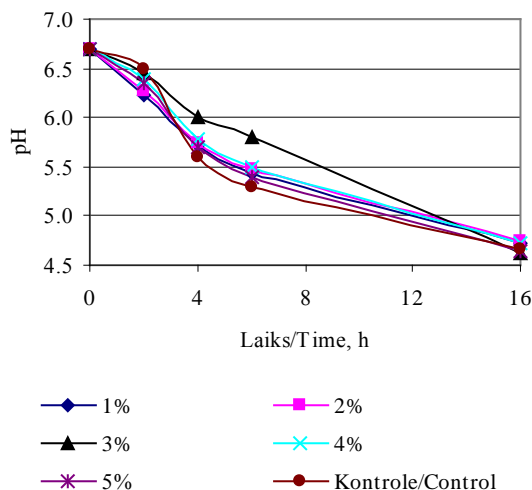
ātrumu un vides pH (Martinez-Villalueva et al., 2006), 3. un 4. attēlā ir atspoguļota pH izmaiņu dinamika kontrolei un piena paraugiem ar laktulozi un ar inulīnu raudzēšanas laikā.

Izvērtējot pH izmaiņas piena paraugos ar laktulozi un ar inulīnu raudzēšanas laikā, tika konstatētas sakarības starp *B.lactis* vairošanās ātrumu un skābuma pieauguma intensitāti.

Raudzēšanas laikā ir vērojams pakāpenisks pH samazinājums. pH izmaiņas ir skaidrojamas ar pienskābes un citu organisku skābju veidošanos pienā esošo ogļhidrātu fermentācijas rezultātā. Bifidobaktēriju augšanai optimālākais pH ir robežās no 6 līdz 8. Inokubējot *B.lactis* pienā, kura pH ir 6.7,



3. att. pH izmaiņas piena paraugos ar laktulozi raudzēšanas laikā.
 Fig. 3. The changes in pH during fermentation of milk samples with lactulose.



4. att. pH izmaiņas piena paraugos ar inulīnu raudzēšanas laikā.
 Fig. 4. The changes in pH during fermentation of milk samples with inulin.

tiek nodrošināti optimāli to augšanas apstākļi. Tas arī skaidro kraso *B.lactis* skaita pieaugumu pirmajās divās paraugu raudzēšanas stundās. Turpmākajā raudzēšanas laikā kontrolei pH ir noslīdējis zem 6.0. Savukārt piena paraugiem ar laktulozi un ar inulīnu skābuma pieaugums ir lēnāks.

Ar vides skābuma izmaiņām varam arī izskaidrot *B.lactis* skaita samazinājumu analizētajos piena paraugos turpmākajā raudzēšanas laikā. Raudzētajam piena paraugam ar 3% inulīna izteiktāks *B.lactis* pieaugums konstatēts līdz pat 6. raudzēšanas stundai, kad pH ir tuvu optimālajai bifidobaktēriju vairošanai (4. attēls). Iegūtie rezultāti parādīja, ka laktulozes un inulīna klātbūtne nodrošina pakāpeniskāku pH samazinājumu paraugos; līdz ar

to visā piena raudzēšanas laikā ir vērojams neliels, bet sistemātisks *B.lactis* pieaugums (1. un 2. attēls). Šo eksperimentu atziņu mēs varam skaidrot šādi: *B.lactis* sākotnēji ir izdalīta no dzīvnieku fecēm un adaptēta pienā (Klein et al., 1998), un tai piemīt relatīva skābekļa un skābes tolerance, kas daļai bifidobaktēriju sugu nav novērojama. Tas arī skaidro *B.lactis* izteiktās vairošanās spējas pienā, salīdzinot ar citām bifidobaktēriju sugām, un pierāda šīs sugas piemērotību daudzveidīgu skābpiena dzērienu ražošanā, t.sk. ieraugu bagātināšanā.

Lai noteiktu, ka pastāv būtiskas atšķirības starp *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos ar prebiotikām, starp to koncentrācijām un kontroli, iegūtos rezultātus logaritmēja un paraugos

savstarpēji salīdzināja, nosakot p vērtības. Iegūtie rezultāti ir apkopoti 1. tabulā. Tie liecina, ka pievienotā prebiotiku koncentrācija būtiski ietekmē *B.lactis* skaitu paraugos. Līdz ar to var secināt, ka, pievienojot laktulozi un inulīnu, ir iespējams veicināt *B.lactis* vairošanos paraugos. Optimālākās laktulozes koncentrācijas ir 2% un 5%, inulīnam – 4%. Paraugs ar 4% inulīna būtiski atšķirās no visiem analizētajiem paraugiem, tādējādi parādot, ka arī prebiotikas veids var ietekmēt *B.lactis* skaitu raudzētājā pienā. Tas tikai apstiprina pētījumos izteiktās atziņas, ka bifidobaktēriju augšanai īpaši piemēroti ir fruktooligosaharīdi (Simmering, Blaut, 2001).

Jāatzīmē, ka visiem analizētajiem paraugiem *B.lactis* skaits raudzēšanas beigās bija no 10^8 KVV ml⁻¹ līdz 10^9 KVV ml⁻¹, kas ir būtiski

augstāks par noteikto terapeitisko devu cilvēkam – vismaz 10^6 KVV g⁻¹ (Kurman, Rasic, 1991).

Līdzās bifidobaktēriju augšanas veicināšanai pienā ne mazāk svarīgs faktors ir bifidobaktēriju dzīvotspējas nodrošināšana produktā tā uzglabāšanas laikā. Ōzer u.c. (2005) norāda, ka viena no iespējām, kā sekmēt *B.bifidum* (BB-02) un *L.acidophilus* (LA-5) dzīvotspēju jogurta uzglabāšanas laikā, ir prebiotiku pievienošana produkta gatavošanas laikā. Līdz ar to raudzētajiem piena paraugiem ar prebiotikām tika noteikts *B.lactis* skaits 1. un 7. dienā. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 5. un 6. attēlā. Redzams, ka pēc raudzēšanas paraugos ir vērojams krass *B.lactis* skaita samazinājums (uz x ass 0 punktā atzīmēts *B.lactis* skaits raudzēšanas beigās), ko varam skaidrot gan ar skābekļa klātbūtni, produktu samaisot, gan ar temperatūras izmaiņām, produktu atdzesējot, gan

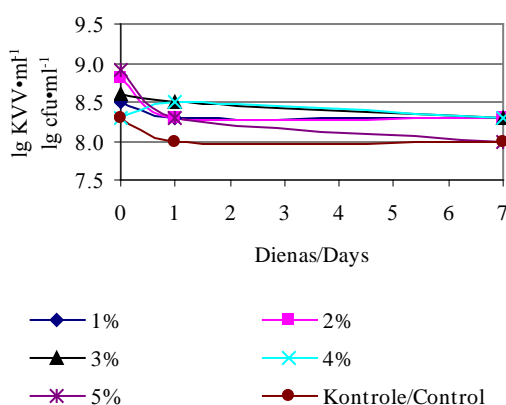
1. tabula / Table 1

Laktulozes un inulīna koncentrāciju ietekme uz *B.lactis* skaitu raudzētos piena paraugos, lg KVV ml⁻¹
The influence of the concentrations of lactulose and inulin on the amount of *B.lactis* in fermented milk samples, lg cfu ml⁻¹

Koncentrācijas, % / Concentrations, %	Laktuloze / Lactulose	Inulīns / Inulin
1	8.5 b	8.6 b
2	8.8 b	8.5 b
3	8.6 b	8.0 b
4	8.3 a	9.3 b
5	8.9 b	8.3 a
Kontrolē / Control	8.3 a	8.3 a

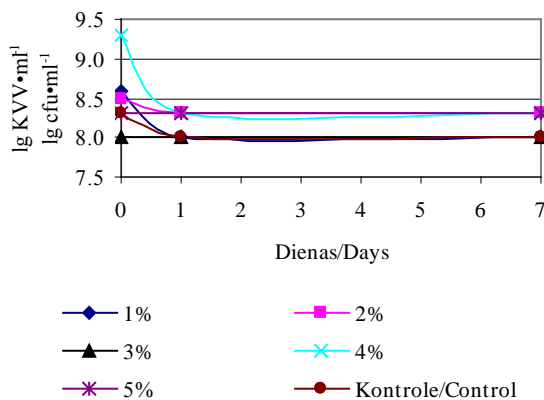
Piezīme: a, b – norāda atšķirības starp laktulozes vai inulīna koncentrācijām: a – nav būtisku atšķirību ($p>0.05$), salīdzinot ar kontroli; b – pastāv būtiskas atšķirības ($p<0.05$), salīdzinot ar kontroli.

Note: a, b – indicate differences between concentrations of lactulose and inulin: a – no disparity ($p>0.05$) compared to control; b – a disparity ($p<0.05$) compared to control.



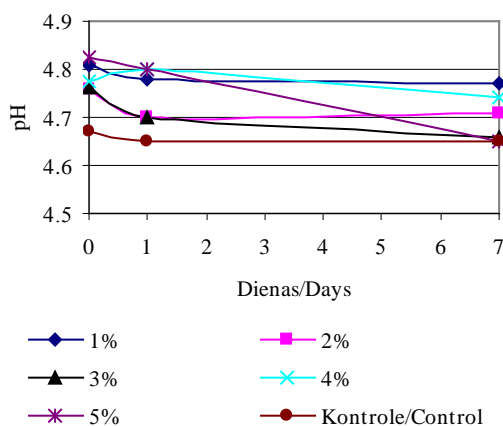
5. att. *B.lactis* skaita izmaiņas raudzētajos piena paraugos to nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā atkarībā no pievienotās laktulozes koncentrācijas.

Fig. 5. The changes in the number of *B.lactis* in fermented milk samples depending on the concentration of lactulose during the maturation time and self life of product.



6. att. *B.lactis* skaita izmaiņas raudzētajos piena paraugos, to nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā atkarībā no pievienotās inulīna koncentrācijas.

Fig. 6. The changes in the number of *B.lactis* in fermented milk samples depending on the concentration of inulin during the maturation time and self life of product.



7. att. pH izmaiņas raudzētajos piena paraugos ar laktulozi nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā.

Fig. 7. The changes in pH during the maturation time and self life of fermented milk samples with lactulose.

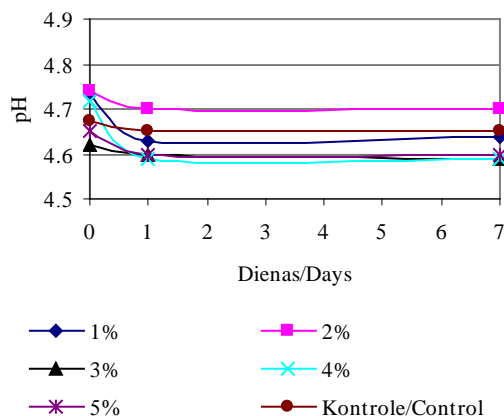
ar tālāku skābuma pieaugumu bioķīmisko norišu rezultātā, produktu nogatavinot.

Skābpiena dzērienu/produktu gatavošanā raudzēšanas process ir viens no tehnoloģiskajiem etapiem un nebūt ne noslēdzošais. Pēc raudzēšanas produkts tiek atdzesēts, iepakots un nogatavināts. Nogatavināšana ir produkta ražošanas nozīmīga operācija, kurā pilnveidojas produkta sensorās īpašības: garša, smarža un konsistence un tiek sasniegti noteikti kvalitātes rādītāji, piemēram, skābums.

Ar bioķīmisko procesu norisi produkta nogatavināšanas laikā mēs varam skaidrot gan *B.lactis* skaita samazinājumu (5. un 6. attēls), gan skābuma izmaiņas (7. un 8. attēls). Uzglabāšanas laikā, sākot no 1. dienas, nemainīgs *B.lactis* skaits tika konstatēts kontrolei un raudzētiem piena paraugiem ar 1% un 2% laktulozes. Savukārt inulīna klātbūtne raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas laikā, sākot ar 1. dienu (6. attēls), nodrošināja nemainīgu *B.lactis* skaitu, kas

ir ļoti pozitīvi, veidojot sinbiotisku raudzēto piena produktu. Savukārt raudzētajiem piena paraugiem ar 3% laktulozes un vairāk bija vērojams *B.lactis* skaita samazinājums no 0.5 līdz 1 lg vērtībai. Tas saskan ar literatūrā minētajām atziņām, ka optimālākais bifidogēnais efekts laktulozei tiek panākts nelielās koncentrācijās, kas arī nodrošina nemainīgu *B.lactis* skaitu paraugos uzglabāšanas laikā. Turpretī Alkalīn u.c. (2004) ir secinājis, ka uzglabāšanas laikā dzīvotspējīgo bifidobaktēriju skaits ir augstāks, ja tās ir augušanas fruktooligosaharīdu klātbūtnē. Ar šīs atziņas palīdzību var skaidrot pētījumā iegūtos rezultātus, proti, augstāks un nemainīgāks *B.lactis* skaits (8.3 lg KVV ml⁻¹) ir piena paraugiem ar 2%, 4% un 5% inulīna.

Tā kā literatūrā un arī praksē ir zināms, ka skābpiena dzēriena uzglabāšanas laikā pH turpina samazināties, sasniedzot pat pH 4.4 (Alkalīn et al., 2004), tad raudzētajiem piena paraugiem ar



8. att. pH izmaiņas raudzētajos piena paraugos ar inulīnu nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā.
 Fig. 8. The changes in pH during the maturation time and self life of fermented milk samples with inulin.

2. tabula / Table 2

Laktulozes un inulīna koncentrāciju ietekme uz *B.lactis* skaitu analizētajos paraugos uzglabāšanas beigās, lg KVV ml⁻¹
The influence of the concentrations of lactulose and inulin on the number of *B.lactis* in fermented milk samples at the end of self life, lg cfu ml⁻¹

Koncentrācijas, % / Concentrations, %	Laktuloze / Lactulose	Inulīns / Inulin
1	8.3 b	8.0 a
2	8.3 b	8.3 b
3	8.3 b	8.0 a
4	8.3 b	8.3 b
5	8.0 a	8.3 b
Kontrole / Control	8.0 a	8.0 a

Piezīme: a, b – norāda atšķirības starp laktulozes vai inulīna koncentrācijām: a – nav būtisku atšķirību ($p > 0.05$), salīdzinot ar kontroli; b – pastāv būtiskas atšķirības ($p < 0.05$), salīdzinot ar kontroli.
 Note: a, b – indicate differences between concentrations of lactulose and inulin: a – no disparity ($p > 0.05$) compared to control; b – a disparity ($p < 0.05$) compared to control.

laktulozi un ar inulīnu tika noteiktas pH izmaiņas nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 7. un 8. attēlā.

Uzglabāšanas laikā raudzētajiem piena paraugiem pH nenoslīdēja zemāk par 4.6. Šo atšķirību var skaidrot ar pētījumā izmantoto monokultūru – Bb-12; savukārt literatūrā aprakstītā produkta ieraugā bez bifidobaktērijām ietilpa arī *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* un *Lactobacillus debrueckii subsp.bulgaricus*. Kontrolei un raudzētajiem piena paraugiem ar 1% un 2% laktulozes pH izmaiņas bija nenozīmīgas, kas arī izskaidro nemainīgo *B.lactis* skaitu šajos paraugos uzglabāšanas laikā. Raudzētajiem piena paraugiem ar inulīnu ir vērojams ļoti niecīgs pH samazinājums, izņemot raudzēto piena paraugu ar 4% inulīna. Iegūtie rezultāti norāda uz pozitīvu korelāciju starp *B.lactis* skaitu un produkta vides skābumu.

Lai izvērtētu laktulozes un inulīna ietekmi uz *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas beigās, iegūtos rezultātus logaritmēja un paraugus savstarpēji salīdzināja. Iegūtie rezultāti (skat. 2. tabulu) rāda, ka prebiotikas veids būtiski neietekmē *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas termiņa beigās. Izvēloties katrai prebiotikai optimālāko pievienojamo koncentrāciju, iespējams panākt līdzīgu rezultātu. Augstākais *B.lactis* skaits uzglabāšanas laika beigās tika iegūts raudzētajam piena paraugam ar 4% laktulozes, savukārt paraugiem ar inulīnu – 2%, 4% un 5% koncentrācijās. Kā pozitīvu aspektu jāatzīmē, ka uzglabāšanas termiņa beigās visos raudzētajos piena paraugos *B.lactis* skaits bija 10^8 KVV ml⁻¹ vai lielāks, kas pārsniedz noteikto terapeitisko minimumu bifidobaktērijām – 10^6 KVV g⁻¹.

Secinājumi

1. Pievienojot pienam laktulozi un inulīnu, ir iespējams veicināt gan *B.lactis* vairošanos, gan arī nodrošināt *B.lactis* dzīvotspēju raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas laikā.
2. *B.lactis* skaits paraugos pēc raudzēšanas, pēc nogatavināšanas un uzglabāšanas termiņa beigās bija būtiski augstāks par noteikto terapeitisko minimumu bifidobaktērijām – 10^6 KVV g^{-1} .
3. Lai nodrošinātu *B.lactis* vairošanos un dzīvotspēju raudzētā pienā, kā optimālākā laktulozes koncentrācija ir uzskatāmi 2%, bet inulīna – 4%.
4. Paraugi ar 4% inulīna būtiski atšķīrās no visiem analizētajiem paraugiem, tādējādi parādot, ka arī prebiotikas veids var ietekmēt *B.lactis* skaitu raudzētā pienā.
5. Prebiotikas veids būtiski neietekmē *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas termiņa beigās.

Literatūra

1. Alkalin, A.S., Fenderya, S., Akbulut, N. (2004) Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, pp. 613-621.
2. Bielecka, M., Biedrzycka, E., Majkowska, A. (2002) Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Research International*, 35, pp. 125-131.
3. Casiraghi, M.C., Canzi, E., Zanchi, R., Donati, E., Villa, L. (2007) Effects of a synbiotic milk product on human intestinal ecosystem. In: *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 103, pp. 499-506.
4. Dubey, U.K., Mistry, V.V. (1996) Effect of Bifidogenic Factors on Growth Characteristics of Bifidobacteria in Infant Formulas. *Journal Dairy Science*, 79, pp. 1156-1163.
5. Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., Quigley, E.M., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F., Collins, J.K. (1999) Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. In: *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol. 76, pp. 279-292.
6. Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. In: *J. Nutr.*, Vol. 125, pp. 1401-1412.
7. Gopal, P.K., Prasad, J., Gill, H.S. (2003) Effects of the consumption of *Bifidobacterium lactis*

- HN019 (DR 10™) and galacto-oligosaccharides on the microflora of the gastrointestinal tracts in human subjects. In: *Nutrition Research*, Vol. 23, pp. 1313-1328.
8. Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G. (1998) Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 41, pp. 103-125.
9. Kurman, J.A., Rasic, J.L. (1991) The health potential of products containing bifidobacteria. In: *Therapeutic Properties of Fermented Milks*. Robinson, R.K. (ed.) London: Elsevier Applied Food Sciences, pp. 117-158.
10. Lewis, S.J., Freedman, A.R. (1998) Review article: the use of biotherapeutic agents in the prevention and treatment of gastrointestinal disease. In: *Aliment. Pharmacol. Ther.*, Vol. 12, pp. 807-822.
11. Manning, Th.Sc., Rastall, R., Gibson, G. (2003) Prebiotics and Lactic Acid Bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects*. Ed. by Salminen, S., Wright, A., Ouwehand, A. New York: Marcel Dekker, Inc., pp.407-418.
12. Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R., Vidal-Valverde, C. (2006) Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 16, pp. 768-774.
13. Modler, H.W. (1994) Bifidogenic factors – Sources, Metabolism and Applications. *International Dairy Journal*, 4, pp. 383-407.
14. Nord, C.E., Lidbeck, A., Orrhage, K., Sjostedt, S. (1997) Oral supplementation with lactic acid bacteria during intake of clindamycin. In: *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 3, pp. 124-132.
15. Orrhage, K. (1994) Effects of supplements of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal microbiota during administration of clindamycin. In: *Microb. Ecol. Health Dis.*, Vol. 7, pp. 17-25.
16. Ostlie, H.M., Treimo, J., Narvhus, J.A. (2005) Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. In: *International Dairy Journal*, Vol. 15, pp. 989-997.
17. Ouwehand, A.C., Derrien, M., de Vos, W., Tiihonen, K., Rautonen, N. (2005) Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. In: *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 16, pp. 212-217.
18. Özer, D., Akin, S., Özer, B. (2005) Effect of Inulin and Lactulose on Survival of *Lactobacillus Acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium Bifidum*

- BB-02 in Acidophilus-Bifidus Yoghurt. *Food Sci. Tech. Int.*, 11, pp. 019-6.
19. Palframan, R.J., Gibson, G.R., Rastall, R.A. (2002) Effect of pH and dose on the growth of gut bacteria on prebiotic carbohydrates *in vitro*. *Anaerobe*, 8, pp. 287-292.
20. Rastall, R.A., Maitin, V. (2002) Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, pp. 490-496.
21. Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., Mattila-Sandholm, T. (2002) Gut bacteris and health foods – the European perspective. In: *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 78, pp. 99-117.
22. Shin, H.S., Lee, J.H., Pestka, J.J., Ustunol, Z. (2000) Growth and viability of commercial *Bifidobacterium spp.* in skim milk containing oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Science*, 65, pp. 884-887.
23. Simmering, R., Blaut, M. (2001) Pro- and prebiotics – the tasty guardian angels? *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55, pp. 19-28.

Lopbarības raksturojums piena izmaksu aspektā Characteristics of Forage from the Aspect of Milk Costs

Jānis Latvietis, Valdis Auziņš, Silvija Strikauska, Indra Eihvalde

LLU Lauksaimniecības fakultāte

Faculty of Agriculture, LLU

e-mail: lfdek@llu.lv

Abstract. The analysis of statistical data proves that the situation in dairy farming in Latvia is starting to stabilize: the tendency for the number of cows to decrease has ceased, which is compensated by the increase in cow productivity. The last five-year data show that milk production stays within 800 000 tons. The milk sales price has reached the average level of the prices in the EU countries, and no significant increase is expected. The problems occur due to milk production costs – they are high and endanger Latvia's competitiveness in the market of the EU and other countries. One of the determinant reasons for the high milk production costs is overconsumption of feed (approx. 13%) and high costs of forage (on average, LVL 300 per cow per year). Overconsumption is caused mainly by the protein deficit which exceeds 10% of the desirable, whereas expensive forage (fodder, additives) explains the high costs of feed. For covering the protein deficit and decreasing the forage costs, most profitable proved to be grass forage which is comparatively most inexpensive and can be utilized both in summer and winter. The research suggests that increase in the amount of grass forage in cow feeding from 63% to 68% would increase the protein content in feed dry matter from 14.6% to 15.7% and would decrease the costs of forage for dairy production by 3 per cent.

Key words: forage, milk, costs.

Ievads

Piena lopkopība Latvijā līdzīgi citām lauksaimniecības nozarēm sociāli ekonomisko pārkārtojumu un agrārās reformas rezultātā pēc 1990. gada jūtami samazināja ražošanas apjomus. Desmit gadu laikā (no 1990. līdz 2000. gadam) slaucamo govju skaits samazinājās no 535 tūkst. līdz 204 tūkst., bet piena kopieguve – no 1893 tūkst. tonnu līdz 825 tūkst. tonnu, t.i., attiecīgi par 62 un 56 procentiem. Taču, kā liecina statistikas datu analīze (Latvijas lauksaimniecība ..., 2006; Lauku saimniecības ..., 2007), pēdējos piecos gados stāvoklis ir sācis normalizēties. Govju skaita samazināšanās notiek lēnāk un pārsvarā tikai uz nelielu saimniecību rēķina. Tas savukārt tiek kompensēts ar govju produktivitātes paaugstināšanos. Tādēļ piena kopieguve valstī saglabājas 800 tūkst. tonnu robežās (1. tabula).

Piena realizācijas cena sasniegusi 17 sant. kg⁻¹ un, ja nenotiks būtiskas izmaiņas ES un pasaules piena tirgū, nav gaidāma tās palielināšanās, jo jau tagad tā pārsniedz Eiropas Savienības valstu vidējo līmeni (Miglavs, 2007).

Problēmas rada piena ražošanas izmaksas, kas apdraud Latvijā ražotā piena konkurētspēju Eiropas Savienības un citu valstu tirgū.

Mērķis un uzdevumi

Pētījuma mērķis bija uzzināt lopbarības struktūras ietekmi uz piena izmaksām un dot ieteikumus šo izmaksu samazināšanai un govju ēdināšanas uzlabošanai. Šim nolūkam tika izvirzīti uzdevumi:

- izmantojot statistikas datus, novērtēt piena lopkopības stāvokli Latvijā;
- raksturot govīm izēdinātās lopbarības struktūru, proteīna un enerģijas nodrošinājumu un barības izmaksas;
- uz lopbarības analīžu un izmaksu pamata izvērtēt dažādu barības līdzekļu piemērotību proteīna un enerģijas apgādes uzlabošanai un barības izmaksu samazināšanai piena ražošanā.

Materiāls un metodes

Pētījuma materiāls bija statistikas dati par piena lopkopības stāvokli Latvijā un atsevišķās saimniecībās, par lopbarības struktūru govju ēdināšanā un piena ražošanas izmaksām, kā arī agroķīmisko analīžu rezultāti par barības līdzekļu barotājpvērtību (Latvijas lauksaimniecība ..., 2006; Lauku saimniecības ..., 2007).

Datu apkopošanai, izvērtēšanai un interpretēšanai lietotas analīzes un sintēzes mijiedarbības metodes, kā arī Latvijas un citu valstu zinātnieku publikācijas

1. tabula / Table 1

**Piena ražošanas dinamika Latvijā
Dynamics of milk production in Latvia**

Rādītāji / Indicators	2002	2003	2004	2005	2006
Slaucamo govju skaits, tūkst. / Number of dairy cows, thous.	204	186	186	185	182
Vidējais izslaukums, kg / Average milk yield, kg	3958	4261	4251	4364	4492
Piena kopieguve, tūkst.t. / Milk gross yield, thous.t.	813	786	786	810	815

2. tabula / Table 2

**Slaucamo govju ēdināšanai izlietotā barība 2005. gadā (dzīvmasa – 550 kg, izslaukums – 5000 kg)
Feed used for dairy cows in the year 2005 (animal weight – 550 kg, milk yield – 5000 kg)**

Lopbarības veids / Type of feed	Barības daudzums / Amount of feed, kg	Barības sausna / Dry matter, kg	Kop-proteīns / Crude protein, kg	Neto enerģija laktācijai / Net energy for lactation, MJ	Barības vērtība / Feed value, LVL
Zaļbarība, ganību zāle / Green forage, pasture grass	7600	1520	243.2	9120	45.60
Skābbarība, skābsiens / Silage, haylage	3900	1248	180.1	7144	42.90
Siens / Hay	1400	1204	154.0	6720	42.00
Lopbarības graudi / Feed grains	1280	1126	135.1	9634	96.00
Rauši, spraukumi / Cake, oil meal	260	234	93.6	1685	39.00
Salmi / Straw	135	116	4.5	405	0.68
Pārējā barība / Other feed	978	229	15.7	1321	40.60
Kopā / Total	15.553	5677	826.2	36 049	306.78

par lopbarības barotājevērtības noteikšanu un prasībām govju apgādē ar proteīnu un enerģiju.

Govīm izēdinātās barības daudzums un izmaksas rēķinātas pēc Latvijas Lauksaimniecības konsultāciju un izglītības centra (LLKC) informatīvo materiālu apkopojuma (Bruto seguma ..., 2006) un m.p.s. „Vecauce” ražošanas un finansiālās darbības 2005. un 2006. gada rezultātiem. Barības ķīmiskais sastāvs un enerģētiskā vērtība uzrādīta pēc LLU Agronomisko analīžu zinātniskās laboratorijas analīžu datiem, atsevišķos gadījumos tos papildinot ar oficiālos izdevumos (Jeroch et al., 1993; Lopbarības katalogs, 1996) esošo informāciju. Barības proteīna un enerģijas vajadzība govīm izskaitļota pēc A. Budnika u.c. „Dattensammlung für die Betriebsplanung in der Landwirtschaft” (Budnik et al., 1991) un U.

Osīša „Barības līdzekļu novērtēšana atgremotāju ēdināšanā” (Osītis, 1998).

Rezultāti

Lai varētu ieteikt iespējamus ceļus piena ražošanas izmaksu samazināšanai, mēs analizējām pašreizējo situāciju govju ēdināšanā, kas ir galvenais postenis piena pašizmaksā un veido apmēram 45% no kopējiem izdevumiem. Izmantojot mūsu rīcībā esošos informatīvos materiālus par govīm 2005. gadā izēdinātās barības daudzumu, struktūru un izmaksām (skat. 2. tabulu), modulējām uzlabotu variantu ar paaugstinātu zāles lopbarības īpatsvaru (4. tabula). Šim nolūkam tika ņemta vērā un salīdzināta dažādu barības līdzekļu barotājevērtība un izmaksas.

No gadā izlietotās barības enerģētiskās vērtības 31.8% aizņem spēkbarība, bet 63.3% – zāles barība. Barības sausrā ir 14.6% kopproteīna, un tā satur 6.35 MJ kg⁻¹ neto enerģijas laktācijai (NEL). Rēķinot uz 1 kg piena, izēdināti 308 g spēkbarības, 165 g kopproteīna, 7.1 MJ NEL un izlietota barība 6.1 sant. vērtībā.

Vadoties pēc zootehniskajiem normatīviem, govī atkarībā no tās produktivitātes vajadzētu nodrošināt ar barību, kuras vienā kilogramā sausras būtu 15–18% kopproteīna un 6.3–6.6 MJ NEL. Secināms, ka 2005. gadā govij izmantotajā barībā trūkuši 10% no nepieciešamā proteīna un uz pietiekamības robežas bijusi enerģijas koncentrācija barības sausrā. Tas arī bija cēlonis barības pārtēriņam par 4700 MJ NEL jeb

13% un lopbarības augstajām izmaksām (Ls 306 govij gadā). Barības pārtēriņa izmaksas sasniedz gandrīz Ls 40, rēķinot uz govī gadā, jeb 7 miljonus latu visam slaucamo govju ganāmpulkam Latvijā.

Izvirzījām hipotēzi, ka stāvokli varētu uzlabot, izmainot izēdināmās lopbarības struktūru, samazinot tajā dārgo barības līdzekļu īpatsvaru un palielinot lētākas, bet ar proteīnu bagātas, barības īpatsvaru. Lai izvērtētu dažādas barības piemērotību, šim nolūkam izveidojām 3. tabulu ar barības līdzekļu attiecīgu raksturojumu. Redzams, ka proteīna saturs barības sausrā visaugstākais ir raušos un spraukumos, bet enerģijas koncentrācija visaugstākā ir lopbarības graudos. Diemžēl šie spēkbarības līdzekļi ir visdārgākie. Tā, 1 kg kopproteīna izmaksas

3. tabula / Table 3

**Barības līdzekļu raksturojums
Description of feedstuffs**

Barības līdzeklis / Feedstuff	Barības sausrā / Content of the dry matter of feed, g kg ⁻¹	Barības sausrā / In the dry matter of feed		Barības izmaksas / Feed costs, sant. kg ⁻¹	Barības vielu izmaksas / Costs of nutrients	
		kopproteīns / crude protein, g kg ⁻¹	NEL, MJ kg ⁻¹		kopproteīns / crude protein, sant. kg ⁻¹	1 MJ NEL, sant.
Miežu graudi / Barley corn	880	120	8.69	7.0	66.0	0.93
Kviešu graudi / Wheat corn	880	138	9.13	7.0	57.9	0.88
Rapšu rauši / Rapeseed cakes	910	367	7.62	11.0	32.9	1.59
Sojas spraukumi / Soya oil meal	900	532	8.03	19.0	21.1	2.63
Lucernas zaļmasa / Lucerne green feed	200	180	5.12	0.6	16.7	0.59
Galegas zaļmasa / Galega green feed	220	210	5.75	0.6	13.0	0.47
Daudzgadīgo zālāju skābbarība / Perennial grassland silage	320	167	5.66	1.1	20.8	0.61
Kukurūzas skābbarība / Maise silage	320	97	6.27	1.1	35.5	0.55
Āboliņa siens / Clover hay	860	152	5.63	3.0	22.9	0.62
Stiebrzāļu siens / Cereal grase hay	860	113	5.61	3.0	30.9	0.62
Ganību zāle / Pasture grass	180	208	6.30	0.6	16.2	0.53
Vasarāju salmi / Straw	860	39	3.58	0.5	14.7	0.16

lopbarības graudos ir 3–4 reizes (57–66 sant.), bet raušos un spraukumos – 2 reizes (21–33 sant.) dārgākas nekā zaļbarībā, zāles skābbarībā un ganību zālē (13–21 sant.). Savukārt enerģijas izmaksas raušos un spraukumos 3–4 reizes (1.6–2.6 sant. MJ NEL), bet lopbarības graudos 2 reizes (0.9 sant. MJ NEL) pārsniedz enerģijas izmaksas zāles lopbarībā – 0.5–0.6 sant. 1 MJ neto enerģijas laktācijai. Salmi, kas ir vislētākais lopbarības veids, ierobežotās apēdamības unniecīgās barotārvērtības dēļ vairāk ir piemēroti tikai barības saunas un kokšķiedras papildināšanai barības devās.

No zootehniskajiem un fizioloģiskajiem apsvērumiem govju barības devas nevar komplektēt tikai ar lētajiem barības līdzekļiem, kas dažkārt barības vielu satura ziņā ir mazvērtīgi (salmi, zemas kvalitātes siens, bojāta skābbarība, šķiedenis u.c.). Jāņem vērā, ka, palielinoties govju produktivitātei, to barības devās jāpalielina spēkbarības kā viegli sagremojamas ar augstu enerģijas koncentrāciju barības daudzums. Jautājums vienīgi, kāds īpatsvars pieļaujams vai nepieciešams spēkbarībai un kāds – tilpumainai barībai (zaļbarībai, skābbarībai, sienam). Latvijas apstākļos vairumā saimniecību govīm izēdinātās spēkbarības īpatsvars svārstās 30–40%, bet zāles lopbarības īpatsvars 55–65% robežās no barības kopējās enerģētiskās vērtības.

Pēc 3. tabulā dotā barības līdzekļu raksturojuma proteīna satura palielināšanai un izmaksu

samazināšanai govju ēdināšanā izdevīga ir zāles lopbarība, kuras īpatsvaru varētu palielināt, ekonomējot dārgo spēkbarību.

Lai vērtētu ieteikuma par zāles lopbarības plašākas izmantošanas iespējām un tā realizācijas efektu, 2. tabulā atspoguļotos govju ēdināšanas pašreizējā stāvokļa datus interpolējām, palielinot zāles lopbarības īpatsvaru līdz 68% un attiecīgi samazinot spēkbarības daudzumu līdz 27% (4. tabula).

Aizvietojojot 300 kg spēkbarības ar 1500 kg labas kvalitātes tauriņziežu un daudzgadīgo zālāju skābbarību un zaļbarību, proteīna saturs barības saunē palielinājās līdz 15.7%, enerģijas koncentrācija saglabājās pietiekamā līmenī (6.38 MJ NEL kg⁻¹), bet izdevumi lopbarībai samazinājās par 3% jeb Ls 8.50, rēķinot uz govi gadā. Kaut arī šī ekonomija šķiet nenozīmīga, valsts mērogā, summējoties visam slaucamo govju ganāmpulkam, tā veidotu jau 1.5 miljonus latu. Turklāt jāņem vērā sagaidāmais izslaukuma pieaugums proteīna un enerģijas apgādes uzlabošanas rezultātā.

Diskusija

Latvijas mērenais piejūras klimats ar pietiekamu nokrišņu daudzumu piemērots zālaugu audzēšanai. Ievērojot citu valstu ar līdzīgu klimatu (Dānijas, Vācijas, Anglijas u.c.) pieredzi, zāles lopbarības īpatsvaru govju barībā, rēķinot pēc enerģētiskās vērtības, varētu palielināt līdz 65–70%. Par šādām

4. tabula / Table 4

Govij (dzīvmasa – 550 kg, izslaukums – 5000 kg) izēdināmā barība
Feed for a cow (animal weight – 550 kg, milk yield – 5000 kg)

Lopbarības veids / Type of feed	Barības daudzums / Amount of feed, kg ⁻¹	Barības sausna / Dry matter of feed, kg ⁻¹	Kop- proteīns / Crude protein, kg ⁻¹	Neto enerģija laktācijai / Net energy for lactation, MJ	Barības vērtība / Feed value, LVL
Zaļbarība, ganību zāle / Green forage, pasture grass	7800	1560	265.2	9360	46.80
Skābbarība, skābsiens / Silage, haylage	5200	1664	275.1	9485	57.20
Siens / Hay	1400	1204	154.0	6720	42.00
Lopbarības graudi / Feed grains	1000	880	120.0	8600	75.00
Rauši, spraukumi / Cake, oil meal	240	216	86.4	1555	36.00
Salmi / Straws	135	116	4.5	405	0.68
Pārējā barība / Other feed	978	229	15.7	1321	40.60
Kopā / Total	16 753	5869	920.9	37 446	298.28

**Govij nepieciešamais spēkbarības daudzums (kg) atkarībā no zāles barības kvalitātes
(dzīvmasa – 500 kg, piena tauki – 4.0%)**
**Amount of feed necessary (kg) for a cow depending on the quality of the grass feed
(animal weight – 500 kg, milk fat – 4.0%)**

Barības kvalitāte / Feed quality	Izslaukums diennaktī, kg / Daily milk yield, kg				
	10	20	30	40	50
Slikta / Bad	5.6	9.8	14.0	–	–
Vidēja / Average	2.2	6.4	10.6	14.8	–
Augsta / High	–	2.6	6.8	11.0	15.2

iespējām liecina arī m.p.s. „Vecauce” pieredze: zāles lopbarības daudzums 350 govju liela ganāmpulka (ar vidējo izslaukumu lielāku par 6000 kg) izēdinātajā barībā veido 64–69%. Taču noteikti jāievēro, ka zāles daudzuma palielināšanai uz spēkbarības rēķina jānotiek saistībā ar intensīvāku tauriņziežu kultūru (āboliņa, lucernas, galegas) audzēšanas paplašināšanu, skābbarības un siena kvalitātes uzlabošanu un zāles lopbarības gatavošanu visa gada patēriņam.

Sevišķi jāuzsver zāles lopbarības kvalitātes uzlabošanas nepieciešamība. Bez šī nosacījuma nebūs iespējama augstāzīgu govju racionāla ēdināšana.

Var likties, ka vienkāršāk ir paaugstināt govju produktivitāti, palielinot spēkbarības devas, nekā ilgstoši rūpēties par zālāju ražību un kvalitatīvas skābbarības, skābsiena un siena sagatavošanu. Taču pārāk augsts spēkbarības īpatsvars neatbilst govīm kā atgremotājdzīvnieka fizioloģijai un ir ekonomiski neizdevīgāks par zāles barības izmantošanu.

Pēc Viskonsinas Universitātes zinātnieku aprēķiniem (Nutrition ..., 1994) zāles barības kvalitāte būtiski ietekmē nepieciešamo spēkbarības daudzumu un iespējamo izslaukumu (5. tabula). Ja govīm ar izslaukumu līdz 10 kg un cietstāvošajām govīm spēkbarība vairāk nepieciešama minerālvielu un vitamīnu apgādei, tad tālākai produktivitātes paaugstināšanai līdz 20–30 kg diennaktī izēdinātajā spēkbarības daudzumā starpība starp sliktas un augstas kvalitātes zāles barību sasniedz jau 7 kg diennaktī. Bet iegūt 40 kg un vairāk piena ar sliktas un arī vidējas kvalitātes skābbarību un sienu, nepārsniedzot fizioloģiski pieļaujamās spēkbarības devas (aptuveni 3 kg uz 100 kg dzīvmasas), nav iespējams.

Latvijā pašreizējā situācijā, kad vidējais izslaukums no govīm tikai tuvojas 5000 kg robežai un spēkbarības īpatsvars veido 32% no barības devas enerģētiskās vērtības, tilpumainās un spēkbarības attiecības var uzskatīt par normālām, ieskaitot iespējas palielināt kvalitatīvas zāles barības daudzumu. Tas arī atbilst

jau pieminētajiem agroekonomiskajiem apstākļiem Latvijā (Latvietis, 1999; Kirila, 2002; Adamovičs u.c., 2005). Problēmas sagādā tikai zāles lopbarības kvalitāte.

Taču tajās saimniecībās, kur ganāmpulka ražība pārsniedz 8000 kg piena no govīm laktācijā, bet atsevišķām govīm laktācijas sākumā sasniedz 40–50 kg diennaktī, jārēķinās ar ievērojami augstāku spēkbarības un zemāku tilpumainās barības īpatsvaru. Šādā situācijā govīm tiek pakļautas zināmam riskam izraisīt gremošanas vai citus fizioloģiskas dabas traucējumus (spurekļa vides skābuma palielināšanos, apetītes zudumu un tai sekojošās produktivitātes kritumu, tauku satura samazināšanos pienā u.c.).

Jautājumā par spēkbarības līmeņa kritisko robežu govju barības devās zinātnieku viedokļi daudz neatšķiras. Babkoka Starptautiskā piena lopkopības zinātniskā institūta (Viskonsinas Universitāte, ASV) līdzstrādnieki savos barības devu aprēķinos govīm ar 40–50 kg izslaukumu tilpumainās un spēkbarības attiecības barības sausnā pieļauj procentuāli attiecīgi kā 45–50 un 55–60 (Nutrition ..., 1994). Savukārt Zinātniskā institūta „Sigra” (Sigulda, Latvija) pētnieki (Ošmane u.c., 2006), atsaucoties uz Eiropas Savienības kontroles institūciju prasībām, šīs attiecības iesaka 50% un 50% robežās.

Maksimālo spēkbarības devu noteikšanā slaucamām govīm var orientēties arī pēc citiem kritērijiem. Tā, par kritisko robežu tiek uzskatīta 400 g spēkbarības, rēķinot uz kilogramu piena, 3.0–3.2% no govīm dzīvmasas un 65% no barības devas enerģētiskās vērtības. Pārējais barības daudzums devā jāveido no izcilas kvalitātes skābbarības, siena un vasarā arī no zaļbarības. Barības devas pilnīgākai izmantošanai tā jāizēdina t.s. totālo barības maisījumu veidā. Taču jebkurā gadījumā ekonomisko apsvērumu un piena pašizmaksas minimalizēšanas nolūkā zāles barībai dodama prioritāte. It īpaši tagad, kad graudu un citu spēkbarības līdzekļu cenas pēdējā gada laikā palielinājušās gandrīz pusotrkārtīgi.

Secinājumi

1. Stāvoklis piena lopkopībā sāk stabilizēties: govju skaita samazināšanās tendence tikpat kā apstājusies, tā tiek kompensēta ar produktivitātes paaugstināšanos, un piena kopieguve valstī saglabājas 800 000 tonnu robežās. Piena realizācijas cena sasniegusi ES valstu līmeni, un nav sagaidāma tās būtiska palielināšanās.
2. Problēmas rada piena ražošanas izmaksas – tās ir augstas un apdraud Latvijas konkurētspēju ES un citu valstu tirgū.
3. Viens no piena ražošanas lielo izmaksu noteicošajiem cēloņiem ir barības pārtēriņš, kas sasniedz 13%, un lopbarības augstās izmaksas (vidēji Ls 300 latu govij gadā).
4. Barības pārtēriņu galvenokārt izraisa proteīna deficīts, kas pārsniedz 10% no vēlamā, bet barības augsto izmaksu pamatā ir dārgā lopbarība (spēkbarība, piedevas).
5. Proteīna deficīta segšanai un barības izmaksu samazināšanai izdevīgākā ir zāles lopbarība, kas ir lētāka un ir izmantojama kā vasaras, tā ziemas periodā.
6. Zāles lopbarības īpatsvara palielināšana govju ēdināšanā no 63 līdz 68% palielinātu proteīna saturu barības sausnā no 14.6 līdz 15.7% un samazinātu barības izmaksas piena ražošanai par 3% jeb Ls 8.50, rēķinot uz govī gadā.

Literatūra

1. Adamovičs, A., Beča, M., Sprūžs, J. (2005) Racionāla zālaugu bioloģiskās masas izmantošana kvalitatīvas lopbarības ieguvei. „Vide. Tehnoloģija. Resursi.” V Starptautiskās zinātniski praktiskās konferences materiāli. Rēzekne, 87.–94. lpp.

2. *Bruto seguma aprēķins zemnieku saimniecībai.* (2006) LLKC, Ozolnieki, 58 lpp.
3. Budnik, A., Funk, M., Hack, W. (1991) *Datensammlung für die Betriebsplanung in der Landwirtschaft.* 12. Auflage. Münster-Hiltrup: Landwirtschaftsverlag Gm BH, 152 s.
4. Jeroch, H., Flachowsky, G., Weissbach, F. (1993) *Futtermittelkunde.* Gustav Fischer Verlag, Jena-Stuttgart, 510 s.
5. Kirila, K. (2002) *Latvijas Lauksaimniecības potenciāls un tā izmantošanas iespējas.* Disertācijas kopsavilkums. Jelgava, 78 lpp.
6. Latvietis, J. (1999) Govju ēdināšanas optimizēšana zemnieku saimniecībās. *Latvijas Lauksaimniecības zinātniskie pamati.* Zinātniskā monogrāfija. LLU, Jelgava, 7.96-7.100.
7. *Latvijas lauksaimniecība 2005. gadā.* (2006) Īss statistisko datu krājums. Latvijas Republikas CSP, Rīga, 16.–36. lpp.
8. *Lauku saimniecības Latvijā 2006. gadā.* (2007) Statistisko datu krājums. Latvijas Republikas CSP, Rīga, 44 lpp.
9. *Lopbarības katalogs.* (1996) LLU, Jelgava, 88 lpp.
10. Miglavs, A. (2007) Izaicinājumi Latvijas piena nozarei. *Agropols*, Nr. 9/maijs, 9.–11. lpp.
11. *Nutrition and Feeding.* (1994). Eds. Wattiaux M.A. et al. The Babcock Institute for International Dairy Research and Development, Madison, USA, 121 pp.
12. Osītis, U. (1998) *Barības līdzekļu novērtēšana atgremotāju ēdināšanā.* LLKC, LLU, 102 lpp.
13. Ošmane, B., Kravale, D., Mičulis, J., Ramane, I. (2006) Pašražotā lopbarība – dzīvnieku veselības pamats. *Lauksaimniecības dzīvnieki un to produkcija bioloģiskajā lauksaimniecībā.* Monogrāfija. Sigulda, 50.–93. lpp.

Kontroles dienas modeļa pielietošana piena šķirņu vaislas buļļu ģenētiskajā novērtēšanā

Genetic Evaluation of Dairy Sires Using a Test Day Model

Rita Sarma

LLU Agrobiotehnoloģijas institūts
Institute of Agrobiotechnology, LLU
e-mail: Rita.Sarma@ldc.gov.lv

Abstract. Estimated breeding values (EBV) of all study groups showed the largest variation for three productivity traits when fixed district-test day effect was included in the model. Estimated breeding values were obtained in range from -921 to 1368 kg (1st lactation) and from -1014 to 1966 kg (three lactations) with average values from 27 to 28 kg (1st lactation) and from 62 to 64 kg (three lactations) for milk yield; from -38.0 to 83.6 kg (1st lactation) and from -40.8 to 93.6 kg (three lactations) with average values of 0.8 kg (1st lactation) and from 2.1 to 2.4 kg (three lactations) for fat yield; from -23.9 to 46.6 kg (1st lactation) and from -33.7 to 59.9 kg (three lactations) with average values from 0.8 to 0.9 kg (1st lactation) and from 1.9 to 2.0 kg (three lactations) for protein yield. EBV of milk yield and protein yield showed significant differences between lactation groups and three lactation groups where different fixed herd-test day or fixed district-test day effect was included in the model ($p < 0.01$). The average reliabilities of EBV were in range from 70 to 82%, from 69 to 81%, and from 72 to 83%, respectively for milk, fat, and protein yield according to the test day model. These values are lower by 3 to 15% for milk yield, by 3 to 18% for fat yield, and by 9 to 20% for protein yield using lactation model.

Key words: test day model, breeding value.

Ievads

Produktivitātes pazīmes nosaka liels un nezināms gēnu skaits, tādēļ to analizēšanai nepieciešami matemātiskie modeļi, kuri apraksta pazīmes fenotipisko vērtību. Kontroles dienas modeļi (KDM) interesi ieguvuši, pateicoties to elastībai, – tos iespējams izmantot dažādās pārraudzības sistēmās. Kontroles dienas modeļu izmantošanai ir daudz priekšrocību: 1) precīzāka īslaicīgo kontroles dienas (KD) vides ietekmes faktoru novērtēšana, modelī iekļaujot noteiktas pārraudzības dienas ietekmi (Ptak, Schaeffer, 1993; Swalve, 1998, 2000; Reents et al., 1998; Mrode et al., 2000; Jensen, 2001); 2) laktācijas kontroles dienas, nevis 305 dienu, produktivitātes rādītāju izmantošana (Ptak, Schaeffer, 1993; Swalve, 2000; Jensen, 2001); 3) ģenētiskās novērtēšanas drošība govīm (4 līdz 8% robežās) un vaisliniekiem uzlabojas, palielinoties to meitu kontroles dienas rādītāju skaitam (Ptak, Schaeffer, 1993; Schaeffer et al., 2000); 4) piena pārraudzības izmaksu samazināšana (Ptak, Schaeffer, 1993; Swalve, 1998; Swalve, 2000); 5) paaudžu intervāla samazināšana, veicot biežāku ģenētisko novērtēšanu no pēdējiem datiem un iegūstot ātrāku ģenētisko novērtējumu (Swalve, 2000); 6) ar kontroles dienas modeli var modelēt katrai govij (izmantojot randomās regresijas

modeli) vai govju grupai (izmantojot fiksētās regresijas modeli) atsevišķu laktācijas līknes formu (Jamrozik et al., 1997; Mrode et al., 2002; Bormann et al., 2003); 7) kontroles dienas modelis pieļauj ģenētiskās novērtēšanas iespēju laktācijas līknes vienmērībai (Jamrozik et al., 1997; Mrode et al., 2002; Jensen, 2001); 8) optimāla informācijas izmantošana par visām kontroles dienām, īpaši laktācijās, kurās ir garš periods no atnešanās līdz pirmajai kontrolei vai starp divām kontrolēm, kā arī stabilākas vaislas buļļu ciltsvērtības starp novērtējumiem un buļļu meitu laktācijas līkņu ģenētisko atšķirību uzskaitīšana (Swalve, 1995; Wiggans, Goddard, 1997; Pool, Meuwissen, 1997; Swalve, 2000).

Tāpat literatūrā norādīti kontroles dienas rādītāju izmantošanas trūkumi: 1) nepieciešamība uzglabāt katras govīs individuālās kontroles dienas produktivitātes rādītājus (Ptak, Schaeffer, 1993); 2) kontroles dienas rādītāju izmantošana statistiskajos modeļos ievērojami palielina novērtējamo parametru skaitu un analizējamo datu apjomu, kas palielina aprēķinu veikšanas laiku (Ptak, Schaeffer, 1993; Reents et al., 1998; Jensen, 2001; Lidauer et al., 2003); 3) līdzinieču grupu definēšanā, balstoties uz ganāmpulka–kontroles dienas faktoru, modelī jāuzskaita daudz lielāks pakāpju skaits salīdzinājumā

ar ganāmpulka–gada–sezonas klasifikāciju, ko parasti lieto laktācijas modelī (Reents et al., 1998), un līdz ar to pieņemto kontroles dienas modeļa veidu bieži diktē pieejamie datorresursi (Lidauer et al., 2003).

Pamatojoties uz literatūrā publicētajiem rezultātiem, par darba galveno mērķi izvirzīta govju piena kontroles dienas datu izmantošanas iespēju pārbaude produktivitātes pazīmju ciltsvērtību novērtēšanā. Darbā pamatota nepieciešamība ieviest Latvijā jaunākās ciltsvērtību novērtēšanas metodes.

Materiāls un metodika

Pētījumam izmantoti pārraudzības dati no valsts aģentūras „Lauksaimniecības datu centrs”, kas veic piena šķirņu liellopu ģenētisko novērtēšanu.

Paraugkopu veido 23 949 Latvijas brūnās šķirnes slaucamās govīs, kas bijušas 647 buļļu meitas (bullim vidēji 37 meitas). Pētījumā lielākai daļai govju (90%) iekļauti pirmās laktācijas kontroles dienas rādītāji, bet 59% un 37% govju – attiecīgi 2. un 3. laktācijas kontroles dienas rādītāji. Kopējais kontroles dienas rādītāju skaits ir 362 043, no kuriem 49% ir pirmās laktācijas, 32% – otrās laktācijas, un 19% – trešās laktācijas rādītāji. Slaucamās govīs izvēlētas pēc nejaušības principa no visiem Latvijas reģioniem: no 1849 ganāmpulkēm (vidēji 13 govīs ganāmpulkā) un 400 pagastiem (vidēji 60 govīs pagastā).

Kontroles dienas dati pētījumā iekļauti no 5. līdz 380. slaukšanas dienai. Maksimālais pētījumā iekļauto kontroļu skaits ir 11. Pētījumā iekļautās govīs

atnesušās laika periodā no 1995. līdz 2004. gadam. 2004. gadā atnesusies lielākā daļa govju (28%), bet 22% govju atnešanās reģistrēta laikā no 1995. līdz 2000. gadam. Lielākais reģistrēto kontroļu skaits (24%) ir govīm, kas atnesušās 2003. gadā. Govīm, kas atnesušās no 1995. līdz 2000. gadam, kontroles veido 24% no kopējā skaita.

Galvenie nosacījumi govju iekļaušanai pētījumā bija atbilstošs šķirnes nosaukums (Latvijas brūnā) un zināma izcelšanās informācija vismaz vienā paaudzē (tēvs un māte), ja abi vecāki pieder pie sarkano šķirņu grupas. Tā kā pētījumā izmantots dzīvnieka modelis, kurš novērtējumā ļauj iekļaut visu informāciju par dzīvnieka radiniekiem, kopējais pētījumā iekļauto dzīvnieku skaits bija 42 747, no kuriem 56% bija slaucamās govīs ar kontroles dienas produktivitātes rādītājiem.

Kopumā kontroles dienas dati izmantoti par 647 vaislas buļļu meitām, bet, ņemot vērā pētījumā iekļauto izcelšanās informāciju līdz divām priekšteču paaudzēm, ciltsvērtību novērtējums iegūts pavisam par 687 vaislas buļļiem. Lielākā daļa buļļu (98%) pieder pie 5 šķirnēm: Latvijas brūnā (LB), Dānijas sarkanā (DS), Vācijas sarkanā (AN), Zviedrijas sarkanraibā (ZS) un Holšteinas sarkanraibā (HS). Lielāko īpatsvaru veido LB, DS un AN šķirnes buļļi, attiecīgi 56%, 18% un 14%, kā arī buļļi, kas dzimuši no 1980. līdz 1989. gadam (40%), no 1990. līdz 1992. gadam (19%) un no 1995. līdz 1997. gadam (17%).

Darba gaitā izveidotas astoņas pētījumu grupas (1. tabula). Pētījuma 1.1. līdz 1.4. grupā pielietoti

1. tabula / Table 1

Fiksēto faktoru gradāciju klases pētījumu grupās Gradation classes of fixed factors in research groups

Fiksētais faktors / Fixed factor	Pirmās laktācijas grupa / 1st lactation group				Trīs laktāciju grupa / Three lactation group			
	1.1.	1.2.	1.3.	1.4.	3.1.	3.2.	3.3.	3.4.
1. faktors / 1st factor	GKD	PKD	GKD	PKD	GKD	PKD	GKD	PKD
2. faktors / 2nd factor	klašu skaits / number of classes							
Atnešanās gads / Calving year	2	2	3	3	2	2	3	3
Atnešanās sezona / Calving season	2	2	2	2	2	2	2	2
Atnešanās vecums / Calving age	2	2	3	3	3	3	5	5
Starpatnešanās intervāls / Calving interval	3	3	5	5	3	3	5	5
Laktācijas līknes / Lactation curves	24	24	90	90	108	108	450	450

GKD – fiksētais ganāmpulka–kontroles dienas faktors / fixed herd-test day effect

PKD – fiksētais pagasta–kontroles dienas faktors / fixed district-test day effect

tikai pirmās laktācijas rādītāji ar fiksēto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru 1.1. un 1.3. grupā (fiksētais laktācijas līkņu skaits attiecīgi 24 un 90) un fiksēto pagasta–kontroles dienas faktoru 1.2. un 1.4. grupā (fiksētais laktācijas līkņu skaits attiecīgi 24 un 90). Pētījuma 3.1.–3.4. grupā pielietoti pirmo trīs laktāciju kontroles dienas rādītāji ar fiksēto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru 3.1. un 3.3. grupā (fiksētais laktācijas līkņu skaits attiecīgi 108 un 450) un fiksēto pagasta–kontroles dienas faktoru 3.2. un 3.4. grupā (fiksētais laktācijas līkņu skaits attiecīgi 108 un 450).

Kontroles dienas rādītāji laktācijā uzskaitīti kā atkārtoti mērījumi, tādēļ pētījumā lietots fiksētās regresijas kontroles dienas modelis, kurā laktācijas līkne uzskaitīta, izmantojot fiksētās regresijas koeficientus attiecībā uz slaukšanas dienu skaitu (Ali, Schaeffer, 1987):

$$y_{ijkln} = \mu + (GKD_i \text{ vai } PKD_i) + AVGIS_k + b_{k1}(D/c) + b_{k2}(D/c)^2 + b_{k3} \ln(c/D) + b_{k4}[\ln(c/D)]^2 + a_j + pe_j + e_{ijkln} \quad (1)$$

kur

- y_{ijkln} – j-tās govju kontroles dienas fenotipiskā vērtība;
- μ – ģenerālkopas vidējā vērtība;
- GKD_i – fiksētais ganāmpulka–kontroles dienas vai
- PKD_i – fiksētais pagasta–kontroles dienas faktors;
- $AVGIS_k$ – fiksētais faktors;
- b_{k1}, b_{k2} – (D/c) attiecības lineārās un kvadrātiskās ietekmes regresijas koeficienti, kur D ir slaukšanas diena laktācijā un c – konstanta vērtība ($c = 380$);
- b_{k3}, b_{k4} – $\ln(c/D)$ lineārās un kvadrātiskās ietekmes regresijas koeficienti;
- a_j – dzīvnieka randomais aditīvi ģenētiskais faktors (ciltsvērtība);
- pe_j – randomais permanentais vides faktors;
- e_{ijkln} – atlikuma ietekmes faktori (gadījuma kļūda).

Fiksētais $AVGIS_k$ faktors definē laktācijas līkni noteiktai govju grupai, ņemot vērā laktācijas–atnešanās vecuma–atnešanās sezonas–starpnešanās intervāla–atnešanās gada faktoros, ja novērtēšanā izmantoti vairāku laktāciju rādītāji, vai atnešanās vecuma–atnešanās sezonas–starpnešanās intervāla–atnešanās gada faktoros, ja novērtēšanā izmantoti vienas laktācijas rādītāji.

Latvijā no 2002. gada piena šķirņu liellopu novērtēšanā izmantoja BLUP dzīvnieka–laktācijas modeli, tādēļ iegūtie kontroles dienas modeļa ciltsvērtību novērtēšanas rezultāti salīdzināti

ar atbilstošiem šāda laktācijas modeļa (LM) rezultātiem:

$$y_{ijklmn} = hys_i + la_j + av_k + si_l + a_{ijklm} + p_{ijklm} + e_{ijklmn} \quad (2)$$

kur

- y_{ijkln} – j-tās govju kontroles dienas fenotipiskā vērtība;
- y_{ijklmn} – laktācijas produktivitātes rādītājs;
- hys_i – fiksētais ganāmpulka–gada–sezonas faktors;
- la_j – fiksētais laktācijas faktors;
- av_k – fiksētais atnešanās vecuma grupas faktors;
- fiksētais starpatnešanās intervāla grupas faktors;
- a_{ijklm} – randomais aditīvi ģenētiskais dzīvnieka faktors;
- p_{ijklm} – randomais permanentais vides faktors;
- e_{ijklmn} – randomais atlikuma ietekmes faktors.

Datu statistiskā apstrāde veikta, izmantojot SAS programmatūru (The Little SAS Book, 1995). Specializētā datorprogramma PEST (Groeneveld, 1990) izmantota ciltsvērtību novērtējuma iegūšanai un prognozētās kļūdas dispersijas aprēķināšanai.

Rezultāti

Novērtētā ciltsvērtība (NCV) ir dzīvnieka ģenētiskās vērtības mērs. Pētījumā iegūts 687 valsts ciltsgrāmatas (VCG) buļļu ciltsvērtību novērtējums, atsevišķi nodalot 278 buļļu grupu, kuriem visu pazīmju novērtējuma drošība (REL, %) ir vismaz 50%.

Valsts ciltsgrāmatā uzņemto vaislas buļļu vidējie novērtēto ciltsvērtību rezultāti pazīmei „izslaukums”, izmantojot dažādus modeļi iekļautos faktoros, ir apkopoti 2. tabulā.

Rezultāti liecina, ka augstāki vidējo ciltsvērtību novērtējumi un standartkļūdas abās laktāciju grupās iegūti, modelī iekļaujot pagasta–kontroles dienas (PKD) faktoru, attiecīgi 28 ± 11.7 kg un 27 ± 11.6 kg pirmās laktācijas grupā un 64 ± 16.2 kg un 62 ± 16.3 kg trīs laktāciju grupā. Turklāt abās laktāciju grupās augstākus vidējos rādītājus un standartkļūdas ieguva, ja definēto laktācijas līkņu skaits bija lielāks.

Tāpat šajās grupās iegūta arī lielāka izkliede starp novērtētājām ciltsvērtībām, zemāko izkliedes intervāla rādītāju uzrādot 1. laktācijas grupā (no 1777 kg līdz 2289 kg), bet augstāko – trīs laktāciju grupā (no 1926 kg līdz 2970 kg), kur salīdzinājumā ar ganāmpulka–kontroles dienas (GKD) faktoru augstāki rādītāji iegūti pētījumu grupās ar iekļauto

Buļļu novērtētās ciltsvērtības pazīmei „izslaukums”, kg
Estimated breeding values of bulls for the trait “milk yield”, kg

Pētījumu grupa / Research group	n = 687		n = 278, REL = 50%
	$\bar{x} \pm s_x$	ciltsvērtību izkliede / breeding value variation	$\bar{x} \pm s_x$
1.1.	10 ± 9.4 ^a	1777	42 ± 19.9
1.2.	28 ± 11.7 ^a	2243	84 ± 24.0
1.3.	12 ± 9.4 ^a	1825	47 ± 20.0
1.4.	27 ± 11.6 ^a	2289	81 ± 23.9
3.1.	6 ± 10.1 ^{ab}	1948	26 ± 20.8
3.2.	64 ± 16.2 ^{ab}	2947	191 ± 29.6
3.3.	7 ± 10.2 ^{ac}	1926	29 ± 21.0
3.4.	62 ± 16.3 ^{ac}	2970	188 ± 29.8

^a – ciltsvērtībām ar vienādiem augšrakstiem ir statistiski ticama atšķirība pirmās laktācijas un trīs laktāciju pētījumu grupās (p<0.01; p<0.05) / breeding values with similar superscripts differ significantly in research groups of first lactation and three lactations (p<0.01; p<0.05)

^{b, c} – ciltsvērtībām ar vienādiem augšrakstiem ir statistiski ticama atšķirība pirmo trīs laktāciju pētījumu grupās (p<0.01; p<0.05) / breeding values with similar superscripts differ significantly in research groups of first three lactations (p<0.01; p<0.05)

pagasta–kontroles dienas faktoru. Novērtējumu mazāk ir ietekmējis tieši modelī iekļautais laktācijas likņu skaits.

Izvērtējot 278 buļļu novērtētās ciltsvērtības, kur pazīmju drošības novērtējums ir vismaz 50%, vidējā vērtība novērtētajām ciltsvērtībām ir augstāka, salīdzinot ar 687 buļļu grupas rādītāju: pirmās laktācijas grupā – par 32 līdz 56 kg, bet pirmo trīs laktāciju grupā – par 20 līdz 127 kg.

Būtisks atšķirības pazīmei „izslaukums” iegūtas starp abu laktācijas grupu novērtētajām ciltsvērtībām, kā arī starp trīs laktāciju grupas ciltsvērtībām, kad modelī iekļautais ganāmpulka–kontroles dienas vai pagasta–kontroles dienas faktors ir bijis atšķirīgs (p<0.01).

Pazīmei „tauku daudzums” novērtētās ciltsvērtības rezultāti rāda, ka vidējais ciltsvērtību novērtējums un standartkļūdas vienā laktāciju grupā neatšķiras, ja modelī ir atšķirīgs definēto laktācijas likņu skaits, bet neatšķiras modeļa fiksētais ganāmpulka–kontroles dienas vai pagasta–kontroles dienas faktors (3. tabula).

Zemākie un augstākie vidējie rādītāji iegūti pirmo trīs laktāciju grupā: ar zemākajām novērtētajām ciltsvērtībām, ja modelī iekļauts ganāmpulka–kontroles dienas faktors (0.2 kg), un augstākajām novērtētajām ciltsvērtībām, ja modelī iekļauts pagasta–kontroles dienas faktors, un definēto laktācijas likņu skaits attiecīgi ir 108 (2.1 kg) un 450 (2.4 kg).

Līdzīgi rezultāti iegūti pirmās laktācijas grupā, kur zemākās vērtības bija grupā ar modelī iekļauto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru (attiecīgi 0.3 ± 0.42 kg, ja definēto laktācijas likņu skaits bija 24, un 0.4 ± 0.42 kg, ja definēto laktācijas likņu skaits bija 90), bet augstākās vērtības – ar modelī iekļauto pagasta–kontroles dienas faktoru (attiecīgi 0.8 ± 0.50 kg).

Mazākā novērtēto ciltsvērtību izkliede (101.8 kg) pazīmei „tauku daudzums” starp zemākajām un augstākajām vērtībām bija pirmās laktācijas grupā ar modelī iekļauto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru un 24 definētajām laktācijas līknēm, bet lielākā izkliede (132.4 kg) tika iegūta trīs laktāciju grupā ar modelī iekļauto pagasta–kontroles dienas faktoru un 108 definētajām laktācijas līknēm. Līdzīgu izkliedi ieguva starp visām laktāciju grupām, esot dažādam definēto laktācijas likņu skaitam, ja modelī bija iekļauts ganāmpulka–kontroles dienas (no 101.8 kg pirmās laktācijas grupā līdz 104.6 kg trīs laktāciju grupā) vai pagasta–kontroles dienas (no 119.7 kg pirmās laktācijas grupā līdz 132.4 kg trīs laktāciju grupā) faktors.

Vaislas buļļiem ar vismaz 50% lielu novērtējuma drošību visās pētījumu grupās ir iegūtas par 0.6 līdz 5.0 kg augstākas vidējās novērtētās ciltsvērtības pazīmei „tauku daudzums”, salīdzinot ar 687 buļļu grupas rādītāju. Pirmajā laktācijas grupā iegūtas izlīdzinātākas novērtētās ciltsvērtības – augstākas par 1.1 līdz 2.0 kg. Savukārt trīs laktāciju grupā

3. tabula / Table 3

Buļļu novērtētās ciltsvērtības pazīmei „tauku daudzums”, kg
Estimated breeding values of bulls for the trait “fat yield”, kg

Pētījumu grupa / Research group	n = 687		n = 278, REL = 50%
	$\bar{x} \pm s_x$	ciltsvērtību izkliede / breeding value variation	$\bar{x} \pm s_x$
1.1.	0.3 ± 0.42	101.8	1.4 ± 0.94
1.2.	0.8 ± 0.50	119.7	2.8 ± 1.08
1.3.	0.4 ± 0.42	104.2	1.6 ± 0.94
1.4.	0.8 ± 0.50	121.0	2.8 ± 1.08
3.1.	0.2 ± 0.46	104.6	0.8 ± 0.99
3.2.	2.1 ± 0.69	132.4	6.7 ± 1.32
3.3.	0.2 ± 0.47	102.5	1.0 ± 0.99
3.4.	2.4 ± 0.72	131.4	7.4 ± 1.35

4. tabula / Table 4

Buļļu novērtētās ciltsvērtības pazīmei „olbaltumvielu daudzums”, kg
Estimated breeding values of bulls for the trait “protein yield”, kg

Pētījumu grupa / Research group	n = 687		n = 278, REL = 50%
	$\bar{x} \pm s_x$	ciltsvērtību izkliede / breeding value variation	$\bar{x} \pm s_x$
1.1.	0.3 ± 0.27 ^a	57.8	0.9 ± 0.56
1.2.	0.9 ± 0.34 ^a	70.3	2.0 ± 0.67
1.3.	0.3 ± 0.27 ^a	58.3	1.0 ± 0.56
1.4.	0.8 ± 0.34 ^a	70.5	2.0 ± 0.67
3.1.	0.1 ± 0.30 ^{ab}	68.9	0.7 ± 0.59
3.2.	1.9 ± 0.49 ^{ab}	91.7	5.5 ± 0.84
3.3.	0.2 ± 0.34 ^{ac}	74.6	0.8 ± 0.62
3.4.	2.0 ± 0.50 ^{ac}	93.6	5.9 ± 0.87

^{a, b, c} – paskaidrojumi skat. 2. tabulu / for explanation see Table 2

ciltsvērtību novērtējums starp buļļu grupām bija atšķirīgāks: augstāks par 0.6 un 0.8 kg grupā ar modelī iekļauto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru un augstāks par 4.6 un 5.0 kg grupā ar modelī iekļauto pagasta–kontroles dienas faktoru.

Pazīmei „olbaltumvielu daudzums” vaislas buļļu novērtēto ciltsvērtību vidējie rādītāji apkopoti 4. tabulā. Pazīmes vidējo novērtēto ciltsvērtību, līdzīgi iepriekšējām pazīmēm, ir ietekmējis modelī iekļautais fiksētais ganāmpulka–kontroles dienas vai pagasta–kontroles dienas faktors, salīdzinot rezultātus starp dažādām laktāciju un definēto laktācijas līkņu grupām. Zemākie un augstākie vidējie rādītāji iegūti pirmo trīs laktāciju grupā, attiecīgi 0.1 un 0.2 kg ar modelī iekļauto fiksēto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru un 1.9 un 2.0 kg ar modelī iekļauto fiksēto pagasta–kontroles dienas faktoru, abos gadījumos ar dažādu definēto līkņu skaitu.

Minimālās un maksimālās novērtētās ciltsvērtības ar lielāku diapazonu iegūtas pirmo trīs laktāciju grupā, attiecīgi no -37.3 kg līdz +59.9 kg, kas šajā grupā novērtējuma izkliedi veido no 68.9 līdz 93.6 kg. Mazāka novērtējuma izkliede (57.8 līdz 70.5 kg) iegūta pirmās laktācijas grupā, kur minimālā vērtība bija -28.3 kg, bet maksimālā – 46.6 kg. Tāpat starp abām laktācijas grupām iezīmējās tendence lielāku novērtēto ciltsvērtību izkliedi iegūt grupās, kuru modelī iekļauts fiksētais pagasta–kontroles dienas faktors (attiecīgi 70.3 un 70.5 kg pirmās laktācijas grupā un 91.7 un 93.6 kg pirmo trīs laktāciju grupā).

VCG buļļu grupai ar vismaz 50% lielu novērtēto ciltsvērtību drošību vidējais novērtējums visās pētījumu grupās bija par 0.6 līdz 3.9 kg augstāks, salīdzinot ar novērtējumu, kuru ieguva 687 VCG buļļu grupai. Abās laktāciju grupās vidējais novērtēto ciltsvērtību rādītājs bija augstāks par 0.7 līdz 1.0

kg, kad modelī bija iekļauts ganāmpulka–kontroles dienas faktors neatkarīgi no definēto laktācijas likņu skaita. Modelī iekļaujot pagasta–kontroles dienas faktoru, iegūtās novērtētās ciltsvērtības vidēji bija 2.0 kg pirmās laktācijas grupā un 5.5 un 5.9 kg pirmo trīs laktāciju grupā, kas attiecīgi ir par 1.1–1.2 kg un 3.6–3.9 kg vairāk nekā kopējā bulļu grupā (n = 687).

Pazīmei „olbaltumvielu daudzums” ciltsvērtību novērtējums iegūts ar statistiski būtiskām atšķirībām starp dažādām laktācijas grupām un trīs laktāciju grupā, kad modelī bija iekļauts atšķirīgs fiksētais ganāmpulka–kontroles dienas vai pagasta–kontroles dienas faktors ($p < 0.01$).

Arī Pauras (1999) pētījumā norādīta pagasta faktora ietekme uz produktivitātes pazīmju novērtējumu salīdzinājumā ar ganāmpulka faktoru, ņemot vērā ganāmpulka lielumu Latvijas apstākļos.

Pētījumos norādīts, ka pirmo trīs laktāciju rādītāju iekļaušana kontroles dienas modelī ir vēlama, jo otrās un vecāko laktāciju rādītāji, salīdzinot tikai ar pirmo laktāciju, nodrošina daudz pilnīgāku informāciju par dzīvnieka mūža produktivitāti. Tomēr tas var būtiski ietekmēt dzīvnieku rangu izmaiņas, ja iepriekš izmantoti tikai vienas laktācijas rādītāji (Powell, Norman, 1981; Mostert, 2007).

Mostert et al. (2006) pētījumā, kurā pielietots fiksētās regresijas kontroles dienas modelis, pārāk augstus novērtējumus ieguvuši vecākie vaislinieki, īpaši tie, kuri dzimuši 80. gados un tikuši plaši izmantoti, bet kuru mātēm un citām radnieciskajām govīm nav uzkrāti kontroles dienas rādītāji un kuriem nav aktīvo pēcnācēju ar kontroles dienas rādītājiem. Tālākajos Mostert (2007) fiksētās regresijas kontroles dienas modeļa pētījumos norādīts, ka modeļa ieviešana nav devusi būtiskas izmaiņas dzīvnieku rangos, bet iegūtas būtiskas atšķirības atsevišķu dzīvnieku, kā arī visjaunāko vaislinieku ciltsvērtībām.

Ciltsvērtību novērtējuma precizitātes izteikšanai izmanto drošības rādītāju (REL), kas parāda modeļa pielāgošanu datiem un ko parasti izsaka procentos.

Tā kā Latvijā pēdējo gadu laikā oficiālajā novērtēšanā izmantoti laktāciju 305 dienu ražības rādītāji, pētījumā iegūtie kontroles dienas modeļa drošības rādītāji salīdzināti ar atbilstošiem laktācijas modeļa rezultātiem. Salīdzināšanai izmantoti 2005. gada 1. ceturkšņa oficiālie novērtējuma rezultāti, jo šīs novērtēšanas datu masīvs atlasīts vienlaicīgi ar pētījumā izmantoto datu masīvu. Vidējais grupas rādītājs aprēķināts no 382 bulļiem, kuriem novērtēšanā bija iekļautas vismaz 10 meitas ar laktācijas 305 dienu produktivitātes rādītājiem. Kontroles dienas modelī iekļautais meitu skaits vidēji ir par 7 meitām lielāks salīdzinājumā ar laktācijas modeli. Bulļu vidējie rādītāji aprēķināti arī pa to dzimšanas gada grupām. Vislielāko grupu veido līdz 1990. gadam dzimušie bulļi (n = 188). Šiem bulļiem kontroles dienas modeļa un laktācijas modeļa novērtēšanā ir tikai 1 meitas starpība, jo kontroles dienas datu rezultāti elektroniskā veidā ir uzkrāti, sākot no 1995./1996. gada. Jaunāko bulļu grupā šī starpība ir vislielākā – 41 meita.

Izmantojot kontroles dienas rādītājus, pazīmei „izslaukums” drošības rādītājs iegūts vidēji par 3 līdz 15% augstāks. Šai pazīmei lielākā starpība starp dažādu modeļu novērtējumiem iegūta, kontroles dienas modelī iekļaujot fiksēto pagasta–kontroles dienas faktoru (5. tabula). Laktācijas modeļa grupā vidējie drošības novērtējumi dažādās vecuma grupās iegūti izlīdzinātāki – 65–69%, savukārt kontroles dienas modeļa grupā – no 68% vecāko bulļu grupā līdz 88% jaunāko bulļu grupā.

Dažāda vecuma bulļu grupās mazākā starpība starp dažādu modeļu drošības novērtējumiem iegūta vecāko bulļu grupā. Kontroles dienas modelī iekļaujot ganāmpulka–kontroles dienas faktoru, vidējais drošības novērtējums iegūts par 1% mazāks,

5. tabula / Table 5

**Drošības rādītāja novērtējums pazīmei „izslaukums”
Estimated reliabilities of the trait “milk yield”**

Dzimšanas gads / Birth year	n	Drošība / Reliability, %				LM
		KDM (3.1.)	KDM (3.2.)	KDM (3.3.)	KDM (3.4.)	
Līdz / Until 1990	188	68	80	68	81	69
1991 – 1993	73	71	84	71	84	65
1994 – 1997	99	69	82	69	82	66
1998 – 1999	22	80	88	80	88	66
Vidēji / Average	382	70	82	70	82	67

KDM – kontroles dienas modelis / test day model

LM – laktācijas modelis / lactation model

6. tabula / Table 6

Drošības rādītāja novērtējums pazīmei „tauku daudzums”
Estimated reliabilities of the trait “fat yield”

Dzimšanas gads / Birth year	n	Drošība / Reliability, %				LM
		KDM (3.1.)	KDM (3.2.)	KDM (3.3.)	KDM (3.4.)	
Līdz / Until 1990	188	67	79	67	79	65
1991 – 1993	73	70	82	70	83	61
1994 – 1997	99	68	80	68	81	62
1998 – 1999	22	79	87	79	87	61
Vidēji / Average	382	69	80	69	81	63

KDM – kontroles dienas modelis / test day model

LM – laktācijas modelis / lactation model

7. tabula / Table 7

Drošības rādītāja novērtējums pazīmei „olbaltumvielu daudzums”
Estimated reliabilities of the trait “protein yield”

Dzimšanas gads / Birth year	n	Drošība / Reliability, %				LM
		KDM (3.1.)	KDM (3.2.)	KDM (3.3.)	KDM (3.4.)	
Līdz / Until 1990	188	70	82	75	80	65
1991 – 1993	73	73	85	78	84	61
1994 – 1997	99	71	83	75	82	62
1998 – 1999	22	81	89	84	88	62
Vidēji / Average	382	72	83	76	82	63

KDM – kontroles dienas modelis / test day model

LM – laktācijas modelis / lactation model

bet, iekļaujot pagasta–kontroles dienas faktoru, novērtējuma vidējā precizitāte palielinājās par 11–12%, salīdzinot ar laktācijas modeļa novērtējumu. Jaunāko buļļu grupā šī starpība attiecīgi ir no 14 līdz 22%.

Starp dažādu modeļu drošības rādītājiem pazīmei „izslaukums” statistiski būtiskas atšķirības ieguva, kad kontroles dienas modelī tika iekļauts pagasta–kontroles dienas faktors neatkarīgi no definēto laktācijas līkņu skaita ($p < 0.01$).

Pazīmei „tauku daudzums” drošības novērtējumi salīdzinājumā ar izslaukumu iegūti attiecīgi vidēji par 4% un 1–2% zemāki, izmantojot laktācijas un kontroles dienas modeli (6. tabula). Turpretim, salīdzinot novērtējumu starp laktācijas un kontroles dienas modeli, izmantojot kontroles dienas rādītājus, drošības rādītāji iegūti vidēji par 6–18% augstāki. Vecāko buļļu grupā šī starpība bija robežās no 2 līdz 14%, bet jaunākajiem buļļiem drošības novērtējums iegūts vidēji par 18–26% labāks.

Kontroles dienas modelī iekļaujot ganāmpulka–kontroles dienas faktoru, drošības novērtējums

pazīmei „tauku daudzums” iegūts augstāks vidēji no 2% vecāko buļļu grupā līdz 18% jaunāko buļļu grupā, salīdzinot ar laktācijas modeļa novērtējumu. Attiecīgi šo novērtējumu ieguva par 14 līdz 26% augstāku, kad kontroles dienas modelī tika iekļauts fiksētais pagasta–kontroles dienas faktors.

Starp dažādu modeļu drošības rādītājiem pazīmei „tauku daudzums” statistiski būtiskas atšķirības ieguva visos gadījumos ($p < 0.01$).

Pazīmei „olbaltumvielu daudzums” vidējo drošības rādītāju apkopojums (7. tabula) liecina, ka, izmantojot kontroles dienas rādītājus, vaislas buļļu novērtējuma vidējā drošība bija no 72 līdz 83%, kas ir par 9–20% augstāks nekā novērtējums, kas iegūts, izmantojot laktācijas 305 dienu rādītājus. Vecāko buļļu grupā starpība starp laktācijas un kontroles dienas modeļa novērtējumiem ir 2–14%, bet jaunāko buļļu grupā – 18–26%. Lielākā starpība ar laktācijas modeli iegūta, kontroles dienas modelī iekļaujot pagasta–kontroles dienas faktoru (26%), bet mazākā (2%), kad modelī tika iekļauts ganāmpulka–kontroles dienas faktors.

Visos gadījumos starp dažādu modeļu drošības rādītājiem pazīmei „olbaltumvielu daudzums” iegūtas statistiski būtiskas atšķirības ($p < 0.01$).

Schaeffer et al. (2000) un Lidauer et al. (2000) secina, ka vaislas buļļiem, kuru novērtējumā ir iekļauts liels meitu skaits, arī ar laktācijas modeli var iegūt augstas precizitātes novērtētās ciltsvērtības, tādēļ kontroles dienas modeļa priekšrocības galvenokārt attiecināmas uz buļļiem ar nelielu meitu skaitu.

Mostert (2007), analizējot fiksētās regresijas modeļa pieeju, norāda, ka ciltsvērtību drošības rādītājs kontroles dienas modelī ir sagaidāms augstāks nekā laktācijas modelī, jo īslaicīgos vides faktorus modelē, izmantojot modelī iekļauto ganāmpulka–kontroles dienas faktoru. Rezultātā arī kontroles dienas modeļa ciltsvērtību izkliede sagaidāma lielāka.

Secinājumi

Novērtētās ciltsvērtības buļļiem ar lielāku izkliedi iegūtas pirmo trīs laktāciju grupā, kā arī abās laktāciju grupās, kad fiksētās regresijas kontroles dienas modelī iekļauts pagasta–kontroles dienas faktors, kas izsaka lielākas atšķirības starp dzīvniekiem.

Salīdzinājumā ar 1. laktācijas grupu augstāki novērtēto ciltsvērtību drošības rādītāji iegūti pirmo trīs laktāciju grupā (15% līdz 21%), kā arī abās laktāciju grupās, kad fiksētās regresijas kontroles dienas modelī bija iekļauts pagasta–kontroles dienas faktors (1. laktācijas grupā no 3% līdz 5%, pirmo trīs laktāciju grupā no 6% līdz 13%).

Fiksētās regresijas kontroles dienas modeļa izmantošana, salīdzinot ar laktācijas modeli, vaislas buļļu ciltsvērtību novērtējumu ļauj iegūt ar augstāku drošības pakāpi: izslaukumam 3% līdz 15%, tauku daudzumam 6% līdz 18% un olbaltumvielu daudzumam 9% līdz 20%.

Literatūra

1. Ali, T.E., Schaeffer, L.R. (1987) Accounting for covariances among test day milk yields in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 67: 637-644.
2. Bormann, J., Wiggans, G.R., Druet, T., Gengler, N. (2003) Within-herd effects of age at test-day and lactation stage on test-day yields. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 86, 3765-3774.
3. Groeneveld, E. (1990) *PEST User's Manual*. Germany, 80 pp.
4. Jamrozik, J., Schaeffer, L.R., Dekkers, J.C.M. (1997) Genetic Evaluation of Dairy Cattle Using Test Day Yields and Random Regression Model. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 80, 1217-1226.
5. Jensen, J. (2001) Genetic evaluation of dairy cattle using test-day models. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 84, 2803-2812.
6. Lidauer, M., Mäntysaari, E.A., Strandén, I. (2003) Comparison of test-day models for genetic evaluation of production traits in dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.*, No. 79, 73-86.
7. Lidauer, M., Mäntysaari, E.A., Strandén, I., Pösö, J. (2000) Multiple-Trait Random Regression Test Day Model for all Lactations. *Proceedings of the 2000 Interbull Meeting, Interbull bulletin*, No. 25, 81-86.
8. Mostert, B.E. (2007) *The suitability of test-day models for genetic evaluation of dairy cattle in South Africa. Ph. D. Thesis*. University of Pretoria, South Africa, 71 pp.
9. Mostert, B.E., Theron, H.E., Kanfer, F.H.J., Van Marle-Köster, E. (2006) Fixed regression test-day models for South African dairy cattle for participation in international evaluations. *South African Journal of Animal Sci.*, No. 36, 58-70.
10. Mrode, R.A., Swanson, G.J.T., Lindberg, C.M. (2000) Efficiency of test-day models in genetic evaluation with part lactation information. *Proceedings of the 2001 Interbull Meeting, Interbull bulletin*, No. 25, 87-89.
11. Mrode, R.A., Swanson, G.J.T., Lindberg, C.M. (2002) Efficiency of part lactation test-day records for genetic evaluations using fixed and random regression models. *Journal of Animal Sci.*, No. 74, 189-197.
12. Paura, L. (1999) *Latvijas apstākļiem piemērota buļļu ciltsvērtēšanas modeļa izstrādāšana. Disertācija*. Jelgava, 105 lpp.
13. Pool, M.H., Meuwissen, T.H.E. (1997) Prediction of 305-Day Milk Yield from a Limited Number of Test Days Using a Test Day Model. *Proceedings of the 1997 Interbull Meeting, Interbull bulletin*, No. 16, 59-65.
14. Powel, R.L., Norman, H.D. (1981) Different lactations for estimating genetic merit of dairy cows. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 64, 321-330.
15. Ptak, E., Schaeffer, L.R. (1993) Use of test day yields for genetic evaluation of dairy sires and cows. *Livest. Prod. Sci.*, No. 34, 23-34.
16. Reents, R., Dopp, L., Schmutz, M., Reinhardt, F. (1998) Impact of application of a test day model to dairy production traits on genetic evaluation of cows. *Proceedings of the 1998 Interbull Meeting, Interbull bulletin*, No. 17, 49-54.
17. Schaeffer, L.R., Jamrozik, J., Kistemaker, G.J., Van Doormaal, B.J. (2000) Experience with a Test-Day Model. *Journal of Dairy Sci.*, No. 83, 1135-1144.
18. Swalve, H.H. (1995) Test day models in the analysis of dairy production data – a review. *Arch. Anim. Breed.*, No. 38, 591-612.
19. Swalve, H.H. (1998) Use of test day records for genetic evaluation. *Proceedings of 6th World*

- Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Armidale, New South Wales, Australia*, No. 23, 295-302.
20. Swalve, H.H. (2000) Theoretical Basis and Computational Methods for Different Test-Day Genetic Evaluation Methods. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 83, 1115-1124.
21. *The Little SAS Book: A Primer.* (1995) Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 228 pp.
22. Wiggans, G.R., Goddard, M.E. (1997) A Computationally Feasible Test Day Model for Genetic Evaluation of Yield Traits in the United States. *Journal of Dairy Sci.*, Vol. 80, 1795-1800.

Distribution of Growth Stimulating and Degradation Factors in Cow Endometrium in Postparturition Period

Augšanu stimulējošo un degradācijas faktoru izplatība govs endometrijā pēcdzemdību periodā

Ilga Šematoviča, Aleksandrs Jemeljanovs

Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra”, LLU
LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”

e-mail: sigra@lis.lv

Māra Pilmane

Institute of Anatomy and Anthropology, Riga Stradins University
Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūts

e-mail: pilmane@latnet.lv

Abstract. The aim of the research was to reveal distribution of the growth stimulating and degradation factors, inflammatory factors, and neuropeptide-containing innervation, as well as apoptosis in the cow's endometrium in postparturition period. Haematoxylin and eosin were used for routine staining of each sample. Matrix metalloproteinases type 2 and type 9 (MMP-2 un MMP-9, working dilution (w.d.) 1:100, R&D, England), tumor necrosis factor- α (TNF- α , w.d. 1:100, Abcam, England), interleukin-10 (IL-10, w.d. 1:400, Abcam, England), vascular endothelial growth factor (VEGF, w.d. 1:50, DakoCytomation, Denmark), nerve growth factor receptors p75 (NGFR p75, w.d. 1:150, DakoCytomation, Denmark), and protein gene product 9.5 (PGP 9.5, w.d. 1:1600, DakoCytomation, Denmark) were detected immunohistochemically (IMH). TUNEL method was used for detection of apoptosis (programmed cells death – PCD). A mild positive correlation ($p < 0.05$) was observed between amount of inflammatory cells and TNF- α ($r = 0.52$), PCD and TNF- α ($r = 0.58$), TNF- α and NGFR p75 ($r = 0.51$), NGFR p75 and PGP 9.5 ($r = 0.49$), VEGF and PCD ($r = 0.59$), and VEGF and NGFR p75 ($r = 0.64$). A strong positive correlation ($p < 0.01$) was observed between TNF- α and VEGF ($p < 0.01$; $r = 0.72$), as well as between VEGF and NGFR p75 ($r = 0.64$). The research suggests that uterus endometrial tissue degradation and repairing were in balance during postparturition. The intensity level of tissue repairing process in the cow's endometrium was specific for the individual organism, which might be connected with immunity of each of them.

Key words: cow's endometrium, matrix degradation factors, growth factors, inflammatory factors.

Introduction

Time after parturition regarding successful involution is one of the most critical for optimal function of the reproductive system in the subsequent lactations and gestation periods (Twardoń et al., 2002). Substantial morpho-physiological changes occur in uterus tissue, blood vessels, and nerves during the reproductive cycle and gestation (Zoubina et al., 1998; Hickey et al., 2003). Insufficient awareness still persists concerning endometrium changes, distribution of the growth stimulating factors, and apoptosis in the cow's endometrium in postparturition period. Varied alterations happen exactly in extracellular matrices (ECM) of the uterus cells regulated by matrix metalloproteinases (MMP) and other factors during each reproductive cycle and depending on the physiological stage (Curry Jr and Osteen, 2001).

These proteolyses regulate composition of ECM by releasing (making place for) the biologically active sites on cells' surfaces (Jacob, 2003). Thereby MMP as zinc-depending endopeptidases provide and maintain homeostasis of ECM in cells. There are more than 20 members of MMP known in mammals that take part in ECM degradation in different physiological and pathological processes (Curry Jr and Osteen, 2001; Kliem, 2006). Genetically determined cells death termed apoptosis or programmed cells death (PCD) is one of the homeostatic mechanisms that results in disposing of tissues from old, defective, deteriorated, and needless cells (Kliem, 2006).

Inflammatory factors have an important role in successful involution process, because increased infiltration of endometrium with inflammatory cells, like macrophages, lymphocytes, etc., is characteristic

for postparturition period (Емельянова, 1974), as well as number of inflammatory cells in the endometrium are closely related with the different stages of the oestrus cycle (Kaoket, 2003).

Interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) as inflammatory markers take part in different processes in cow's uterus in postparturition period; besides, TNF- α is mentioned to be one of inductors of apoptosis (Kliem, 2006).

In the uterus tissue nerve fibres, changes in the amount of protein gene product (PGP 9.5) are observed in correlation with different biological processes (Tingaker et al., 2006). Nerve growth factors (NGF) stimulate alimention, survival, and differentiation of the neurons (Davidson et al., 2003; Wilcox et al., 2004), but innervation is important for metabolic processes in all types of tissues.

Increased expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) observed in repairing processes in tissues is described as a response to hypoxic stimuli (Scott et al., 1998; Ankoma-Sey et al., 2000).

The aim of the investigation was to find out presence and distribution of growth stimulating and degradation factors, as well as qualitative and quantitative correlations between those factors and substances in cow endometrium in postparturition period.

Materials and Methods

Biopsy samples from the cow's uterus were taken in winter 2004/2005 on the research and training farm "Vecauce". Nine cows were biopsied twice – in the first and fifth week of postparturition period. Histological investigations were performed at the Institute of Anatomy and Anthropology of Riga Stradins University. Routine staining with haematoxylin and eosin was performed for each endometrium sample (Aughey, Frye, 2001). Immunohistochemically (ИМН) were detected: matrix metalloproteinases type 2 and type 9 (Anti-human MMP-2 antibody / AF902 and Anti-mouse MMP-9 antibody / AF909, working dilution (w.d.) 1:100, R&D, England), tumor necrosis factor- α (Rabbit Polyclonal to TNF- α / ab6671, w.d. 1:100, Abcam, England), interleukin-10 (Rabbit Polyclonal to IL-10 / ab34843, w.d. 1:400, Abcam, England), vascular endothelial growth factor (Anti-human VEGF / M 7273, w.d. 1:50, DakoCytomation, Denmark), nerve growth factor receptors p75 (Anti-human NGFR p75 / M3507, w.d. 1:150, DakoCytomation, Denmark), and protein gene product 9.5 (Polyclonal Rabbit Anti-PGP 9.5 / Z 5116, w.d. 1:1600, DakoCytomation, Denmark) (Hsu et al., 1981). TUNEL method was used for detection of apoptosis (Negoescu et al., 1998). Distribution of these factors and substances was determined semiquantitatively by counting

positive structures in visual fields (0 – occasional, + – few, ++ – moderate, +++ – numerous positive structures). For the data statistical processing the following methods were used: Student's t-test, Wilkinson's test, and statistical correlation analyses (Paura, Arhipova, 2002; Arhipova, Bălița, 2003).

Results

Distribution of the researched factors in cow's endometrium in the first and fifth week after parturition is displayed in Tables 1 and 2, respectively.

A significantly increased number of inflammatory cells ($p < 0.01$), especially the number of macrophages ($p < 0.05$), intensity of TNF- α ($p < 0.01$) and VEGF expressing ($p < 0.05$), as well as amount of NGFR p75 ($p < 0.05$) were observed in cow's endometrium from the first up to the fifth week after parturition.

A mild positive correlation ($p < 0.05$) was observed between amount of inflammatory cells and TNF- α ($r = 0.52$), number of apoptotic cells and TNF- α ($r = 0.58$), TNF- α and NGFR p75 ($r = 0.51$), NGFR p75 and PGP 9.5 ($r = 0.49$), VEGF and PCD ($r = 0.59$), and VEGF and NGFR p75 ($r = 0.64$). A strong positive correlation ($p < 0.01$) was detected between TNF- α and VEGF containing structures ($p < 0.01$; $r = 0.72$), as well as between VEGF and NGFR p75 ($r = 0.64$).

Discussion

The intensity of metabolic processes regarding tissue repairing processes is more intensive in the fifth week after parturition than in the first week, because at that time a statistically significant increase in the number of inflammatory cells is observed in cow's endometrium. Infiltration of endometrium with inflammatory cells has always been observed in early postparturition period, as a wide spectrum of microorganisms are found in cow's uterus after parturition (Зверева, Хомин, 1976; Twardon et al., 2002; Lewis, 2003).

In the literature, different data are found on the resumption of cyclicity in dairy cows – in the first four weeks (Dzenīte, Jonins, 1989), and in six up to seven weeks (Kask et al., 1998; 1999; 2003) after parturition; whereas increase in infiltration with inflammatory cells depending on the phase of the reproductive cycle has been detected only by a few authors, for example, Kaoket (2003).

Cytokine IL-10, mediator of inflammation, is released not only by CD4⁺T cells, but also by endometrial glandular and epithelial cells (Sallinen et al., 2000; El-Sherif et al., 2001). Expression of IL-10 is related to the reproductive cycle phases but not to inflammatory processes in the uterus, namely, expression of IL-10 increases in the secretory phase (Gamo et al., 2007).

Table 1

Distribution of the growth stimulating and degradation factors, inflammatory factors, and neuropeptide-containing innervation, as well as apoptosis in the cow endometrium in the 1st week after parturition

Cow's name	No. of a sample / week	Inflammatory cells in endometrium	IL-10	TNF- α	Apoptotic cells in endometrium, %	MMP-9	MMP-2	VEGF	NGFR (p75)	PGP 9.5
Tapa	F2 / 1	3.3 \pm 2.73	+	-	34.5 \pm 3.20	+++	+	-	-	++
Esma	F3 / 1	14.7 \pm 7.63	-	-	25.2 \pm 3.15	+++	+	-	-	+
Dakota	F4 / 1	13.7 \pm 12.94	+	-	++	+	-	++	++
Tērvete	F5 / 1	15.0 \pm 4.20	++	-	30.2 \pm 5.50	++	+	-	+	-
Vaida	F6 / 1	23.7 \pm 8.36	-	-	14.0 \pm 0.3	+++	+	-	+	+
Okence	F7 / 1	16.5 \pm 2.43	-	++	+	+	-	-	+
Elba	F8 / 1	11.2 \pm 7.19	+	+	+++	+	-	+	+
Akāce	F9 / 1	27.2 \pm 4.02	-	++	++	+	-	-	+
Loda	F10 / 1	4.8 \pm 1.19	+++	-	21.6 \pm 28.85	++	+	-	-	+

Notations: IL-10 – interleukin-10; TNF- α – tumor necrosis factor- α ; MMP-9 and MMP-2 – matrix metalloproteinases type 2 and type 9; VEGF – vascular endothelial growth factor; NGFR p75 – nerve growth factor receptors p75; PGP 9.5 – protein gene product 9.5;

- - no cells contain VEGF, NGFR p75, PGP 9.5, and TNF- α ;

+ - few cells contain VEGF, NGFR p75, PGP 9.5, and TNF- α ;

++ - moderate number of cells contain VEGF, NGFR p75, PGP 9.5, and TNF- α ;

+++ - numerous cells contain VEGF, NGFR p75, PGP 9.5, and TNF- α .

Table 2

Distribution of the growth stimulating and degradation factors, inflammatory factors, and neuropeptide-containing innervation, as well as apoptosis in the cow endometrium in the 5th week after parturition

Cow's name	No. of a sample / week	Inflammatory cells in endometrium	IL-10	TNF- α	Apoptotic cells in endometrium, %	MMP-9	MMP-2	VEGF	NGFR (p75)	PGP 9.5
Tapa	1 / 5	32.5 \pm 7.18	-	+	28.9 \pm 6.15	++	+	-	++	+++
Esma	7 / 5	45.2 \pm 32.02	+	+	63.2 \pm 1.50	++	+	-	-	+
Dakota	3 / 5	34.5 \pm 11.18	+++	+++	+++	+	+	++	+
Tērvete	2 / 5	25.0 \pm 4.15	++	++	12.9 \pm 0.85	++	+	-	+	+
Vaida	6 / 5	46.2 \pm 7.17	-	++	62.5 \pm 7.8	++	+	-	-	+
Okence	8 / 5	19.3 \pm 13.87	+	+++	74.0 \pm 14.35	+++	+	+	++	+
Elba	9 / 5	29.3 \pm 6.02	+	+++	++	+	+	+++	++
Akāce	5 / 5	29.5 \pm 4.76	-	+	++	+	+	+++	+
Loda	4 / 5	45.3 \pm 13.06	++	++	23.8 \pm 4.00	++	+	-	+++	+

Notations: see Table 1.

Cytokine TNF- α , besides its other functions, improves growth, differentiation and functioning of cells in the uterus during the reproductive cycle and gestation; however, it has no influence on expression

and action of MMP-9 in endometrial stromal cells (Gamo et al., 2007).

We determined an increased number of apoptotic cells in endometrium from the first up to fifth week

after parturition, which might be explained by the fact that tissues of the uterus are at the end of involution in the fifth week after parturition, and are more compact than in the first week when they are outstretched and with oedema. Apoptosis is described as a physiological process in different types of glandular tissues of the reproductive system during their involution processes (Walker et al., 2005). A mild positive correlation between the number of apoptotic cells and number of macrophages in endometrium ($r=0.54$; $p<0.1$) can be explained by the fact that TNF- α is one of inducers of apoptosis (Zhdanov et al., 2003).

The amount of MMP-2 positive structures in cow's endometrium in postparturition period practically did not change. Intensity of MMP-9 expression statistically significantly decreased from the first to the fifth week after parturition, which proves decreasing in the degenerative processes during that time. Our research results partly agree with conclusions found in the literature that during the first ten days of postparturition period, degenerative processes in endometrium prevail, whereas regenerative processes become active later after parturition (Shea, Wright, 1984; Емельянова, 1974). It should be noted that the research made by other authors is based only on histological investigations.

More recent investigations indicate the important role of MMP-2 and MMP-9 in delivering fetal membranes after parturition (Takagi et al., 2006). Other authors have found that MMP-9 is regulated by estrogens, and it is significant for uterus tissue remodeling regarding the reproductive cycle (Zhang et al., 2006), which was not researched in our present study.

The research suggests that increase in PGP9.5 and NGFR p75 in endometrium at that time is induced by inflammatory mediators like IL-10 and TNF- α , because the PGP9.5 and NGFR increase in tissues is characteristic of regenerative processes as well as processes of tissue innervation reconstruction. The changes in innervation regarding reproductive cycle were proved (Zoubina et al., 1998), as well as the fact that increased innervation promotes blood flow in tissues (Blacklock, Smith, 2004).

VEGF-containing structures were found in endometrial blood vessels and under epithelium only in the fifth week after parturition. VEGF is an important signal protein – cytokine – involved in angiogenesis of the embryonic as well as adult organism from the existing vascular tissues (Wei et al., 2004; Wang et al., 2003; Halder et al., 2000; Guidi et al., 1998). The activity of VEGF is oriented to the endothelial cells of blood vessels and its influence on other types of cells as monocyte/macrophage stimulation was established. The ability of VEGF to stimulate mitogenesis of endothelial cells

and migration of cells was also observed. That also enhances the microvascular permeability *in vitro*, which is why VEGF is sometimes referred to as a vascular permeability factor (Halder et al., 2000). It is probable that VEGF expression found only in the fifth week after parturition in our investigation can be associated with the increased amount of inflammatory cells in endometrium at that time. The production of VEGF can be induced in the cells which have not received enough oxygen, and then these cells produce transcription factor, namely, hypoxia inducible factor (HIF). Among other functions (modulation of erythropoiesis), HIF stimulates VEGF production (Ankoma-Sey et al., 2000).

An ischemia of endometrial tissues in the fifth week after parturition can be raised by intensive metabolic processes connected with inflammatory processes in uterus tissue in postparturition period. One of the reasons of increased expression of VEGF in inflammatory process is the already mentioned activity of TNF- α (Scott et al., 1998). Whereas in our investigation, statistically significant ($p<0.01$) increase in TNF- α positive structures, as well as strong positive correlation ($p<0.01$; $r=0.72$) among TNF- α and VEGF positive structures in cow's endometrium were observed in the fifth week after parturition. Several authors have found that the VEGF expression, localization, and intensity in endometrium depend on the phase of reproductive cycle in the woman and in the cow (Wijayagunawardane et al., 2005; Wei et al., 2004; Zhang et al., 2006). Investigations on the resumption of the reproductive cycle after parturition were not the aim of our research.

Conclusions

1. Expression of NGFR p75, VEGF, and TNF- α positive structures as well as correlation between these structures indicate their reciprocal stimulation in the endometrium of the cow from the first to fifth week after parturition.
2. The increased amount of VEGF, NGFR p75, TNF- α , and PGP 9.5 positive structures in the endometrium of the cow indicate the intensification of regenerative processes in connection with inflammatory process in cow's endometrium in the fifth week after parturition.
3. The decrease in the amount of MMP-9 positive structures in the cow's endometrium from the first to fifth week after parturition indicates the attenuation of degenerative processes and the role of MMP-9 in fetal membrane delivering processes. The unchangeable amount of MMP-2 positive structures in the cow endometrium indicates stability of respective structures at that period.

References

- Ankoma–Sey, V.M.D., Wang, Y., Dai, Z. (2000) Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology*, Volume 31, Issue 1, 141-148.
- Arhipova, I., Bāliņa, S. (2003) *Statistika Ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Mikrosoft Excel*. Rīga: Datorzinību centrs, 352 lpp.
- Aughey, E., Frye, F.L. (2001) *Comparative veterinary histology with clinical correlates*. Manson Pub.Ltd., London, 14-127.
- Blacklock, A.D., Smith, P.G. (2004) Estrogen increases calcitonin gene-related peptide-immunoreactive sensory innervation of rat mammary gland. *Journal of neurobiology*, Vol. 59, Issue 2, 192-204.
- Curry Jr, T.E., Osteen, K.G. (2001) Cyclic changes in the matrix metalloproteinases system in the ovary and uterus. *Biology of reproduction*, Vol. 64, 1285-1296.
- Davidson, B., Reich, R., Lazarovici, P., Nesland, J.M., Skrede, M., Risberg, B., Tropé, C.G., Flørenes, V.A. (2003) Expression and activation of the nerve growth factor receptor TrkA in serous ovarian carcinoma. *Clinical cancer research*, Volume 9, 2248-2259.
- Dzenīte, A., Jonins, V. (1989) *Govju mākslīgā apsēklošana*. Rīga: Avots, 150 lpp.
- El-Sherif, A.M., Seth, R., Tighe, P.J., Jenkins, D. (2001) Quantitative analysis of IL-10 and IFN-gamma mRNA levels in normal cervix and human papillomavirus type 16 associated cervical precancer. *Journal of pathology*, 195(2):179-85.
- Gamo, T., Yamauchi, N., Nishimura, K., Watanabe, R., Matsumoto, K., Oozono, S., Kubota, K., He, P., Soh, T., Hattori, M. (2007) Effects of tumor necrosis factor- α on cell proliferation, prostaglandins and matrix-metalloproteinases production in rat endometrial stromal cells cultured in vitro. *Journal of experimental zoological genetics and physiology*, Vol. 307A, Issue 12, 699-707.
- Guidi, A.J., Abu-Jawdeh, G., Tognazzi, K., Dvorak, H.F., Brown, L.F. (1998) Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in endometrial carcinoma. *Cancer*, Volume 78, Issue 3, 454-460.
- Halder, J.B., Zhao, X., Soker, S., Paria, B.C., Kagsbrun, M., Das, S.K., Dey, S.K. (2000) Differential expression of VEGF isoforms and VEGF₁₆₄-specific receptor neuropilin-1 in the mouse uterus suggests a role for VEGF₁₆₄ in vascular permeability and angiogenesis during implantation. *Genesis*, Volume 26, Issue 3, 213-224.
- Hickey, M., Fraser, I. (2003) Human uterine vascular structures in normal and diseased states. *Microscopy research and technique*, Volume 60, Issue 4, 377-389.
- Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. (1981) The use of antiavidin antibody and biotin-streptavidin peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am. J. Clin. Pathol.*, Vol. 75, p. 816.
- Jacob, P.M. (2003) Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 57, Issue 5, 195-202.
- Kaoket, K. (2003) Infiltration by cells of the immune system in the sow endometrium. With special reference to different stages of the oestrus cycle and after pre- and post-ovulatory insemination. *Acta universitatis agriculturae sueciae Veterinaria*, Vol. 136, p. 170.
- Kask, K., Gustafsson, H., Magnusson, U., Bertilsson, J., Gunnarsson, A., Kindahl, H. (1999) Uterine bacteriology, histology, resumption of ovarian activity and granulocyte function of the postpartum cow in different milking frequencies. *Acta Vet. Scand.*, 40(4), 287-297.
- Kask, K., Kindahl, H., Gustafsson, H. (1998) Bacteriological and histological investigation of the postpartum bovine uterus in two Estonian dairy herds. *Acta Vet. Scand.*, 39 (4): 423-432.
- Kask, K., Kurykin, J., Lindjärv, R., Kask, A., Kindahl, H. (2003) Assessment of early postpartum reproductive performance in two high producing Estonian dairy herds. *Acta Vet. Scand.*, 44, 131-143.
- Kliem, H.S. (2006) *Investigations of extracellular matrix proteases, apoptotic and anti-apoptotic factors in the bovine corpus luteum*. Inaugural-Dissertation. Friedberg/Hessen, München, 155 p.
- Lewis, G.S. (2003) Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reproductive biology and endocrinology*, 1:117: <http://www.rbej.com/content/1/1/117/abstract> – Accessed on 25.03.2008.
- Negoescu, A., Guillermet, Ch., Lorimer, Ph., Robert, C., Lantuejoul, S., Brambilla, E., Labat-moleur, F. (1998) *Biochemica*, Vol. 3, 36-41.
- Paura, L., Arhipova, I. (2002) *Neparametriskās metodes. SPSS datorprogramma*. Jelgava, 148 lpp.
- Sallinen, K., Veräjänkorka, E., Pöllänen, P. (2000) Expression of antigens involved in the presentation of lipid antigens and induction of clonal anergy in the female reproductive tract.

- Journal of reproductive immunology*, Vol. 46, No. 2, 91-101.
24. Scott, P.A.E., Gleadle, J.M., Bicknell, R., Harris, A.L. (1998) Role of the hypoxia sensing system, acidity and reproductive hormones in the variability of vascular endothelial growth factor induction in human breast carcinoma cell lines. *International journal of cancer*, Vol. 75, Issue 5, 706-712.
 25. Shea, J.D.O., Wright, P.J. (1984) Involution and regeneration of the endometrium following parturition in the ewe. *Cell and Tissue Research*, Vol. 236, No. 2, 477-485.
 26. Takagi, M., Yamamoto, D., Ohtani, M., Miyamoto, A. (2006) Quantitative analysis of messenger RNA expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9), tissue inhibitor-2 of matrix metalloproteinases (TIMP-2), and steroidogenic enzymes in bovine placentomes during gestation and postpartum. *Molecular reproduction and development*, Vol. 74, Issue 7, 801-807.
 27. Tingaker, B.K., Johansson, O., Cluff, A.H., Ekman-Ordeberg, G. (2006) Unaltered innervation of the human cervix uteri in contrast to the corpus during pregnancy and labor as revealed by PGP 9.5 immunohistochemistry. *European Journal Obstetric Gynecology Reproduction Biology*, 125 (1):66-71.
 28. Twardon, J., Dejneka, G.J., Błaszczowska, M., Trześowski, P. (2002) The influence of simpanorm (carazolol) on puerperal period course in dairy cows. Wrocław, Poland: http://216.239.59.104/search?q=cache:vqm2wmjRKn4J:www.fatro.it/fatro_gb/News/Vetupdates/Files/DOC/SIMPANOR.DOC+The+influence+of+Simpanorum&hl=lv&ct=clnk&cd=1&gb=lv – Accessed on 01.02.2007.
 29. Walker, N.I., Bennet, R.E., Kerr, J.F.R. (2005) Cell death by apoptosis during involution of the lactating breast in mice and rats. *American journal of anatomy*, Vol. 185, Issue 1, 19-32.
 30. Wang, H., Li, Q., Lin, H., Yu, X., Qian, D., Dai, J., Duan, E., Zhu, C. (2003) Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in the rhesus monkey (*Macaca mulata*) endometrium and placenta during early pregnancy. *Molecular reproduction and development*, Vol. 65, Issue 2, 123-131.
 31. Wei, P., Chen, X., Song, X., Han, C., Liu, Y. (2004) VEGF, bFGF, and their receptors in the endometrium of rhesus monkey during menstrual cycle and early pregnancy. *Molecular reproduction and development*, Vol. 68, Issue 4, 456-462.
 32. Wijayagunawardane, M.P.B., Kodithuwakku, S.P., Yamamoto, D., Miamoto, A. (2005) Vascular endothelial growth system in the cow oviduct: a possible involvement in the regulation of oviductal motility and embryo transport. *Molecular reproduction and development*, Vol. 72, Issue 4, 511-520.
 33. Wilcox, B.J., Applegate, M.D., Portera-Cailliau, C., Koliatsos, V.E. (2004) Nerve growth factor prevents apoptotic cell death in injured central cholinergic neurons. *The journal of comparative neurology*, Vol. 359, Issue 4, 573-585.
 34. Zhang, X., Christenson, L.K., Nothnick, W.B. (2006) Regulation of MMP-9 expression and activity in the mouse uterus by oestrogen. *Molecular reproduction and development*, Vol. 74, Issue 3, 321-331.
 35. Zhdanov, A. V., Kurbanova, D.F., Davydova, M. P., Sosulina, L. Yu., Ezhova, L.S., Sukhikh, G.T. (2003) Apoptosis in fimbriae of fallopian tubes and endometrium in pyoinflammatory adnexal diseases. *Bulletin of experimental biology and medicine*, Vol. 135, No. 2/Febr., 150-153.
 36. Zoubina, E.V., Fan, Q., Smith, P.G. (1998) Variations in uterine innervation during the estrus cycle in rat. *The journal of comparative neurology*, Vol. 397, Issue 4, 561-571.
 37. Емельянова, М. (1974) Гистоморфологические и гистохимические изменения основных структур эндометрия после отёла. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Сигулда, 194 стр.
 38. Зверева, Г.В., Хомин, С.П. (1976) Гинекологические болезни коров. Киев: Урожай, 152 с.

Anotācija

Pētījuma mērķis bija noskaidrot dažus augšanas un degradācijas procesus, iekaisuma faktoru un neuropeptīdus saturošo pozitīvo komponentu daudzumu un mijiedarbību govju endometrijā saistībā ar dzemdes audu pārmaiņām specifisku, endogēnu bioloģiski aktīvu vielu ietekmē pēcdzemdību periodā govīm. Biopsijas paraugi ņemti no deviņām Latvijas brūnās šķirnes govīm LLU MPS „Vecauce” 2004./2005. gada ziemas perioda pirmajā nedēļā un atkārtoti četras nedēļas pēc atnešanās. Iegūtie materiāli izmeklēti RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijās. Noteikts apoptotisko šūnu daudzums ar TUNEL diagnostikas metodi. Imūnhistoķīmiski noteiktas matricēs metalloproteināzes 2 un 9 (MMP-2 un MMP-9, darba atšķaidījums 1:100,

R&D, Anglija), audzēju nekrotiskais faktors- α (TNF- α , darba atšķaidījums 1:100, *Abcam*, Anglija), interleikīns-10 (IL-10, darba atšķaidījums 1:400, *Abcam*, Anglija) un proteīngēna peptīds 9.5 (PGP 9.5, darba atšķaidījums 1:1600, *DakoCytomation*, Dānija). Veikta eozīna/hematoksilīna audu krāsošana. Pozitīvo struktūru daudzums vērtēts semikvantitatīvi trīs reprezentatīvos redzes laukos. Datu statistiskajā apstrādē lietoti Stjudenta t-tests, Vilkinsona tests, divfaktoru un daudzfaktoru korelāciju tests. Laikā no pirmās līdz piektajai nedēļai pēc dzemdībām novērots statistiski nozīmīgs iekaisuma šūnu infiltrācijas palielinājums un TNF- α , VEGF un NGFR p75 pozitīvo struktūru daudzuma pieaugums govs endometrijā ($p < 0.05$). Vidēja, statistiski nozīmīga ($p < 0.05$) pozitīva korelācija novērota starp iekaisuma šūnu daudzumu un TNF- α ($r = 0.52$), apoptotisko šūnu daudzumu un TNF- α ($r = 0.58$), TNF- α un NGFR p75 ($r = 0.51$), NGFR p75 un PGP 9.5 ($r = 0.49$), VEGF un apoptotisko šūnu daudzumu ($r = 0.59$). Pētījums parādīja minēto faktoru un iekaisuma marķieru līdzsvarotu mijiedarbību govs endometrijā fizioloģiskā pēcdzemdību periodā, kā arī minēto komponentu un faktoru darbības intensitātes atšķirības atsevišķu indivīdu starpā, iespējams, atkarībā no imūnsistēmas kvalitātes.

Matrices metalloproteināzes, interleikīns-10, tumoru nekrotiskais faktors- α , neuropeptīdi un apoptoze govju endometrijā pēcdzemdību periodā
Matrix Metalloproteinases, Interleukine-10, Tumor Necrosis Factor- α , Neuropeptides and Apoptosis in Cow Endometrium in Postparturition Period

Iga Šematoviča, Aleksandrs Jemeljanovs

LLU Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Siga”
Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Siga”, LLU
e-mail: sigra@lis.lv

Māra Pilmane

Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūts
Institute of Anatomy and Anthropology, Riga Stradins University
e-mail: pilmane@latnet.lv

Abstract. Cow's uterus biopsy samples were taken in winter 2004/2005 at the research and training farm "Vecauce". Histological investigations were performed at the Institute of Anatomy and Anthropology of Riga Stradins University. Nine cows were biopsied twice: in the first and fifth week of postparturition. The aim of the research was to reveal inflammatory factors, neuropeptide-containing innervations, and apoptosis in the endometrium of cows in postparturition period. The results showed significant increase in the number of inflammatory cells, TNF- α , and apoptotic cells in endometrium between first and fifth week after parturition ($p < 0.01$). A mild positive correlation was found between the number of apoptotic cells and macrophages in endometrium ($r = 0.54$; $p < 0.1$). In cow's endometrium, expression of MMP-2 was observed in macrophages, but it was not characteristic of processes in the cow's uterus in postparturition period. Compared to MMP-2 expression, MMP-9 expression was significantly higher ($p < 0.05$) and was characteristic of cow's uterus in postparturition. No statistically significant correlation was found between cells expressing IL-10, MMP-2, MMP-9, TNF- α , and PGP 9.5. A mild positive correlation ($r = 0.52$; $p < 0.05$) between the number of TNF- α positive cells and infiltration of endometrium with inflammatory cells was detected. A mild positive correlation ($r = 0.58$; $p < 0.05$) was observed between the number of TNF- α and apoptotic cells in the cows' endometrium. PGP 9.5 containing nerve fibers appeared around endometrial glands, walls of blood vessels, and in submucosal tissue and did not correlate with tissue infiltration by inflammatory cells, possibly due to the weakness of the immune system of individual animals.

Key words: cow's uterus in postparturition, matrix metalloproteinases, interleukine-10, tumor necrosis factor- α , protein gene product 9.5.

Ievads

Arvien aktuālāki kļūst pētījumi par bioloģiskajiem procesiem šūnās specifisku bioloģiski aktīvu vielu ietekmē, lai izprastu, prognozētu un vadītu pēcdzemdību perioda dzemdes involūcijas mikroprocesu norises gaitu un to ietekmējošo faktoru mijiedarbību.

Visi audu mikroprocesi saistās ar šūnu ekstracelulāro matrici (ECM), ar tās proteīniem un citām bioloģiski aktīvām vielām. Matrices metalloproteināzes (MMP) ir specifiski proteolītiski enzīmi, kas nodrošina un uztur ECM homeostāzi.

MMP un ar tām saistītie endogēnie inhibitori (TIMP – *tissue inhibitor of metalloproteinases*) kopā tiek apzīmēti par MMP sistēmu (MMPs). Pašlaik ir zināmi vairāk nekā 20 MMP pārstāvji (Kliem, 2006; Curry Jr and Osteen, 2001). Iekaisuma šūnas, īpaši makrofāgi, spēj sintezēt, uzkrāt un izdalīt MMP-2 un MMP-9. Ir zināms, ka makrofāgi spēj sekretēt vairāk nekā 100 dažādu vielu, piemēram, citokīnus, MMP, TIMP, augšanas faktorus un citus, tādā veidā modificējot ECM sastāvu dažādu procesu laikā.

MMP-2 (alternatīvi sauktas arī par 72 kDa želatināzi, želatināzi A, IV tipa kolagenāzi) substrāti

ir I, II, III, V, VII un X tipa kolagēns, elastīns, fibronektīns, želatīns un prokolagenāze-3. Savukārt MMP-9 (sauktas arī par 92 kDa želatināzi, želatināzi B) substrāti ir IV un V tipa kolagēns, elastīns un želatīns. Minētās vielas izdala dažādas organisma šūnas.

Viens no būtiskākajiem procesiem organismā un tieši govīm dzemdes involūcijas laikā ir apoptoze jeb programmētā šūnu nāve (PCD – *programmed cells death*). PCD ir ģenētiski noteikts, bioķīmiski specifisks šūnu nāves veids, kas iesākas ar specifiskiem signāliem un nelizosomālu endogēnu endonukleāžu aktivāciju, kā rezultātā šūnu kodola DNS tiek sašķelta fragmentos, atbrīvojot organismu no novecojušām, nevajadzīgām vai bojātām šūnām. Morfoloģiski PCD izpaužas ar atsevišķu haotiski novietotu šūnu nāvi. PCD inhibitori ir augšanas faktori, šūnu matrice, steroīdie hormoni, un dažu vīrusu olbaltumi. Savukārt PCD aktivatori ir: augšanas faktoru trūkums, saiknes ar matrici zaudēšana, glikokortikoīdi, daži vīrusi, brīvie radikāļi un jonizējošais starojums (Goyeneche and Telleria, 2005).

Interleikīni (IL) darbojas kā ķīmiski imūnsistēmas informācijas pārstāvji un piedalās hiperjutīguma un iekaisuma atbildes reakcijās, regulē T un B limfocītu aktivizāciju imūnatbildes reakcijas laikā uz antigēnu. Galvenais imūnregulējošo citokīnu avots organismā ir CD4⁺T šūnas, kas diferencējas T_H1 un T_H2 subpopulācijās. T_H2 šūnu un makrofāgu producētais IL-10 inhibē T_H1 šūnu producēšanu un makrofāgu funkcijas, bet T_H1 sekretē interferonu- γ (IFN γ), kurš aktivizē makrofāgus, inhibē B šūnas un ir toksisks atsevišķiem šūnu veidiem (Meyer and Harvey, 2004).

Aktivizēti makrofāgi producē citokīnu – audzēju nekrotisko faktoru alfa (TNF- α), kurš ir neglikozilēts proteīns ar 17 kDa molekulasu. Ir zināms, ka TNF- α stimulē prostaglandīna sintēzi luteālajās šūnās un samazina gonodotropīnu inducētu progesterona producēšanu govju luteālajās šūnās. TNF- α inducē apoptozi un šūnu proliferāciju (Kliem, 2006).

Iekaisuma atbildes reakcija ir minimizēt kairinātāja efektu, un šis mehānisms darbojas arī govīs dzimumceļos pēcdzemdību periodā. Galvenā atbilde uz kairinātāju ir šķidrums un šūnu uzkrāšanās bojāto audu vietā un mērķi norobežot bojāto apvidu. Tas ir aktīvs bioķīmisks process, kas ietver daudzas bioķīmiskas reakcijas ar funkcionālām un morfoloģiskām pārmaiņām. Viens no būtiskiem dzemdes morfoloģijas parametriem ir inervācijas izmaiņas dzemdes audos šajā periodā. To raksturo proteīngēnvielas (PGP 9.5) klātbūtne un tās daudzuma izmaiņas dažādu bioloģisku procesu mijiedarbībā dzemdes audos (Tingaker et al., 2006). PGP 9.5 ir citosolisks 24.8 kDa proteīns, kas pieder ubikvīnāi C-termināla hidrolāzes apakšklasei. Tā ir atrodama

mugurkaulnieku neironos un neuroendokrīnajās šūnās, kur ir aptuveni 1–5% no visiem šķīstošajiem proteīniem (Piccinini et al., 1996).

Latvijā līdz šim nebija veikti pētījumi par šūnu un to matricas bioloģiju govīs dzemdē. Pētījuma mērķis bija izziņāt iekaisuma faktoru un apoptozes izplatību govīs dzemdes audos pēcdzemdību periodā, kā arī savstarpēji korelēt minētās norises.

Materiāls un metodes

Pētījumā bija iekļautas deviņas Latvijas brūnās (LB) šķirnes govīs no LLU MPC „Vecauce” slaucamo govju ganāmpulka novietnes „Līgotnes” 2004./2005. gada ziemas periodā. Biopsijas paraugi no govju dzemdes ņemti pirmajā nedēļā pēc atnešanās un atkārtoti četras nedēļas pēc atnešanās ar oriģinālu biopsijas instrumentu, kas ražots uzņēmumā „Kruise”, Dānija. Pēc iegūšanas audu paraugi ievietoti neitrālā 12% formalīna šķīdumā, pH 7.5 (Humason, 1967), kurā tie uzglabāti līdz izmeklēšanai Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijā. Rutīnai gaismas mikroskopijai ar gaismas mikroskopu „Leica BME” govju dzemdes audu paraugi tika atūdeņoti, attaukoti un ielikti parafīna blokos, pēc tam griezti ar mikrotomu un krāsoti ar eozīnu un hematoksilīnu (Aughey and Frye, 2001).

Imūnhistoķīmiski noteiktas matricas metalloproteināzes-2 un -9 (MMP-2 un MMP-9, darba atšķaidījums – 1:100, „R&D”, Anglija), audzēju nekrotiskais faktors- α (TNF- α , darba atšķaidījums – 1:100, „Abcam”, Anglija), interleikīns-10 (IL-10, darba atšķaidījums – 1:400, „Abcam”, Anglija), proteīngēna peptīds 9.5 (PGP 9.5, darba atšķaidījums – 1:1600, „DakoCytomation”, Dānija) (Hsu et al., 1981). Apoptozes noteikšanai izmantojām TUNEL diagnostikas metodi (Negoescu et al., 1998). Datu statistiskajā apstrādē lietojām Stjudenta t testu vienas paraugkopas analīzei, Vilkinsona testu divu saistītu paraugkopu analīzei un divfaktoru un daudzfaktoru korelācijas analīzi (Arhipova un Bāliņa, 2003).

Rezultāti un diskusija

Govju endometrija histoloģiskie izmeklējumi parādīja statistiski nozīmīgu ($p < 0.01$) neitrofilo leukocītu, makrofāgu un limfocītu infiltrācijas palielinājumu laikā no pirmās līdz piektajai nedēļai pēc dzemdībām. Tas skaidrojams ar involūcijas procesu, kad dzemdes audos izzūd ar dzemdību procesu saistītā tūska, audi kļūst blīvāki un notiek dzemdību procesā radušās dzimumsistēmas infekcijas izskaušana, audu atjaunošanās un cikliskuma atsākšanās, kad savukārt novēro paaugstinātu polimorfonukleāro leukocītu aktivitāti. Infiltrācijas intensitāte starp atsevišķām

govīm variē, iespējams, inficēšanās pakāpes un individuālās imunitātes sprauguma dēļ (1. tabula).

Apoptotisko šūnu daudzums endometrija stromā no pirmās līdz piektajai nedēļai pēc atnešanās palielinājās par 30%, bet epitēlijā par 26%, pie kam pirmajā nedēļā pēc atnešanās tas bija līdzīgs

daudzumam epitēliālajās un stromas šūnās ($p>0.05$), bet četras nedēļas pēc atnešanās apoptotisko šūnu daudzums stromā bija lielāks nekā epitēliālajās šūnās ($p<0.01$) (1. att.). Apoptotisko šūnu koncentrācijas pieaugums dzemdes audu stromā varētu būt skaidrojams ar to, ka govys dzemde četras nedēļas pēc

1. tabula / Table 1

**Iekaisuma šūnu infiltrācija, apoptoze un bioloģiski aktīvas vielas govys endometrijā
1. un 5. nedēļā pēc dzemdībām**
**Inflammatory cell infiltration, apoptosis and biological substances in cow's endometrium in the
1st and 5th week postparturition**

Parauga Nr. / No. of a sample	Nedēļa / Week	Iekaisuma šūnas endometrijā / Inflammation cells in endometrium	Apoptoze endometrijā / Apoptosis in endometrium	MMP-9	MMP-2	IL-10	TNF- α	PGP 9.5
Tapa/F2	1.	3.3±2.73	34.5±3.20	+++	+	+	-	++
Tapa/1	5.	32.5±7.18	28.8±6.15	++	+	-	+	+++
Esma/F3	1.	14.7±7.63	25.2±3.15	+++	+	-	-	+
Esma/7	5.	45.2±32.02	63.2±1.50	++	+	+	+	+
Dakota/F4	1.	13.7±12.94	++	+	+	-	++
Dakota/3	5.	34.5±11.18	+++	+	+++	+++	+
Tērvete/F5	1.	15.0±4.20	30.2±5.50	++	+	++	-	-
Tērvete/2	5.	25.0±4.15	12.8±0.85	++	+	++	++	+
Vaida/F6	1.	23.7±8.36	14.0±0.30	+++	+	-	-	+
Vaida/6	5.	46.2±7.17	62.5±7.80	++	+	-	++	+
Okence/F7	1.	16.5±2.43	+	+	-	++	+
Okence/8	5.	19.3±13.87	74.0±14.35	+++	+	+	+++	+
Elba/F8	1.	11.2±7.19	+++	+	+	+	+
Elba/9	5.	29.3±6.02	++	+	+	+++	++
Akāce/F9	1.	27.2±4.02	++	+	-	++	+
Akāce/5	5.	29.5±4.76	++	+	-	+	+
Loda/F10	1.	4.8±1.19	21.6±28.85	++	+	+++	-	+
Loda/4	5.	45.3±13.06	23.8±4.00	++	+	++	++	+

Apzīmējumi: MMP – matrices metalloproteināze; IL – interleikīns; TNF – tumor nekrotiskais factors; PGP – proteīngēni

- - nav MMP, IL, TNF- α , PGP 9.5 un apoptozes šūnās

+ - nedaudz šūnu satur MMP, IL, TNF- α un PGP 9.5

++ - vidējs daudzums šūnu satur MMP, IL, TNF- α un PGP 9.5

+++ - daudz šūnu satur MMP, IL, TNF- α un PGP 9.5

++++ - ļoti daudz šūnu satur MMP, IL, TNF- α un PGP 9.5

Notations: MMP – matrix metalloproteinasis; IL – interleukin; TNF – tumor necrosis factor;

PGP – protein gene product

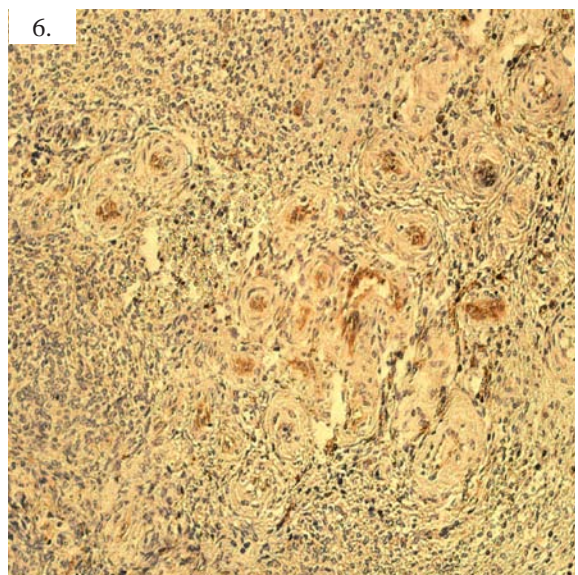
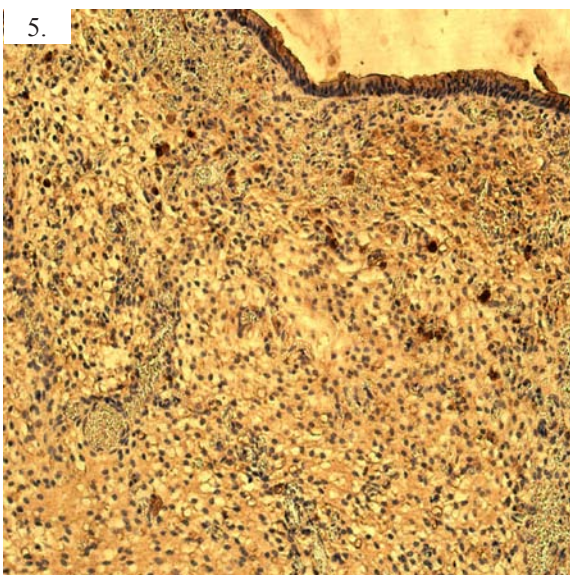
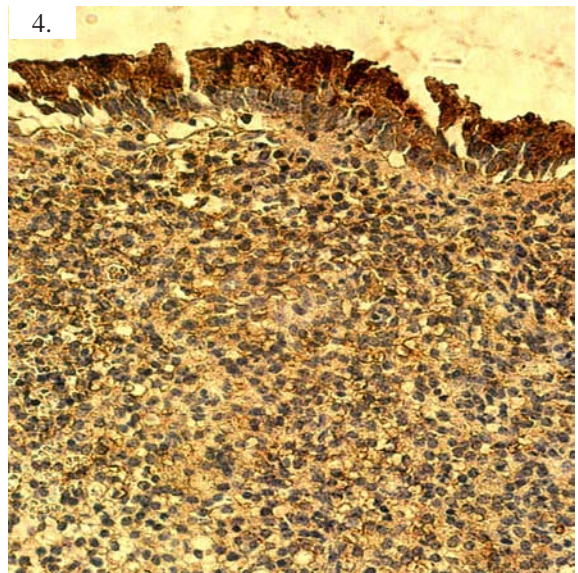
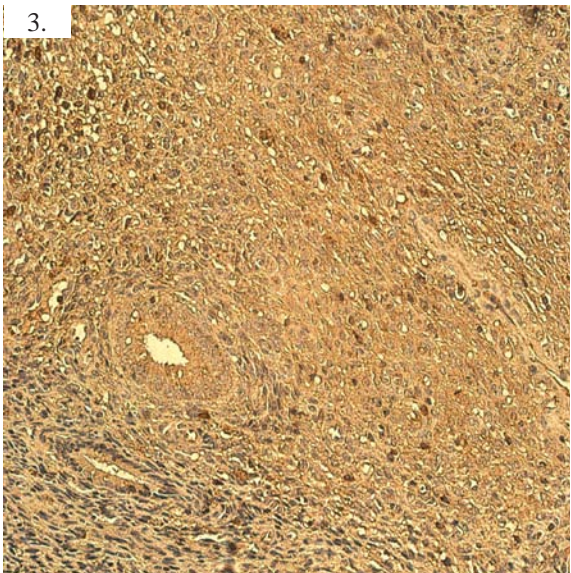
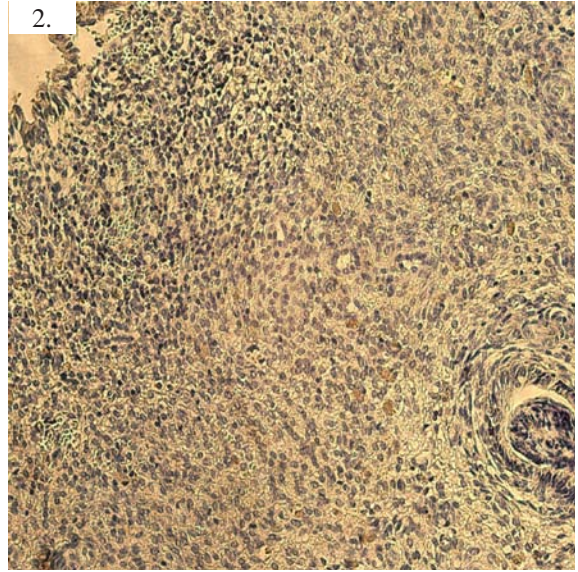
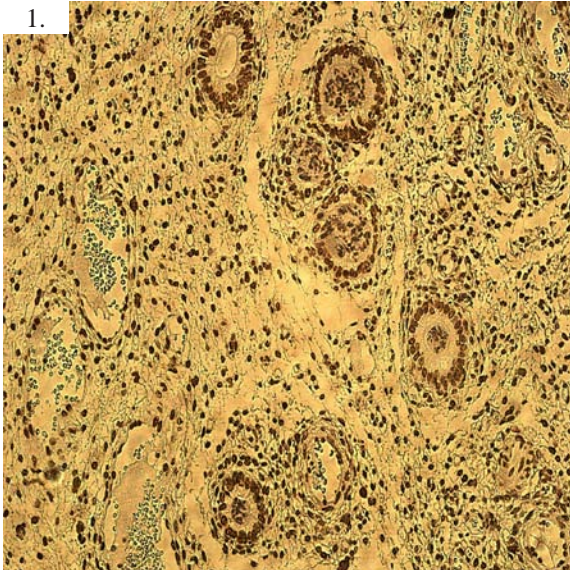
- - lack of MMP, IL, TNF- α , PGP 9.5, and of apoptotic cells

+ - small number of cells containing MMP, IL, TNF- α , and PGP 9.5

++ - moderate number of cells containing MMP, IL, TNF- α , and PGP 9.5

+++ - numerous cells containing MMP, IL, TNF- α , and PGP 9.5

++++ - significant number of cells containing MMP, IL, TNF- α , and PGP 9.5



atnešanās ir involūcijas noslēgumā, dzemdes audi ir kompakti un blīvi salīdzinājumā ar pirmo nedēļu, kad dzemdes siena vēl ir ļoti izstiepta un audos dominē tūska. Pētījums parādīja, ka govīm pēcdzemdību periodā kopumā pastāv būtiska ($r=0.92$; $p<0.01$) pozitīva korelācija starp PCD šūnu daudzumu stromā un epitēlijā. Apoptotiskajām šūnām bija vidēja pozitīva korelācija ar makrofāgu daudzumu endometrijā ($r=0.54$; $p<0.1$), ko var izskaidrot ar to, ka makrofāgi izdala TNF- α , kas ir viens no PCD inducētājiem (Zhdanov et al., 2003).

Makrofāgos vērojamā MMP-2 ekspresija govīs dzemdes audos nav raksturīga komponente norisēm pēcdzemdību periodā, kamēr šajā pašā laikā MMP-9 ekspresija govīs endometrija makrofāgos ir ievērojami lielāka ($p<0.05$) (2. un 3. att.). Iespējams, mūsu pētījumā atrastā MMP ekspresija galvenokārt endometrija dziedzeršūnās fagocitārajās šūnās saistāma ar specifisku šīs proteīnāzes aktivāciju.

IL-10 konstatējam šūnās ap virsmas epitēliju un zem tā, kā arī dziedzeršūnās (4. att.), kas atbilst citu autoru apgalvojumam, ka IL-10 izdala ne vien CD4⁺T šūnas, bet dzemdes audos to izdala arī endometrija dziedzeru un endometrija epitēlija šūnas (El-Sherif et al., 2001; Sallinen et al., 2000). Minēto autoru pētījumos IL-10 ekspresija saistīta nevis ar iekaisuma procesiem dzemdē, bet gan ar dzimumcikla fāzēm: IL-10 ekspresija palielinājās dzimumcikla sekretorajā fāzē, kā arī parādījās pēc medroksiprogesterona lietošanas. Tas, iespējams, izskaidro, kādēļ neatradām nevienu statistiski ticamu būtisku korelāciju saistībā ar IL-10 ekspresiju mūsu izmeklējumiem, jo mūsu pētāmiem dzīvniekiem būtiskākie bija dzemdes involūcijas un reģenerācijas procesi.

TNF- α daudzums bija būtiski ($p<0.001$) palielinājies, salīdzinot pirmo un piekto nedēļu pēc atnešanās, turklāt tas korelēja ($r=0.52$; $p<0.05$) ar iekaisuma šūnu infiltrācijas pakāpi endometrijā un ar PCD endometrija stromā ($r=0.58$; $p<0.05$) (5. att.). Šādu novērojumu var saistīt ar TNF- α kā fizioloģisku PCD inducētājfaktoru, jo, kā zināms, TNF- α un Fas-ligands (CD178) iesāk bioķīmisku reakciju kaskādi, kuras sekas ir hromosomu defragmentācija un šūnu nāve. Organisma šūnu virsmās ir speciāli TNF- α receptori TNF-RI un TNF-RII, bet Fas-ligandam receptori ir Fas/APO-1 (CD95). Minētie receptori ir līdzīgi pēc ekstracelulārā domēna cisteīna satura, kā arī receptora intracelulārās daļas. Saistoties TNF- α un Fas-ligandiem ar apoptozes receptoriem, aktivizējas intracelulārie šo receptoru t.s. „nāves domēni” (DED – *death effector domain*) DED, DED1, DED2 un citi starpnieki, ieskaitot keramīdus, proteīnu tirozīnkināzes, katepsīnu D u.c., kuri pārveda šūnu nāves signālu.

PGP 9.5 galvenokārt atradām nervšķiedrās endometrijā ap dziedzeriem, zemgļotādā un asinsvadu sienās (6. att.). Parasti iekaisuma procesā iekaisuma mediatori veicina nervu šķiedru veidošanos, bet atsevišķos gadījumos (četros no 18) šādu tendenci nenovērojam, jo pie augstas iekaisuma šūnu infiltrācijas PGP 9.5 imūnreaktīvās nervšķiedras neatradām. Jāatzīmē, ka paraugos, kuros nekonstatējam PGP 9.5, praktiski neatradām arī IL-10, kas varētu būt saistīts ar olnīcu darbības disfunkciju negatīvas enerģijas bilances periodā. Arī TNF- α daudzums šīm govīm bija salīdzinoši mazāks. Iespējams tādēļ arī konstatējam endometrijā PGP 9.5 un PCD vāju negatīvu korelāciju ($r=-0.25$; $p<0.1$), kas varētu būt saistīts ar atsevišķu dzīvnieku organisma imūnsistēmas vājumu pēcdzemdību periodā.

1. att. Apoptoze endometrija šūnās piektajā nedēļā pēc atnešanās (TUNEL, X 200).

Fig. 1. Apoptosis in endometrial cells in the fifth week postparturition (TUNEL, X 200).

2. att. MMP-2 ekspresija endometrijā piektajā nedēļā pēc atnešanās (MMP-2 IMH, X 250).

Fig. 2. Expression of MMP-2 in cow's endometrium in the fifth week postparturition (MMP-2 IMH, X 250).

3. att. MMP-9 ekspresija govīs endometrijā piektajā nedēļā pēc atnešanās (MMP-9 IMH, X 250).

Fig. 3. MMP-9 expression in the fifth week postparturition (MMP-9 IMH, X 250).

4. att. IL-10 ekspresija zem endometrija virsmas epitēlija un dziedzeršūnās (IL-10 IMH, X 400).

Fig. 4. Expression of IL-10 under epithelial cells and in glandular cells of endometrium (IL-10 IMH, X 250).

5. att. TNF- α ekspresija endometrijā piektajā nedēļā pēc atnešanās (TNF- α IMH, X 200).

Fig. 5. TNF- α expression in the fifth week postparturition (TNF- α IMH, X 200).

6. att. PGP 9.5 ekspresija nervšķiedrās ap endometrija dziedzeriem, asinsvadu sienās un zem epitēlija (PGP 9.5 IMH, X 200).

Fig. 6. PGP 9.5 expression in nerve fibers around endometrial glands, walls of blood vessels, and under epithelium (PGP 9.5 IMH, X 200).

Secinājumi

1. Govju endometrijā ir statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0.05$) starp TNF- α un apoptotisko šūnu sadalījuma relatīvo daudzumu pirmajā un piektajā nedēļā pēc dzemdībām.
2. Govju endometrijā pēcdzemdību periodā apoptotisko šūnu daudzums būtiski palielinās laikā no pirmās līdz piektajai nedēļai ($p < 0.05$), uzrādot vidēji pozitīvu korelāciju ar makrofāgu daudzumu endometrijā ($r = 0.54$; $p < 0.1$).
3. MMP-2 ekspresiju govju dzemdes audos pēcdzemdību periodā no pirmās līdz piektajai nedēļai atradām makrofāgos, bet tā nav raksturīga norisēm minētajā pēcdzemdību periodā. MMP-9 ekspresija šajā laikā govju dzemdes makrofāgos ir ievērojami lielāka ($p < 0.05$).
4. IL-10 ekspresija statistiski nozīmīgi nekorelē ar MMP-2, MMP-9, TNF- α , PGP 9.5 un iekaisuma šūnu infiltrāciju laikā no pirmās līdz piektajai nedēļai govju pēcdzemdību periodā.
5. TNF- α daudzums būtiski ($p < 0.001$) palielinās, salīdzinot pirmo un piekto nedēļu pēc atnešanās, turklāt tas korelē ($r = 0.52$; $p < 0.05$) ar iekaisuma šūnu infiltrācijas pakāpi endometrijā un endometrija apoptozi ($r = 0.58$; $p < 0.05$).
6. PGP 9.5 nervšķiedras raksturo endometrija dziedzeru sienas, zemgļotādu un asinsvadu sienas, bet to sadalījums nekorelē ar iekaisuma šūnu infiltrāciju, iespējams, individuālas dzīvnieka organisma imūnsistēmas vājuma dēļ.
7. Mikroinvolūcijas procesi govju endometrijā norit vēl piektajā nedēļā pēc atnešanās.

Literatūra

1. Arhipova, I., Bāliņa S. (2003) *Statistika Ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Mikrosoft Excel*. Rīga: Datorzinību centrs, 352 lpp.
2. Aughey, E., Frye F.L. (2001) *Comparative veterinary histology with clinical correlates*. Manson Pub.Ltd., London, 14-127.
3. Curry Jr, T.E., Osteen, K.G. (2001) Cyclic changes in the matrix metalloproteinases system in the ovary and uterus. *Biology of reproduction*, No. 64, pp. 1285-1296.
4. El-Sherif, A.M., Seth, R., Tighe, P.J., Jenkins, D. (2001) Quantitative analysis of IL-10 and IFN- γ mRNA levels in normal cervix and human papillomavirus type 16 associated cervical precancer. *Journal of pathology*, 195(2):179-85.
5. Goyeneche, A.A., Telleria, C. M. (2005) Exogenous estradiol enhances apoptosis in regressing post-partum rat corpora lutea possibly mediated by prolactin. *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 3:40.
6. Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. (1981) The use of antiavidin antibody and biotin-streptavidin peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am. J. Clin. Pathol.*, 75: 816.
7. Humason, G.L. (1967) *Animal tissue techniques*. Second edition. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 569 pp.
8. Kliem, H.S. (2006) *Investigations of extracellular matrix proteases, apoptotic and anti-apoptotic factors in the bovine corpus luteum. Inaugural-Dissertation*. Friedberg/Hessen, München, 150 pp.
9. Meyer, D.J., Harvey, J.W. (2004) *Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis*. Saunders, 351 pp.
10. Negoescu, A., Guillermet, Ch., Lorimer, Ph., Robert, C., Lantuejoul, S., Brambilla, E., Labat-moleur, F. (1998) TUNEL apoptotic cell detection in archived paraffin-embedded tissues. *Biochemica*, vol. 3, pp. 36-41.
11. Piccinini, M., Merighi, A., Bruno, R., Cascio, P., Curto, M., Mioletti, S. (1996) Affinity purification and characterization of protein gene product 9.5 (PGP 9.5) from retina. *Biochemistry Journal*, 318:711-716.
12. Sallinen, K., Veräjänkorka, E., Pöllänen, P. (2000) Expression of antigens involved in the presentation of lipid antigens and induction of clonal anergy in the female reproductive tract. *Journal of reproductive immunology*, Vol. 46, No. 2, pp. 91-101.
13. Tingaker, B.K., Johansson, O., Cluff, A.H., Ekman-Ordeberg, G. (2006) Unaltered innervation of the human cervix uteri in contrast to the corpus during pregnancy and labor as revealed by PGP 9.5 immunohistochemistry. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 125 (1):66-71.
14. Zhdanov, A. V., Kurbanova, D.F., Davydova, M. P., Sosulina, L. Yu., Ezhova, L.S., Sukhikh, G.T. (2003) Apoptosis in fimbriae of fallopian tubes and endometrium in pyoinflammatory adnexal diseases. *Bulletin of experimental biology and medicine*, vol. 135, No. 2/Febr., pp. 150-153.

**Detection of Gastric *Helicobacter*-like Microorganisms in
Feral Raccoon Dogs (*Nyctereutes Procyonoides*) and
Domestic Dogs (*Canis Familiaris*)
Kuņģa helikobaktēriju noteikšana savvaļas jēnotsuņiem
(*Nyctereutes procyonoides*) un mājas suņiem (*Canis familiaris*)**

Dace Bērziņa, Edīte Birģele

Preclinical Institute, Faculty of Veterinary Medicine, LLU

LLU Veterinārmedicīnas fakultātes Preklīniskais institūts

e-mail: dace.berzina@llu.lv; edite.birģele@llu.lv

Abstract. This study was done to evaluate the prevalence of *Helicobacter*-like microorganisms in the stomach of feral raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from the Chonbuk province at the southwest part of Korea and of domestic dogs (*Canis familiaris*) from Latvia. Mucosal samples were taken from several places of cardiac, fundic, and pyloric gland region of the stomach to detect *Helicobacter* spp. by employing urease test, brush cytology, and light histological investigation. All sampled raccoon dogs and four domestic dogs from the five sampled animals showed positive urease test and presence of tightly spiraled *Helicobacter*-like microorganisms. A positive urease test was observed in 75.7% of all examined samples of raccoon dogs and in 67.0% of all samples of domestic dogs. *Helicobacter*-like microorganisms were detected in 98.5% of all examined samples of raccoon dogs and in 69.4% of samples of domestic dogs by brush cytology, and in 91.2% of all examined samples of raccoon dogs and in 68.2% of samples of domestic dogs by histological examination. Compared to gastric regions in feral raccoon dogs, the employed detection methods showed that almost all samples (100%) were positive for *Helicobacter* spp. in the cardiac gland region. Whereas in domestic dogs, all detection methods demonstrated 80% of positive samples in cardiac and 80% of positive samples in fundic gland region of the stomach. Urease test results were controlled after 10, 30, and 60 minutes. The amount of positive samples of raccoon and domestic dogs increased with the checking time, so it is important to check results of test after 60 minutes of reaction.

Key words: *Helicobacter* spp., dogs, stomach, mucosa.

Introduction

Many *Helicobacter* species have been identified in the gastrointestinal tract of domestic and wild animals, and humans. Some *Helicobacter* species have been formally recognized and have often been associated with the condition of gastric and/or enterohepatic disease including gastroenteritis, gastric ulcers, hepatitis, and cancer (Fox, Lee, 1997; Solnick, Schauer, 2001). However, not all *Helicobacter* species are considered pathogenic and instead may form part of the host's indigenous gastrointestinal microflora (Simmons et al., 2000).

Since the first isolation of *Helicobacter pylori* form in humans with gastritis and gastric ulcer in 1984 (Marshall, Warren, 1984), *Helicobacter* spp. (*Helicobacter*-like microorganisms) have been detected in several animal species, such as dogs, cats, pigs, cheetahs, ferrets, polar bears, sea lions, monkeys, and rodents (Bronsdon et al., 1991; Lee et

al., 1992; Eaton et al., 1993; Fox et al., 1995; Eaton et al., 1996; Jalava et al., 1997; Neiger et al., 1998; Hwang et al., 2002; Oxley et al., 2004).

Literature shows that *Helicobacter* species are mostly microaerophilic, gram-negative, spiral-shaped bacteria with multiple terminal flagellae and high-level urease activity, which allows them to survive in an acidic environment (Eaton et al., 1996). The sources and routes of transmission have been established following numerous studies, which suggested oral-fecal and oral-oral transmission of *Helicobacter*-like microorganisms (Bussac, 1999).

Up to now many diagnostic methods have been developed to detect *Helicobacter pylori* infection: some invasive (such as rapid urease test, brush cytology, histology, electronmicroscopy, culture, and polymerase chain reaction) and others non-invasive (such as serology, urea breath test, and, more recently,

H. pylori antigen determination in feces) (Happonen et al., 1996).

The aim of this study was to detect *Helicobacter*-like microorganisms in feral raccoon (*Nyctereutes procyonoides*) and domestic dogs (*Canis familiaris*).

The main tasks of the research were:

- 1) to detect *Helicobacter*-like microorganisms in mucosal samples of stomach employing three different diagnostic methods: urease test, brush cytology, and histological examination;
- 2) to compare and evaluate the most susceptible diagnostic methods for detecting *Helicobacter*-like microorganisms in the gastric mucosal samples of the examined dogs;
- 3) to establish prevalence of *Helicobacter*-like microorganisms in different parts of the stomach: cardiac, fundic, and pyloric gland region;
- 4) to study and compare the prevalence of *Helicobacter*-like microorganisms in feral raccoon dogs from the Republic of Korea and in domestic dogs from Latvia.

Materials and Methods

Mucosal samples of the stomach were taken from eight raccoon dogs from Korea Animal Protection Society and from five dogs after the death of the animals (under agreement of the owners) in the Center of Veterinary Education, Latvia.

Mucosal samples were obtained from strictly determined seventeen sites of the stomach: four sites of cardiac gland region, eight sites of fundic gland region, and five sites of pyloric gland region. In total, for detection of *Helicobacter spp.*, 136 gastric mucosal samples of feral raccoon dogs and 85 gastric mucosal samples of domestic dogs were examined during the study. For brush cytology, urease test, and light histological investigation, mucus and mucosal samples were obtained from each sample site within two hours after the death of the animals.

Small gastric mucosal samples were cut with scissors and placed in 24 well plates for urease test. The samples were incubated in 1 ml of reagent containing 10% of unbuffered urea in distilled water and phenol red indicator (pH 6.3). The results were recorded in 10 min., 30 min., and 60 min. after each sample was placed in reagents. A color change from pale yellow to bright pink was considered positive to *Helicobacter*-like microorganisms.

Collecting of mucus for brush cytology was performed using sterilized small cotton brushes. The brush was rolled over the gastric mucosa at the sample site and subsequently rolled on a clean slide. The preparations were then air-dried and stained by *Diff-Quick* staining method. *Helicobacter*-like microorganisms were observed with light microscope *Leica* oil immersion lens at 1000 magnification.

Gastric mucosal samples for histological examination were fixed in 10% neutral buffered formalin, routinely processed in auto tissue processor *Tissue-Tek II*, embedded in paraffin, sectioned in 5 µm thick sections with microtome *SLEE Mainz Cut 4055*, and stained by *Diff-Quick* method. *Helicobacter*-like microorganisms were detected in gastric mucosa with light microscope at 1000 magnification.

Statistical analyses of the results were performed by SPSS 11.5 program. Differences between the results produced by urease test, brush cytology and histological examination were processed by the nonparametric *k*-related *Cochran's Q test*. Occurrence of *Helicobacter spp.* in the mucosal samples of different parts of stomach in raccoon and domestic dogs was analyzed with *Chi-square test* of independence (Paura, Arhipova, 2002; Arhipova, Bāliņa, 2003).

Results and Discussion

All examined raccoon dogs and four of the five examined domestic dogs showed positive results by all the methods used for detection of *Helicobacter spp.* The results of the study for occurrence of *Helicobacter*-like microorganisms in raccoon dogs are summarized in Table 1. As to raccoon dogs, statistical analysis showed significant differences between the results obtained by various diagnostic methods ($p < 0.01$). Urease activity was observed in 75.7% (in 103 samples) of the examined 136 gastric samples after 60 min. of incubation. The highest detection rate of *Helicobacter*-like organisms was detected by brush cytology. Spiral-shaped organisms were observed in 98.5% (on 134 brushes) of the examined 136 brushes of gastric mucosa. During the histological examination, *Helicobacter*-like microorganisms were observed in the mucosa of stomach in 91.2% (in 124 samples) of the examined 136 samples (Table 1).

The results of the study for occurrence of *Helicobacter spp.* in domestic dogs are summarized in Table 2. Unlike the results of detection of *Helicobacter*-like microorganisms in raccoon dogs, statistical analyses did not show significant differences between the used diagnostic methods ($p > 0.05$) in domestic dogs. Urease activity was observed in 67.0% (in 57 samples) of the examined 85 gastric samples after 60 min. of incubation. Spiral-shaped organisms were observed in 69.4% (on 59 brushes) of the 85 brushes of gastric mucosa by brush cytology, and in 68.2% (in 58 samples) of the examined 85 samples of gastric mucosa by histological examination (Table 2).

Brush cytology of raccoon dogs demonstrated the highest detection rate of *Helicobacter*-like organisms. These results are similar to those of the

Table 1

The amount of *Helicobacter*-positive samples in raccoon dogs by different detection methods

Number of raccoon dog	<i>Helicobacter</i> -positive samples		
	Urease test	Brush cytology	Histological examination
1	11	17	15
2	17	17	17
3	17	17	17
4	12	16	16
5	11	16	16
6	9	17	12
7	9	17	14
8	17	17	17
Total amount of positive samples	103	134	124
Total amount of all examined samples	136	136	136
Percentage of positive samples	75.7%	98.5%	91.2%

Table 2

The amount of *Helicobacter*-positive samples in domestic dogs by different detection methods

Number of domestic dog	<i>Helicobacter</i> -positive samples		
	Urease test	Brush cytology	Histological examination
1	12	12	12
2	16	16	16
3	12	16	13
4	17	17	17
5	0	0	0
Total amount of positive samples	57	59	58
Total amount of all examined samples	85	85	85
Percentage of positive samples	67.0%	69.4%	68.2%

previously recorded studies into detection methods for *Helicobacter*-like microorganisms (Happonen et al., 1996). Brush cytology offers comparably high sensitivity along with urease test and is recommended for practical use, as it is a relatively simple, cheap, and rapid method for screening *Helicobacter* infection. Histological examination is also sensitive, but it is comparatively expensive and requires special laboratory skills and equipments.

The results of urease test in raccoon dogs are demonstrated in Figure 1: urease activity after 10 minutes of incubation was detected in 68.8% of

samples within the cardiac gland region, in 34.4% of samples within the fundic gland region, and in 10.1% of samples within the pyloric gland region. Whereas urease activity after 30 minutes of incubation was detected in 96.9% of samples within the cardiac gland region, in 79.95% of samples within the fundic gland region, and in 30.0% of samples within the pyloric gland region. Eventually, urease activity after 60 minutes of incubation was detected in 100% of samples within the cardiac gland region, in 85.9% of samples within the fundic gland region, and in 40.0% of samples within the pyloric gland region. Thus, a

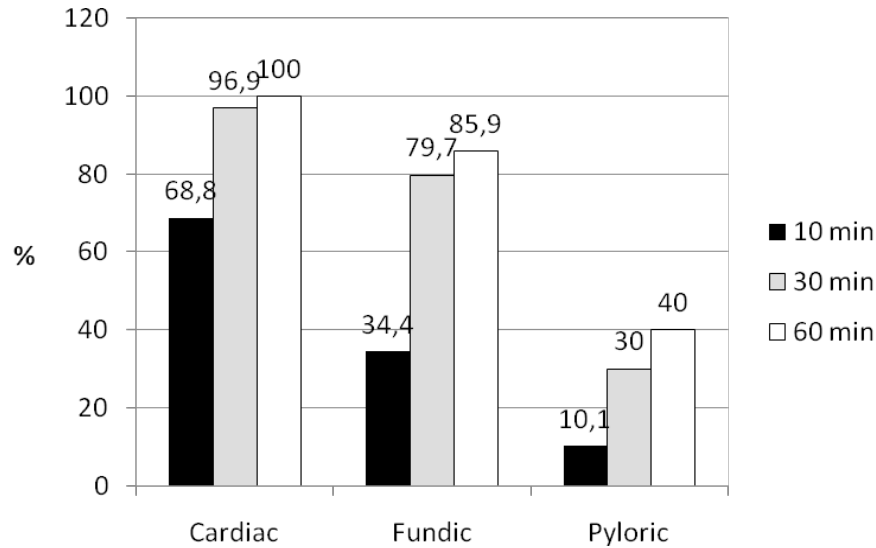


Fig. 1. Percentage of *Helicobacter*-positive mucosal samples of different sites by urease test in raccoon dogs.

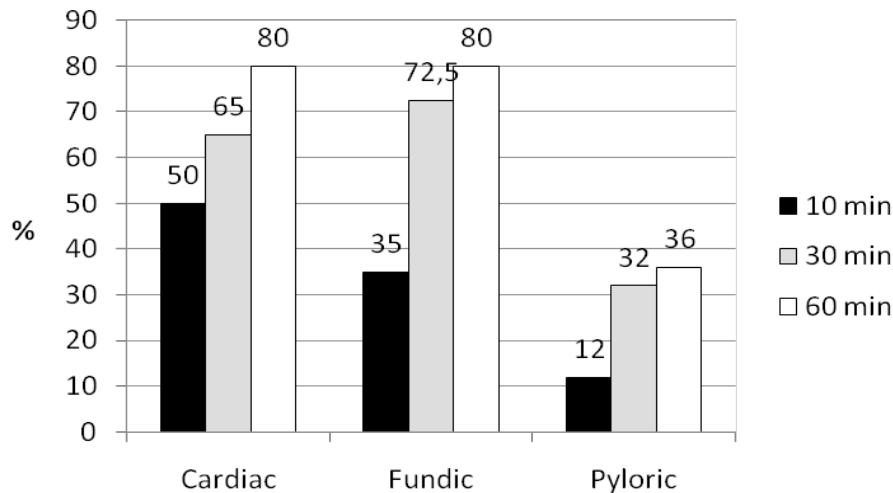


Fig. 2. Percentage of *Helicobacter*-positive mucosal samples of different sites by urease test in domestic dogs.

longer incubation period increased the detection rate of *Helicobacter*-like microorganisms.

Study of domestic dogs showed similar results (Figure 2). Urease activity after 10 minutes of incubation was detected in 50.0% of samples within the cardiac gland region, in 35.0% of samples within the fundic gland region, and in 12.0% of samples within the pyloric gland region. Whereas urease activity after 30 minutes of incubation was detected in 65.0% of samples within the cardiac gland region, in 72.5% of samples within the fundic gland region, and in 32.0% of samples within the pyloric gland region. So, detection rate after 30 minutes of incubation increased approximately twice in the fundic gland region. Eventually, the results after 60 minutes of incubation showed the highest urease activity in

80.0% of samples within the cardiac gland region, in 80.0% of samples within the fundic gland region, and in 36.0% of samples within the pyloric gland region.

In comparison, the *Helicobacter spp.*-positive results in different parts of stomach and the positive rate of cardiac and fundic gland region in both raccoon and domestic dogs were substantially higher ($p < 0.01$) than in pyloric gland region of stomach. These results are quite close to other studies into *Helicobacter*-like microorganisms in domestic dogs, where the highest *Helicobacter spp.* detection rate has been observed in the corpus (fundic gland region) of the stomach (Happonen et al., 1996).

The different detection rates of *Helicobacter*-like microorganisms in raccoon and domestic dogs by brush cytology are presented in Figure 3. Statistically

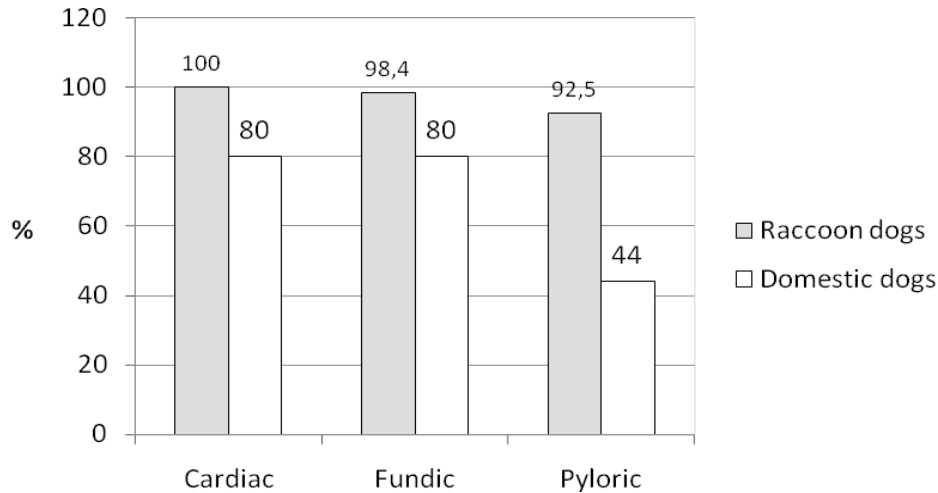


Fig. 3. Percentage of *Helicobacter*-positive mucosal samples of different sites by brush cytology in raccoon and domestic dogs.

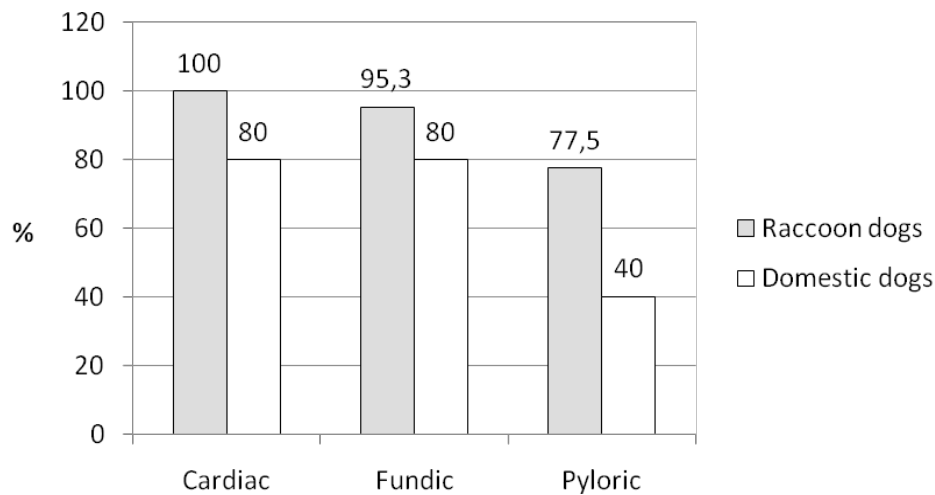


Fig. 4. Percentage of *Helicobacter*-positive mucosal samples of different sites by histological examination in raccoon and domestic dogs.

there are no significant differences ($p > 0.05$) between the occurrence of *Helicobacter spp.* in the samples of different gastric regions of raccoon dogs. The spiral-shaped *Helicobacter*-like microorganisms were observed in 100% of samples from cardiac, in 98.4% of samples from fundic, and in 92.5% of samples from pyloric gland region of the stomach. Whereas study of domestic dogs showed that detection rates of *Helicobacter*-like microorganisms by brush cytology are not significantly different ($p > 0.05$) between the cardiac and fundic gland region of the stomach. The spiral-shaped *Helicobacter* organisms were observed in 80% of samples from both cardiac and fundic gland region. The difference between occurrence of spiral-shaped microorganisms in the gastric part was most evident ($p < 0.05$) in the pyloric gland region where brush cytology showed only 44% of positive samples (Figure 3). These results are quite similar to those of

other studies which state that gastric *Helicobacter*-like microorganisms are mainly observed in the corpus (fundic gland region) of the stomach (Happonen et al., 1996).

Detection rates of *Helicobacter*-like microorganisms in raccoon and domestic dogs by histological examination are presented in Figure 4. Statistically there has been found a significant difference ($p < 0.05$) of occurrence of *Helicobacter spp.* between gastric parts of both raccoon and domestic dogs. Spiral-shaped *Helicobacter* organisms were observed in gastric mucosa of raccoon dogs in 100% of samples from cardiac, in 95.3% of samples from fundic, and in 77.5% of samples from pyloric gland region of the stomach. Whereas study of domestic dogs showed that *Helicobacter*-like microorganisms are observed in gastric mucosa in 80% of samples from both cardiac and fundic gland region and in 40%

of samples from pyloric gland region of the stomach (Figure 4).

The histological examination showed that detection rate of *Helicobacter*-like microorganisms in the cardiac and fundic gland region is significantly higher ($p < 0.05$) than in the pyloric gland region of stomach. Consequently, histological examination also allows evaluation of the status of mucosa and shows high sensitivity and specificity, too. This has also been pointed out in other studies (Megraud, 1996); however, histological examination is a comparatively expensive and labor intensive procedure (Chu et al., 1997).

This is the first investigation to detect and compare the presence of *Helicobacter*-like microorganisms in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) of the Republic of Korea and in domestic dogs (*Canis familiaris*) of Latvia. The study of influence of *Helicobacter* spp. on gastric morphofunctional state of these animals is going to be continued.

Conclusions

1. Detection rates of *Helicobacter*-like microorganisms of gastric mucosa by urease tests, brush cytology, and histological examination are statistically different in raccoon dogs ($p < 0.01$), but not in domestic dogs.
2. The brush cytology proved to be the most sensitive for detecting *Helicobacter*-like microorganisms in gastric samples of raccoon dogs.
3. For detecting of *Helicobacter* species by urease test it is important to check the results of the test after 60 minutes of reaction.
4. Compared to gastric parts, the cardiac and fundic gland region is the most affected site by *Helicobacter*-like microorganisms of raccoon and domestic dogs.

References

1. Arhipova, I., Bāliņa, S. (2003) *Statistika ekonomikā*. Datorzinību centrs, Rīga, 352 lpp.
2. Bronsdon, M.A., Goodwin, C.S., Sly, L.I., Chilvers, T., Schoenkecht, F.D. (1991) *Helicobacter nemestrinae* sp. nov., a spiral bacterium found in the stomach of a pigtailed macaque (*Macaca nemestrina*). *Int J Syst Bacteriol.*, 41(1), pp. 148-201.
3. Bussac, G. (1999) *Helicobacter pylori* and the oral environment. *Pract Periodontics Aesthet Dent.*, 11(8), pp. 918-922.
4. Chu, K.M., Poon, R., Tuen, H.H., Law, S.Y., Branicki, F.J., Wong, J. (1997) A prospective comparison of locally made rapid urease test and histology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastrointestinal Endosc.*, 46(6), pp. 503-509.
5. Eaton, K.A., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Tzellas, N., Coleman, B.E., Paola, J., Sherding, R. (1996) Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. *J. Clin. Microbiol.*, 34(12):3, pp. 165-245.
6. Eaton, K.A., Dewhirst, F.E., Radin, M.J., Fox, J.G., Paster, B.J., Krakowka, S., Morgan, D.R. (1993) *Helicobacter acinonyx* sp. nov., isolated from cheetahs with gastritis. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43(1), pp. 99-205.
7. Fox, J.G., Batchelder, M., Marini, R., Yan, L., Handt, L., Li, X., Shames, B., Hayward, A., Campbell, J., Murphy, J.C. (1995) *Helicobacter pylori*-induced gastritis in the domestic cat. *Infect. Immun.*, 63(7), pp. 2674-2755.
8. Fox, J.G., Lee, A. (1997) The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. *Lab. Animal. Sci.*, 47(3), pp. 222-277.
9. Happonen, I., Saari, S., Castren, L., Tyni, O., Hanninen, M.L., Westermarck, E. (1996) Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. *J. Comp. Pathol.*, 115(2), pp. 117-144.
10. Hwang, C.Y., Han, H.R., Youn, H.Y. (2002) Prevalence and clinical characterization of gastric *Helicobacter* species infection of dogs and cats in Korea. *J. Vet. Sci.*, 3(2), pp. 123-156.
11. Jalava, K., Kaartinen, M., Utriainen, M., Happonen, I., Hanninen, M.L. (1997) *Helicobacter salmonis* sp. nov., a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47(4), pp. 975-1057.
12. Lee, A., Krakowa, S., Fox, J.G., Otto, G., Eaton, K.A., Murphy, J.C. (1992) Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet. Pathol.*, 29(6), pp. 487-581.
13. Marshall, B.J., Warren, J.R. (1984) Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 16, 1(8390), pp. 1311-1316.
14. Megraud, F. (1996) Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.*, 215, pp. 57-119.
15. Neiger, R., Dieterich, C., Burnens, A., Waldvogel, A., Cortesy-Theulaz, I., Halter, F., Lauterburg, B., Schmassmann, A. (1998) Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. *J. Clin. Microbiol.*, 36, pp. 634-637.
16. Oxley, A.P., Powell, M., McKay, D.B. (2004) Species of the family *Helicobacteraceae* detected

- in an Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) with chronic gastritis. *J. Clin. Microbiol.*, 42(8), pp. 3505-3517.
17. Paura, L., Arhipova, I. (2002) *Neparametriskās metodes. SPSS datorprogramma*. LKC, Jelgava, 148 lpp.
18. Simmons, J.h., Riley, L.K., Besch-Williford, C., Franklin, C.L. (2000) *Helicobacter mesocricetorum sp. nov.*, a novel helicobacter isolated from the feces of Syrian hamsters. *J. Clin. Microbiol.*, 38, pp. 1811-1817.
19. Solnick, J.V., Schauer, D.B. (2001) Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin. Microbiol. rev.*, 14(1), pp. 59-97.

Anotācija

Pētījuma mērķis bija noskaidrot kuņģa helikobaktēriju izplatību savvaļas jenotsuņiem (*Nyctereutes procyonoides*) Dienvidkorejas Republikas Čonbukas provincē, kā arī mājas suņiem (*Canis familiaris*) Latvijā. Pētījumiem izmantoti astoņi jenotsuņi un pieci mājas suņi. Gļotādas paraugi tika ņemti no stingri noteiktām kuņģa gļotādas daļām četrās vietās kardiālo, astoņās vietās fundālo un piecās vietās pilorisko dziedzeru zonā. Kopā izmeklēti 136 jenotsuņu un 85 mājas suņu kuņģa gļotādas paraugi. *Helicobacter spp.* noteikšanai tika izmantoti ureāzes tests, gļotādas virsmas noburzumu citoloģija un histoloģiskās izmeklēšanas metodes. Visiem astoņiem izmeklētajiem jenotsuņiem un četriem mājas suņiem (no pieciem) kuņģa gļotādā tika konstatētas *Helicobacter spp.* Jenotsuņiem ureāzes tests pozitīvs bija 75.7% gadījumu, bet mājas suņiem – 67.0% gadījumu. Gļotādas virsmas citoloģiskajā izmeklēšanā *Helicobacter spp.* jenotsuņiem konstatēja 98.5% gadījumu, bet mājas suņiem – 69.4% gadījumu. Histoloģiskajā izmeklēšanā helikobaktērijas jenotsuņiem konstatēja 91.2% gadījumu, bet mājas suņiem – 68.2% gadījumu. Salīdzinot *Helicobacter spp.* lokalizāciju dažādajās kuņģa gļotādas zonās, visplašāk izplatītas tās bija kardiālo un fundālo dziedzeru zonā. Jenotsuņu kuņģu kardiālajā dziedzeru zonā 100% gadījumu tika konstatētas *Helicobacter spp.*, bet mājas suņiem gan kardiālo, gan fundālo dziedzeru zonā helikobaktērijas konstatēja 80% gadījumu. Ureāzes testa rezultāti tika pārbaudīti pēc 10, 30 un 60 minūtēm. Pozitīvo paraugu skaits uz *Helicobacter spp.* palielinājās līdz ar reakcijas laika ilgumu, tāpēc ir ļoti svarīgi rezultātus nolasīt pēc 60 minūtēm. Šis ir pirmais pētījums par kuņģa helikobaktēriju izplatību savvaļas jenotsuņiem Dienvidkorejas Republikā un mājas suņiem Latvijā.

A Comparison of Numerical Values of X-Ray Morphometrical Parameters Between Rottweilers and Other Dog Breeds in Diagnostics of Hip Dysplasia
Rentgenomorfometrisko parametru skaitlisko vērtību salīdzinājums starp rotveileru un citu suņu šķirnēm gūžu locītavu displāzijas diagnostikā

Oskars Kozinda

Clinical Institute, Faculty of Veterinary Medicine, LLU
LLU Veterinārmedicīnas fakultātes Klīniskais institūts

Abstract. Investigations were carried out at the Clinical Institute of the Faculty of Veterinary Medicine of the Latvia University of Agriculture. The aim and objectives of the investigations were to determine and compare the use of some x-ray morphometrical parameters of hip dysplasia in young Rottweilers and other dog breeds. X-ray morphometrical parameters used in diagnostics of hip dysplasia were determined: Norberg angle (X1), inclination angle (X2), tangential angle (X3), location of geometrical centre of femoral head (X4), width of the lateral joint gap (X5), width of the medial joint gap (X6), and distraction index (X7). Agreement or differences between x-ray morphometrical parameters were established in Rottweilers and other dog breeds. Radiography was made in the ventrodorsal projection. The obtained data of x-ray morphometrical parameters were used for analysis. In case of hip dysplasia (HD), differences between some parameters were established within a breed, as well as between Rottweilers and other dog breeds. Evaluating numerical indices of the examined parameters it was established that Norberg angle (X1) is informative enough and does not depend on the dog breed, and may be used in diagnostics of hip dysplasia without determining other parameters. The possible inadequacy between Norberg angle and HP diagnosis is within a range of 3-4%. Parameters (X2-X7) are partly or insufficiently informative to be used in HD diagnostics without determining the Norberg angle (X1).

Key words: hip dysplasia, breed, dog, measurements.

Introduction

Morgan and Stephens (1988), and Tamilson and Mc Laughing (1995) are of the opinion that hip dysplasia (HD) is a multifactorial, genetically determined biomechanical development disease (usually bilateral) characterized by inadequately formed hip joints, which is later accompanied by a secondary degenerative joint arthrosis. Different forms of hip dysplasia occur in various species of animals, as well as in human beings, but as an important clinical problem HD is observed just in dogs because hip joints form an anatomical structure that holds the caudal part of the dog's body on two small spherical surfaces – femoral heads –, and they are involved in various body movements and positions (Morgan, Stephens, 1988). Even though there have been great achievements in veterinary medicine and public knowledge about animal keeping and nutrition during the last decades, Alexander (1992) has come to a conclusion that a comparatively little progress has been reached in terms of prevention of this severe

disease. Suffering in dogs affected by hip dysplasia is reduced by applying improved medicine and modern surgery techniques, nevertheless the problem has not been solved (Alexander, 1992). The fact that heredity of hip dysplasia has been established in 14 generations of dogs (Белов и др., 1990) suggests HD is a serious problem.

Brass and Paatsama (1983) and Impellizeri et al. (2000) have pointed out that HD most often occurs in large fast-growing breeds of dogs.

Morgan's (1988) studies show that, firstly, hip joints in 4-8 months old dogs are not completely developed, which is why x-ray diagnostic parameters may be different, and, secondly, HD clinical and radiographic picture in dogs may be similar to other hip joint diseases, e.g., changes of traumatic nature, dystrophies, abnormalities caused by Leg Perthes disease, and others.

Taking into consideration these factors, several criteria are developed and suggested for analyzing and estimating x-ray photographs. They are based on

measurements of the correlated position and angles of the hip acetabulum, femoral head, and femoral neck in case of normal condition and dysplasia (Kapatkin et al., 2004). It is of great importance to investigate these parameters in young dogs because the changes associated with hip dysplasia are not always apparent radiographically (Lust et al., 2001; Mayhew et al., 2002).

The objectives of the research were to determine mutual correlations among some morphometrical measurements of the hips and their use in the diagnostics of hip dysplasia.

The scientific novelty of the research is associated with the evaluation of statistical significance of some morphometrical parameters in order to optimize the evaluation of radiograms and to reduce subjectivity in evaluation making diagnosis "hip dysplasia".

The aim and objectives of the research were:

- 1) to determine x-ray morphometrical parameters used in diagnostics of hip dysplasia: Norberg angle (X1), inclination angle (X2), tangential angle (X3), location of geometrical centre of femoral head (X4), width of the lateral joint gap (X5), width of the medial joint gap (X6), and distraction index (X7);
- 2) to investigate correlations among x-ray morphometrical parameters in case of hip dysplasia in Rottweilers and other dog breeds;
- 3) to investigate agreement or differences between x-ray morphometrical parameters in Rottweiler breed dogs;

- 4) to investigate agreement or differences between x-ray morphometrical parameters in other dog breeds;
- 5) to carry out a comparative verification of some x-ray morphometrical parameters by multifactorial and unifactorial regression analysis between Rottweilers and other dog breeds in case of hip dysplasia;
- 6) to investigate correlations between some x-ray morphometrical parameters within a breed, as well as between Rottweilers and other dog breeds.

The basic aim of the research was to reduce subjectivity in evaluation of x-ray photographs.

Materials and Methods

Sixty two dogs of different breeds, sex, and age, exhibiting different-degree fore- and hind limb lameness of uncertain etiology, were examined (Table 1).

The x-ray examination was made using PHILIPS MCD 125 No. 0 41 WB 18E01 x-ray appliance in compliance with the requirements of the International Association of Cynology (FCI). A template (25305-S) with a circle diameter of 4-40 mm and protractor LOGAREX 34023 were used to determine the x-ray morphometrical parameters.

To make a good radiography, the animals were anesthetized applying a combination of 100 mg ml⁻¹ of ketamine and 5 mg ml⁻¹ of diazepam (valium) – 1 ml per 10 kg of body weight. After that, the dog was fixed on its back, and radiography was made in the

Table 1

Breed, sex and age of the examined dogs

Breed	Sex		Age		Total number of dogs
	female	male	under 1 year	over 1 year	
Rottweiler	9	27	32	4	36
Mastino Napoletano	1	5	5	1	6
Chow Chow	1	4	4	1	5
German Sheperd	2	3	3	2	5
Caucasian Sheepdog	–	3	2	1	3
Staffordshier Terrier	–	2	–	2	2
Landseer	–	1	–	1	1
Doberman Pinscher	–	1	–	1	1
Bull Terrier	–	1	1	–	1
Mid-Asian Sheepdog	1	–	1	–	1
Bullmastiff	1	–	–	1	1
Total number of dogs	15	46	47	14	62

ventrodorsal projection with stretched and parallel placed hind legs.

The data of x-ray morphometrical parameters, obtained as a result of radiographical examination of hip joints in the dorsoventral standard position, were used for expanded analysis.

Radiographical parameters of hip joints, from X1 to X7, were determined in radiograms. The measurement results were arranged according to the dog breed (Rottweilers and other dog breeds) and separately for the right and left hip joint. The aim of further calculation was to find out whether the difference in mean values of the right (LX1–LX7) and left (KX1–KX7) hip joint parameters between Rottweilers and other dog breeds is significant.

In case of hip dysplasia, differences in some parameters were established within a breed, but differences in some x-ray morphometrical parameters – between Rottweilers and other dog breeds. Using the data of linear regression analysis in uncertain cases with Rottweiler breed dogs in order to verify the diagnosis according to the significance of factors, it is suggested to use the following morphometrical parameters: medial joint gap (X6), tangential angle (X3), inclination angle (X2), location of geometrical centre of femoral head (X4), and lateral joint gap (X5).

The statistical data processing was performed using Microsoft Excel 97. The arithmetical mean, mean standard error, and Student’s *t*-test were calculated in order to evaluate the confidence of differences of the obtained results (Arhipova, Bāliņa, 2003; Christensen, 1996).

Data were considered different when the confidence level was lower than 0.05 ($p < 0.05$ or $P = 95\%$).

Results

A comparison of mean values of morphometrical parameters of the right hip joint was made between Rottweilers and other dog breeds suffering from HD.

In Rottweiler breed dogs, hip dysplasia of the right hip joint was established in 24 (67% of cases) out of 36 examined dogs. In other breeds of dogs, the right hip dysplasia was found in 17 (65% of cases) out of 26 examined animals.

The mean values and standard error of the parameters from LX1 to LX7 of the right hip joint in Rottweilers and other dog breeds are given in Table 2.

Calculations showed that the average age of Rottweilers with HD is 8.2 months (standard error ± 0.93), but of other breed dogs with HD – 11.5 months (standard error ± 1.76).

By using *t*-test it was established that Rottweilers with HD are younger than other breed dogs with HD (with probability $P = 94\%$, which is close to significant).

Analysis (estimating by P-value percentage) of the mean indices of parameters LX1, LX2, LX3, LX4, LX5, and LX6 showed that there were no significant differences in the mean values of parameters between Rottweilers and other dog breeds affected with HD.

Calculating the mean value by variable LX7, it was found that in Rottweilers $X_{\text{mean}} = 0.45$ (dispersion 0.09). By using *t*-test it was established

Table 2

The mean values and standard error of morphometrical parameters of the right hip joint in Rottweilers and other dog breeds

Parameter	Unit of measurement	Rottweilers (n=24) mean± standard error	Other dog breeds (n=17) mean± standard error	Probability, P
LX1 (Norberg angle)	degrees	88.12 ± 2.57	86.58 ± 5.27	60%
LX2 (inclination angle)	degrees	136.86 ± 1.90	135.67 ± 1.89	67%
LX3 (tangential angle)	degrees	17.70 ± 3.61	9.82 ± 6.20	86%
LX4 (placement of the geometrical centre of the CFH)	mm	0.42 ± 0.67	-0.38 ± 1.09	73%
LX5 (lateral joint gap)	mm	1.70 ± 0.20	1.41 ± 0.22	82%
LX6 (medial joint gap)	mm	2.86 ± 0.22	3.06 ± 0.29	70%
LX7 (distraction index)		0.44 ± 0.07	0.31 ± 0.03	94%

Note: probability is significant if $P \geq 95\%$.

that with probability $P=94\%$ (which is close to significant), parameter LX7 in the right hip joint in Rottweilers is more expressed than in other dog breeds.

Comparison of the Mean Values of Morphometrical Parameters of the Left Hip Joint in Rottweilers and Other Dog Breeds

An analogous division of the left hip joint parameters was made. In Rottweiler breed dogs, hip dysplasia of the left hip joint was found in 23 (64% of cases) out of 36 examined dogs. In other breeds of dogs, a unilateral HD was observed in 16 (61% of cases) out of 26 examined dogs. The mean values and standard error of the evaluated parameters from KX1 to KX7 are presented in Table 3.

Analysis of the mean values of variables KX1, KX2, KX4, KX5, and KX7, as well as estimation of differences between the breeds show no significant differences in above-mentioned mean indices between Rottweilers and other dog breeds.

Calculating the mean value by variable KX6, in Rottweiler breed dogs $X_{\text{mean}}=2.88$ with dispersion of 0.26. By using *t*-test it was established that there is a significant difference with probability $P=99\%$, i.e., in Rottweiler breed dogs with HD, the width of medial joint gap is larger than in other dog breeds.

Calculating the mean value by variable KX3 (tangential angle), in Rottweiler breed dogs $X_{\text{mean}}=22.56$ (dispersion 406.07), but in other breed dogs $X_{\text{mean}}=6.37$ (dispersion 581.45). By using *t*-test it was established that with probability $P=97\%$, tangential angle in Rottweilers is larger than in other dog breeds.

Verification of Mutual Linear Relationship between Morphometrical Parameters of Rottweilers and Other Dog Breeds

Mathematical data processing was carried out to determine possible mutual relationship between parameters, i.e., between Norberg angle (X1) and other parameters (X2, X3, X4, X5, X6, and X7). Close, medium close, and poor linear relationship examples are seen in Figures 1-3.

At first, statistical data verification was performed to find whether all parameters are mutually independent. That is necessary to get to know by which of the variables the dog can be considered as hip dysplasia affected. A situation is possible that the result of one parameter duplicates the dependent parameter result. In such cases there is an opportunity to decline to use any of the parameters in making diagnosis of the disease.

In all examined animals, parameters of the right and left hip joint (X1-X6) were compared and verified whether they are mutually dependent. In the result of verification it was established that all the data form an uncorrelated group of points, which, in turn, indicates that all parameters are mutually independent.

In order to evaluate the linear relationship among parameters more precisely, a table with correlation coefficients between the parameters ($r=\pm\sqrt{R^2}$) was made (Table 4). It should be pointed out that correlation coefficient *r* characterizes only closeness of the linear relationship between the parameters.

Analysis of the obtained correlation coefficients demonstrates that there is linear relationship between some of the parameters. A **close** linear correlation can be predicted between Norberg angle (X1) and location of geometrical centre of femoral head (X4) ($r=0.82$), a **medium** linear correlation – between Norberg angle

Table 3

The mean values and standard error of the left hip joint

Parameter	Unit of measurement	Rottweilers (n=23) mean ± standard error	Other breed dogs (n=16) mean ± standard error	Probability, P
KX1 (Norberg angle)	degrees	90.56 ± 2.48	88.68 ± 4.16	65%
KX2 (inclination angle)	degrees	136.50 ± 2.88	138.63 ± 2.28	72%
KX3 (tangential angle)	degrees	22.56 ± 4.20	6.37 ± 6.02	97%
KX4 (placement of the geometrical centre of the CFH)	mm	-0.10 ± 0.61	0.37 ± 1.02	65%
KX5 (lateral joint gap)	mm	1.94 ± 0.23	1.78 ± 0.29	67%
KX6 (medial joint gap)	mm	2.88 ± 0.17	2.20 ± 0.13	99%
KX7 (distraction index)		0.30 ± 0.05	0.27 ± 0.07	62%

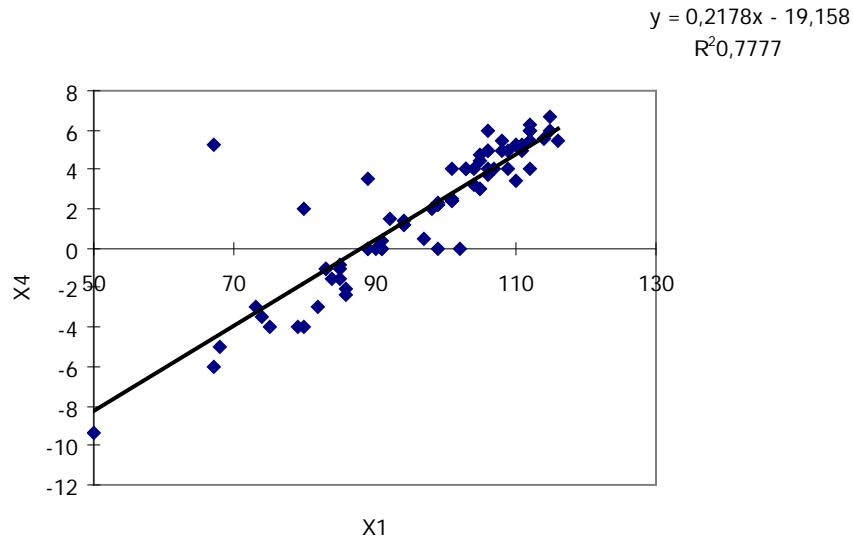


Fig. 1. A close correlation between Norberg angle (X1) and location of geometrical centre of femoral head (X4).

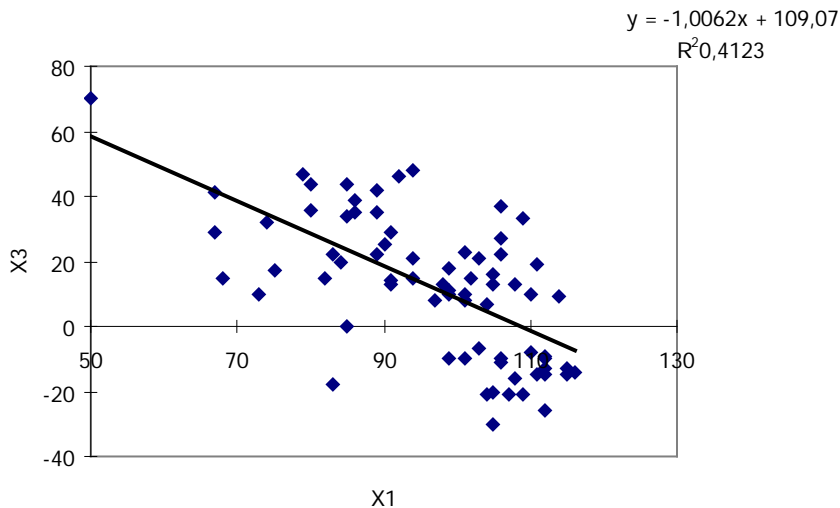


Fig. 2. A medium close correlation between Norberg angle (X1) and tangential angle (X3).

(X1) and tangential angle (X3) ($r=0.64$), whereas between other parameters – a **poor** or insufficient mutual relationship (correlation). The correlation is close, if $r=0.81$ or higher, medium – if $r=0.60-0.80$, and poor – if $r=0.60$ or lower.

Inadequacy of Morphometrical Parameters to HD Diagnosis in Rottweilers

Afterwards, health or clinical condition of dogs and its adequacy or inadequacy to the morphometrical parameters were examined.

Health or clinical condition of both Rottweilers and other dog breeds were evaluated as healthy (i.e., clinically there were no signs of lameness syndrome): the evaluated parameter (X1) was adequate to the norm (morphometrically hip dysplasia was not

established). And, contrariwise, both Rottweilers and other dog breeds were evaluated as clinically ill because the lameness syndrome was observed: the evaluated parameter (X1) was not adequate to the norm (morphometrically hip dysplasia was established).

The obtained data show diversities in diagnosing lameness, i.e., lameness is diagnosed but x-ray morphometrical parameters are adequate to the norm (the morphometrical parameter is not changed which does not indicate hip dysplasia), and, vice versa, there are no signs of lameness syndrome but x-ray morphometrical parameters do not correspond to the norm (morphometrical parameters indicate hip dysplasia).

The total number of observations, their adequacy or inadequacy to the norm, and percentage of

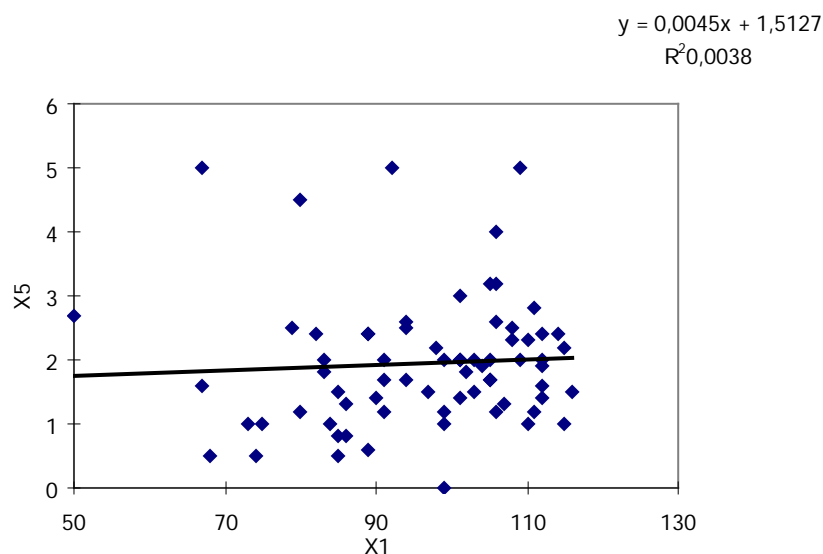


Fig. 3. A poor correlation between Norberg angle (X1) and the width of lateral joint gap (X5).

Table 4

Correlation coefficient (r) between parameters of hip joints in Rottweilers and other dog breeds with hip dysplasia

Parameters	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
X1	1	0.09	0.64	0.82	0.06	0.03	0.38
X2		1	0.15	0.01	0.03	0.35	0.14
X3			1.	0.50	0.28	0.16	0.01
X4				1	0.09	0.29	0.20
X5					1	0.04	0.18
X6						1	0.40
X7							1

Notations: X1 – Norberg angle, X2 – inclination angle, X3 – tangential angle, X4 – location of geometrical centre of femoral head, X5 – width of the lateral joint gap, X6 – width of the medial joint gap, and X7 – distraction index.

inadequacy are presented in Table 5. Evaluating the numerical indices of the examined parameters, it may be hypothetically affirmed that parameter X1 in Rottweilers is informative enough and may be used in HD diagnostics without establishing other parameters. Parameter X3 is partly informative, but parameters X2, X4, X5, X6, and X7 are not informative enough to be used in HD diagnostics without establishing other parameters.

Inadequacy of Morphometrical Parameters to HD Diagnosis in Other Dog Breeds

Parameters of hip joints in other dog breeds were evaluated and grouped similarly as in Rottweilers. Table 6 demonstrates data of the total number of observations, their adequacy to the norm, as well as percentage of inadequacy. The data suggest that parameter X1 in other dog breeds is informative

enough to be used in HD diagnostics without establishing other parameters. Parameter X6 is partly informative, but parameters X2, X3, X4, X5, X6, and X7 are not informative enough to be used in HD diagnosis in other dog breeds without establishing numerical values of other parameters.

Adequacy of Morphometrical Parameters to HD Diagnosis in Rottweilers and Other Dog Breeds

At the next stage of the research, verification of the adequacy of the variable X1 to the norm and diagnosis was carried out. It was assumed that clinical examinations are not adequate to the diagnosis of hip dysplasia in the following cases:

- parameter X1 is inadequate to the norm (HD was established radiographically) but the dog is clinically healthy;

Table 5

The inadequacy of examinations to HD diagnosis in Rottweilers

Indices	Number of examinations						
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
Inadequate	2	25	14	23	36	18	14
Adequate	70	39	58	40	34	50	48
Total	72	64	72	72	70	68	29
Inadequate, %	3	39	19	32	51	26	48

Notations: see Table 4.

Table 6

The inadequacy of examinations to HD diagnosis in other dog breeds

Indices	Number of examinations						
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇
Inadequate	2	25	18	20	22	15	10
Adequate	50	25	34	32	28	33	7
Total	52	50	52	52	50	48	17
Inadequate, %	4	50	35	38	44	31	59

Notations: see Table 4.

Table 7

The adequacy of indices of Norberg angle to HD diagnosis

Breed	Number of examinations		
	Adequate	Inadequate	Total
Rottweilers	2	70	72
Others	2	50	52
Total	4	120	124

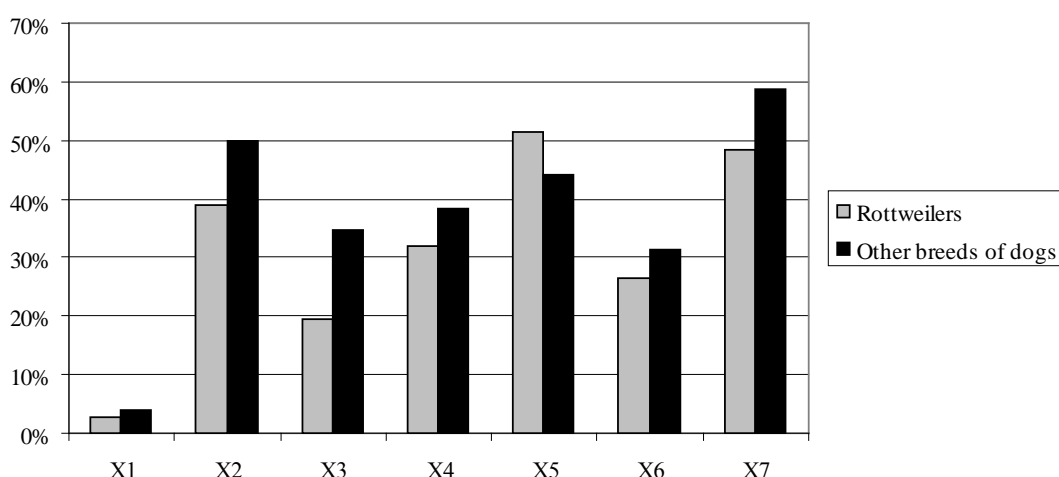


Fig. 4. The inadequacy of the lameness syndrome, observed clinically, to morphometrical diagnosis (HD) in Rottweilers and other dog breeds.

- parameter X1 is adequate to the norm (HD was not established radiographically) but the dog is clinically ill.

Changes in attributes depending on the breed of a dog are given in Table 7.

The adequacy of the division of the observation number of qualitative samples to the division of the theoretical observation number is verified by χ^2 method.

It was established that the inadequacy of the parameter X1 measurements to the diagnosis does not depend on the breed of a dog ($P=95\%$). Consequently, it can be concluded that the dog of any breed is healthy if parameter X1 is adequate to the norm, but the dog is ill with hip dysplasia if the parameter is inadequate to the norm. The inadequacy of the Norberg angle parameters to the norm and diagnosis varies within 3-4%. This suggests that parameter X1 can be used in HD diagnostics independently of other parameters, but the other parameters (X2 to X7) should be used to make the diagnosis more precise.

Discussion

Analysis of the mean indices of morphometrical parameters LX1, LX2, LX3, LX4, LX5, and LX6 showed that there are no significant differences in the mean values of parameters between Rottweilers and other dog breeds with HD (estimating by P value percentage).

Comparing morphometrical parameters between the right and left hip joints in Rottweilers and other dog breeds, it was established that the distraction index (LX7) in Rottweilers is more expressed and is close to significant ($P=94\%$). In the left hip joint there were significant differences in parameters of medial joint gap (KX6) ($P=99\%$) and tangential angle (KX3) ($P=95\%$), i.e., in Rottweilers these parameters are more expressed than in other dog breeds.

Evaluating linear relationship between parameters, it may be predicted that there is a close linear correlation ($r=0.82$) between Norberg angle (X1) and location of the geometrical centre of the femoral head (X4), a medium linear correlation ($r=0.64$) between Norberg angle (X1) and tangential angle (X3), but between other parameters there is a poor or insufficiently close mutual relationship (correlation).

In compliance with the criteria accepted by FCI (Federation Cynologique Internationale) in 1983, the Norberg angle value is one of the most universal morphometrical parameters in hip dysplasia diagnostics (Morgan, Stephens, 1988; Banfield, Bartels, 1996; Slatter, 1985; Whittick, 1974; Cook et al., 1996), which is also confirmed by our study. The

established inadequacy of this parameter to diagnosis is within the range of 3-4%. In cases when the inadequacy of the Norberg angle between the norm and diagnosis is within the range of 3% in Rottweilers and within the range of 4% in other dog breeds, it is possible to apply linear regression analysis to find out which of the parameters (X2-X6) is more informative and can be used in making a more precise diagnosis of hip dysplasia.

The present study proves that Norberg angle is the most relevant and universal morphometrical parameter to confirm diagnosis of HD according to FCI requirements and this measurement is not affected by the breed of a dog as well.

Norberg angle. In compliance with FCI requirements, dogs with the size of Norberg angle 105° or more are considered HD unaffected or free of HD (Brass, Paatsama, 1983). In the present research, the Norberg angle value in Rottweiler breed dogs was from 67° to 104° with the average value of $88.12^\circ \pm 2.57^\circ$, but in other dog breeds – from 76° to 104° with the average value of $86.58^\circ \pm 5.27^\circ$, which indicates hip dysplasia.

Inclination angle. In the literature, authors' opinions on the normal values of the inclination angle differ. Fox and Burt (1996) consider that a normal inclination angle should be 145° . Hauptman et al. (1985), and Retenmaier and Constantinescu (1991) are of a similar opinion: a normal value of this angle is 146° . Braden and Prieur (1992), in turn, believe that the average inclination angle is 149° varying within the range from 141° to 157° .

In the examined Rottweilers, value of the inclination angle was from 115° to 165° with the average value of $136.86^\circ \pm 1.90^\circ$, but in other dog breeds – from 119° to 153° with the average value of $135.67^\circ \pm 1.89^\circ$, which suggests that in the examined dogs the average value of this angle is smaller – within the range from 141° to 157° .

Banfield and Bartels (1996) had established that the average value of the inclination angle in healthy German Shepherds was $13.49^\circ \pm 5.00^\circ$, but in healthy Belgian Malinois – $132.55^\circ \pm 4.51^\circ$. Whereas in dogs affected with hip dysplasia, the average value of the inclination angle was: $132.58^\circ \pm 5.35^\circ$ in German Shepherds, and $128.69^\circ \pm 3.39^\circ$ in Belgian Malinois.

Tangential angle. Hauptman et al. (1985) have pointed out that there is a correlation between the subluxation force (the value is not mentioned) and craniodorsal side slope of the acetabulum (tangential angle). At a smaller subluxation force (the value is not mentioned) the tangential angle is 18° , but at a larger subluxation force (the value is not mentioned) the tangential angle is 40° .

Using Mitin's skiagram, Belov et al. (Белов и др., 1990) have found that a negative tangential angle corresponds to the norm, whereas a positive tangential angle (the values of angles are not mentioned) is observed in pathological cases.

In our research, the tangential angle of the left hip joint in Rottweilers was from minus 30° to plus 48° with the average value of 17.70°±3.61°, but in other dog breeds – from minus 38° to plus 63° with the average value of 9.82°±6.20°.

Location of the geometrical centre of the femoral head. If the geometrical centre of the femoral head is located laterally of the sagittal line (drawn parallel to the longitudinal axes of the body), it indicates a subluxation of the relevant joint (one of HD signs). Morgan and Stephens (1988) have described a method that can be used in making HD diagnosis. We supplemented this method with positive and negative numerical values. The medial location of the geometrical centre of the femoral head was indicated as a positive numerical value, but the lateral location – as a negative numerical value.

In Rottweilers, location of the geometrical centre of the femoral head against the sagittal line was from minus 9.4 mm to plus 6.7 mm with the average value of 0.42±0.67 mm, but in other breeds of dogs – from minus 5.5 mm to plus 6.4 mm with the average value of 0.38±1.09 mm.

Width of the lateral and medial joint gap. Banfield and Bartels (1996) do not indicate any correlation between the width of joint gaps and hip dysplasia.

In our study, the medial and lateral joint gap was measured in millimeters to be able to carry out further calculations and data analysis. In Rottweiler breed dogs, the width of the lateral joint gap was from 0.5 mm to 4.5 mm with the average value of 1.70±0.20 mm, but the width of the medial joint gap – from 1 to 5.5 mm with the average value of 2.86±0.22 mm. In other dog breeds, the width of the lateral joint gap was from 0.5 mm to 3.4 mm with the average value of 1.41±0.22, but the width of the medial joint gap – from 1.5 mm to 4.8 mm with the average value of 3.06±0.29 mm.

Distraction index. In the veterinary literature, Smith et al. (1990) are the first who wrote about the use of distraction index (DI) method. The index applied in the new method is fixed from 0 to 1, where 0 means complete joint congruence, and 1 – extreme joint laxity. The permissible standard or amount of distraction index is 0.3 (Smith, 1997).

According to Smith et al. (1990), the recommended projection for calculation of DI is dorsoventral position of the animal with hind legs perpendicularly lifted and forcedly laterally spread in hip joints.

In our study, the formula to calculate the distraction index is equated to the classical dorsoventral position. The results showed that in Rottweilers the distraction index is from 0.07 to 0.99 with the average value of 0.44±0.07, but in other dog breeds – from 0.08 to 0.56 with the average value of 0.31±0.03.

Conclusions

1. The obtained results suggest that hip dysplasia as an orthopedic disease occurs in various fast growing dog breeds in Latvia. Hip dysplasia was established in 75% out of the total number of examinations.
2. Hip dysplasia comparatively more often occurs in Rottweiler breed dogs (in 42% out of the total number of cases, and in 72% out of the examined Rottweilers).
3. The value of Norberg angle is the most important and universal morphometrical parameter in HD diagnostics.
4. The tangential angle of the left hip joint (KX3) with probability P=97% in Rottweilers is larger than in other dog breeds affected with hip dysplasia.
5. The medial joint gap of the left hip joint (KX6) with probability P=99% is larger in Rottweilers than in other dog breeds.
6. The Norberg angle value does not depend on the breed of a dog (P=95%). The inadequacy between the norm and the diagnosis is 3-4%, indicating that parameter X1 (Norberg angle value) may be used in HD diagnostics independently of other parameters, but other parameters (X2-X7) should be used for making the diagnosis more precise.

References

7. Alexander, J. W. (1992) The pathogenesis of canine hip dysplasia. *Canine hip dysplasia. The Veterinary clinics of North America. Small Animal practice*, 22 (3), pp. 503-595.
8. Arhipova, I., Bāliņa, S. (2003) *Statistika ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Microsoft Excel*. Rīga, Datorzinību Centrs, 352 lpp.
9. Banfield, C., Bartels, J. (1996) A retrospective Study of Canine Hip Dysplasia in 116 Military Working Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 32(5), pp. 413-430.
10. Braden, T.D., Prieur W.D. (1992) Three-plane intertrochanteric osteotomy for treatment of early stage hip dysplasia. *Vet. Clin. North Am. Small Anima. Pract.*, 22 (3), pp. 623-643.
11. Brass, W., Paatsama, S. (1983) *Hip dysplasia – International Certificate and Evaluation of radiographs*. Helsinki, 25 pp.

12. Christensen, R. (1996) *Analysis of variance. Design and Regression. Applied statistical methods*. Published by Chapman & Hall, London, 587 pp.
13. Cook, J., Tomilson, J., Constantinesark, G. (1996) Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Canine Hip Dysplasia. *Compendium on continuing education*, 18 (8), pp. 853-868.
14. Fox, S., Burt, J. (1996) The dysplatic hip: A crippling problem in dogs. *Veterinary Medicine*, Vol. 82, No. 7, pp. 684-709.
15. Hauptman, J., Cardinet, G., Morgan, J., Guffy, I., Wallace, L. (1985) Angles of inclination and anteversion in hip dysplasia in the dogs. *AJVR*, Vol. 46, No. 10, pp. 2033-2036.
16. Impellizzeri, J.A., Tetrick, M.A., Muir, P. (2000) Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *JAVMA*, 216, pp. 1089-1091.
17. Kapatkin, A.S., Gregor, T.P., Hearon, K., Richardson, W., McKelvie, P., Fordyce, H., Smith, G. (2004) Comparison of two radiographic techniques for evaluation of hip joint laxity in 10 breeds of dogs. *JAVMA*, 224 (4), pp. 542-546.
18. Lust, G., Todhunter, R.J., Erb, H.N., Dykes, L., Willims, A. (2001) Comparison of three radiographic methods for diagnosis of hip dysplasia in eight-month-old dogs. *JAVMA*, 219 (9), pp. 1242-1246.
19. Mayhew, P.D., McKelvie, P.J., Biery, D.N., Fordyce, H. (2002) Evaluation of a radiographic caudolateral curvilinear osteophyte on the femoral neck and its relationship to degenerative joint disease and distraction index in dogs. *JAVMA*, 220, pp. 472-478.
20. Morgan, J., Stephens, M. (1988) *Radiographic Diagnosis and Control of Canine Hip Dysplasia*. Ames: Iowa State University press, 145 pp.
21. Rettenmaier, J., Contantinescu, G. (1991) Canine hip dysplasia. *Continuing Education*, Vol. 13, No. 4, pp. 643-650.
22. Slatter, D. (1985) *Textbook of small animal surgery*, 2nd ed. Saunders, 2168 pp.
23. Smith, G. (1997) Advances in diagnosing of canine hip dysplasia. *JAVMA*, Vol. 210, No. 10, pp. 1451-1457.
24. Smith, G., Biery, D., Gregor, T. (1990) New concepts of coxofemoral joint stability and the development of a clinical stress radiographic method for quantitating hip joint laxity in the dog. *JAVMA*, Jan 1, 196(1), pp. 59-70.
25. Tamilson, J., Mc Laughing, R. (1995) Canine hip dysplasia. Developmental factors, clinical signs and initial examination steps. *Veterinary Medicine*, 91 (1), pp. 26-32.
26. Whittick, W.G. (1974) *Canine Orthopedics*. Philadelphia: Lea & Febiger, 523 pp.
27. Белов, А.Д., Данилов, Е.П., Дукур, И.И., Копёнкин, Е.П., Майоров, А.И., Митин, В.Н., Мустакимов, Р.Г., Плахотин, М.В., Пономарьков, В.И., Филиппов, Ю.И., Чижов, В.А. (1990) *Болезни собак. Справочник*. Москва: Агропромиздат, стр. 207-210.

Anotācija

Pētījums veikts Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas fakultātes Klīniskajā institūtā. Pētījuma mērķis bija noteikt un salīdzināt dažus rentgenomorfometriskos parametrus jauniem rotveileru un citu šķirņu suņiem gūžu locītavu displāzijas gadījumā. Rentgenogrammās, kas veiktas dorsoventrālajā standartpozīcijā, noteicām šādus gūžu locītavu morfometriskos parametrus: Norberga leņķi (X1), ciskas kaula kakla inklinācijas leņķi (X2), ciskas kaula kakla ģeometriskā centra novietojumu attiecībā pret sagitālo līniju, kas novilkta paralēli ķermeņa garenvirziena asij, sākot no locītaviedobuma kraniodorsālās malas (X3), tangenciālo leņķi (X4), laterālo locītavas spraugas platumu (X5), mediālo locītavas spraugas platumu (X6) un distrakcijas indeksu (X7). Pēc tam tika veikta parametru savstarpēja salīdzināšana starp labo un kreiso gūžas locītavu, kā arī parametru vidējās vērtības salīdzināšana starp rotveileru un pārējo suņu šķirnēm. Pēc parametru salīdzināšanas konstatētas atsevišķu parametru atšķirības starp labo un kreiso gūžas locītavu gan šķirnes ietvaros, gan arī salīdzinājumā starp suņu šķirnēm. Novērtējot noteikto parametru skaitliskās vērtības, konstatēts, ka Norberga leņķa (X1) lielums ir pietiekami informatīvs, lai to varētu izmantot gūžu locītavu displāzijas diagnostikā bez pārējo parametru izmantošanas, un šī leņķa lielums nav atkarīgs no suņa šķirnes. Parametri no X2 līdz X7 ir daļēji informatīvi un tos var izmantot diagnozes noteikšanai un precizēšanai 3–4% neskaidro gadījumā.

Ūdeņu kvalitātes standarta noteikšana pēc biogēno elementu koncentrācijas notecē no lauksaimniecībā izmantotajām platībām Setting of the Water Quality Standards for Nutrients in Runoff from Agricultural Land

Ainis Lagzdīņš, Viesturs Jansons, Kaspars Abramenko

LLU Vides un ūdenssaimniecības katedra

Department of Environment Engineering and Water Management, LLU

e-mail: Ainis.Lagzdins@llu.lv

Abstract. The paper deals with surface water quality assessment and recommendations for the classification system based on nutrients concentrations. For EU Member States, the overall aim of the Water Framework Directive (WFD) is to achieve “good ecological status” and “good surface water chemical status” in all water bodies by 2015. Human activities, including the use of fertilizer and manure in agriculture, have caused widespread increase in the content of nitrogen and phosphorus in the streams. Therefore agricultural runoff is the main subject of research. To determine nutrient concentrations in drainage outlets and small catchments, water quality data was collected monthly over twelve years (1994–2006) in two agricultural monitoring sites “Berze” and “Mellupite” with the measurement structures and water sampling equipment. All available total nitrogen (N_{tot}) and total phosphorous (P_{tot}) concentration data were analyzed using normal distribution curves. According to Stergess formula, class intervals (c) depending on the number of observations (n) were calculated. Percentile selections of data plotted as frequency distribution were used to establish boundaries of water quality standards. The research showed that in small agricultural streams good chemical status represents concentrations of $< 2.5 \text{ mg } N_{\text{tot}} \text{ L}^{-1}$ and $< 0.05 \text{ mg } P_{\text{tot}} \text{ L}^{-1}$, but in drainage system water – $< 5.5 \text{ mg } N_{\text{tot}} \text{ L}^{-1}$ and $< 0.02 \text{ mg } P_{\text{tot}} \text{ L}^{-1}$. The most important finding of the research is that water quality standards for drainage water as well as for small catchments with intensive agriculture should be less stringent than for rivers, otherwise it will not be possible to fulfill the objectives set by the WFD.

Key words: nitrogen, phosphorous, agricultural runoff, water quality standards.

Ievads

Nodrošinājums ar augstas kvalitātes ūdens resursiem ir būtisks cilvēka saimnieciskās darbības priekšnosacījums. Pazemes un virszemes ūdeņus cilvēks izmanto ne tikai kā dzeramo ūdeni, bet arī rūpniecībā, pārtikas produktu ražošanā, elektroenerģijas ieguvē, zivsaimniecībā, lauksaimniecībā, kā arī rekreācijas vajadzībām. Vienlaicīgi ūdeņu kvalitāte ir ļoti nozīmīgs faktors gan saldūdens, gan jūras ekosistēmu funkcionēšanā.

Cilvēka saimnieciskā darbība tieši vai netieši var izraisīt ūdeņu piesārņojumu. Dažādas rūpnieciskās ražotnes, pilsētu infrastruktūra, transports un lauksaimniecība ir potenciālie piesārņojuma avoti, kuri ietekmē ūdeņu kvalitāti. Piesārņojums var tieši nonākt virszemes un pazemes ūdeņos, var lēnām pārvietoties uz dziļākiem pazemes ūdeņu horizontiem, uzkrāties virszemes ūdeņos, kā arī nogulsnēties no atmosfēras. Piesārņojums rodas no punktveida avotiem, piemēram, apdzīvotu vietu notekūdeņu attīrīšanas iekārtu izplūdes vietās, no lielfermu

notekūdeņiem, kā arī no izkliedētiem (difūzajiem) avotiem – noteces no lauksaimniecības platībām vai apdzīvotām teritorijām.

Lauksaimnieciskās darbības radītā izkliedētā piesārņojuma ietekmētie mazie sateces baseini un drenu sistēmas ir hidrogrāfiskā tīkla sākuma posms, kurā iespējams novērtēt piesārņojuma ar biogēnajiem elementiem (slāpekli un fosfors) slodzi. Biogēno elementu noplūdi no difūzajiem avotiem ietekmē laika un telpas faktori, piemēram, mainīgi klimatiskie un hidroloģiskie apstākļi, ģeomorfoloģiskās īpatnības, augu seka un zemes lietojuma veids, tādēļ to salīdzinājumā ar punktveida piesārņojuma avotiem ir grūtāk kontrolēt un novērtēt (Vuorenmaa et al., 2002).

Intensīva lauksaimniecība ir viens no galvenajiem izkliedētā piesārņojuma ar biogēnajiem elementiem emisijas avotiem, kas apdraud pazemes ūdeņu kvalitāti, izraisa virszemes un jūras ūdeņu eitrofikāciju, Baltijas jūrā dziļūdens zonās skābekļa deficītu un toksīnu izdalošo zilaļģu parādīšanos. Par

to liecina pētījumi ASV (The Quality of..., 1999), ES (Nutrients in European ecosystems, 1999), kā arī Baltijas jūras valstīs (Nutrient Pollution to..., 2005).

Līdz ar iestāšanos Eiropas Savienībā Latvija ir apņēmusies izpildīt ES vides aizsardzības prasības. Ūdeņu struktūrdirektīva (Directive 2000/60/EC, 2000) ir normatīvais akts, kas nosaka ūdeņu aizsardzības un ilgtspējīgas apsaimniekošanas principus un uzdevumus Eiropas Savienības dalībvalstīs. Tā paredz vienotu aizsardzību un apsaimniekošanas sistēmu visiem ūdeņiem: upēm, ezeriem, piekrastes ūdeņiem, kā arī pazemes ūdeņiem, nosakot, ka tiem jāsasniedz laba ūdeņu kvalitāte līdz 2015. gadam.

Ūdeņu struktūrdirektīva prasa sakārtot dalībvalstu ūdenssaimniecību atbilstoši ES prasībām. Latvijā direktīva ir iestrādāta Ūdens apsaimniekošanas likumā (Ūdens apsaimniekošanas likums, 2002) un vairākos atbilstošos Ministru kabineta noteikumos (MK noteikumi Nr. 118, 2002; Nr. 179, 2003; Nr. 283, 2003; Nr. 681, 2004; Nr. 736, 2003; Nr. 92, 2004; Nr. 858, 2004). Direktīva nosaka gan apzināt pašreizējo ūdeņu stāvokli un iegūt papildu datus, izpildot ūdeņu monitoringu, gan uz situācijas raksturojuma pamata izveidot rīcības programmu, kas uzlabotu ūdeņu kvalitāti.

ES direktīvas un atbilstošie Latvijas Republikas normatīvie akti nosaka tikai atsevišķus ūdens kvalitātes robežlielumus, piemēram, nitrātu saturs ūdeņos nedrīkst pārsniegt $50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ ($11.3 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$). ES dalībvalstīs kopēji ūdens kvalitātes standarti, nosakot kvalitātes dalījumu klasēs pēc augu barības elementu koncentrācijām, nav izstrādāti. Ūdeņu kvalitātes vērtēšanas sistēmas izveidošana ir priekšnosacījums ES normatīvo aktu izpildei. Latvijā nepieciešams noteikt ūdeņu kvalitātes standartus notecei no lauksaimniecībā izmantotajām platībām tā, lai tiktu nodrošināta iekšzemes ūdeņu ekosistēmas funkcionēšana, kā arī lai būtu iespējams sasniegt labas ūdeņu kvalitātes bioloģiskos rādītājus.

Darba mērķis ir analizēt datus, kas raksturo kvalitāti notecei no lauksaimniecībā izmantotajām platībām (drenu sistēmu un mazo sateces baseinu ūdeņi), un izvērtēt pašreizējās upju ūdensobjektu vērtēšanā izvēlētas biogēno elementu robežvērtības.

Pētniecības darba uzdevumi ir:

- novērtēt ūdeņu kvalitāti notecei no lauksaimniecības zemēm, izmantojot ASV un ES ieteikto metodiku,
- noteikt SIA „Carl Bro Latvija” priekšlikumu atbilstību ūdeņu sateces baseiniem ar lauksaimniecībā izmantojamo zemju īpatsvaru vairāk nekā 60%,
- dot ieteikumus drenu sistēmu un mazo sateces baseinu (meliorācijas sistēmu) ūdeņu kvalitātes klašu izveidei intensīvas lauksaimniecības apstākļos.

Materiāli un metodes

Latvijas normatīvajos aktos upju ūdeņu kvalitātes standarti vēl nav noteikti. Pagaidu klasifikācijas sistēma izveidota Dānijas un Latvijas valdību kopprojektā „ES Ūdeņu struktūrdirektīvas 2000/60/EC ieviešana Latvijā”, kura izpildītājs bija dāņu konsultantu firma „Carl Bro” a/s sadarbībā ar Latvijas konsultantu firmu SIA „Carl Bro Latvija”. Tika ieteiktas piecas kvalitātes klases (augsta, laba, vidēja, slikta, ļoti slikta); katru no tām raksturo noteikti bioloģiskie un ķīmiskie kritēriji – saprobitātes indekss, izšķīdušais skābeklis (minimālā koncentrācija) (mg L^{-1}), bioķīmiskais skābekļa patēriņš (BSP_5) (mg L^{-1}), kopējā fosfora saturs (P_{kop}) (mg L^{-1}), kopējā slāpekļa saturs (N_{kop}) (mg L^{-1}) un amonija slāpekļa saturs (N-NH_4^+) (mg L^{-1}) (Transposition and Implementation ..., 2004). Ja dati liecina, ka ūdensobjekts, ņemot vērā iepriekšminētos kritērijus, atbilst dažādām kvalitātes klasēm, to iedala attiecīgā klasē pēc vissliktākās kvalitātes parametra. Kvalitātes klases attiecināmas uz sešu tipu upēm. Upju tipi noteikti, balstoties uz sateces baseina laukumu, kritumu, straumes ātrumu un gultnes raksturojumu. Tā kā lauksaimniecības notecei visatbilstošākās ir potomāla tipa mazās upes, tad tieši šī tipa upju robežvērtības pēc SIA „Carl Bro Latvija” ieteikumiem lietotas salīdzināšanai ar pētījumā iegūtajiem rezultātiem. Biogēno elementu (N_{kop} un P_{kop}) ieteiktās robežvērtības redzamas 1. tabulā.

SIA „Carl Bro Latvija” ieteikumos, nosakot katras upju ūdeņu ekoloģiskās kvalitātes klases

1. tabula / Table 1

Upju ūdeņu kvalitātes klases pēc SIA „Carl Bro Latvija” priekšlikumiem
River water quality classes according to recommendations of „Carl Bro Latvija” Ltd

	Augsta / High	Laba / Good	Vidēja / Moderate	Slikta / Poor	Ļoti slikta / Bad
$\text{N}_{\text{kop}} / \text{N}_{\text{tot}}$ mg L^{-1}	<1.5	1.5–2.5	2.5–3.5	3.5–4.5	>4.5
$\text{P}_{\text{kop}} / \text{P}_{\text{tot}}$ mg L^{-1}	<0.045	0.045–0.090	0.090–0.135	0.135–0.180	>0.180

biogēno elementu robežvērtības, netika izmantotas lauksaimniecības noteču monitoringa datu bāzes un statistiskās datu apstrādes metodes, kā arī netika ņemti vērā ūdeņos pakāpeniski notiekošie procesi (noteces atšķaidīšanās, sanesu nogulsnešanās, denitrifikācija u.c.), kuros notiek augu barības elementu aizture. Līdz ar to notecei no lauksaimniecībā izmantotajām platībām, kur tikai sākas ūdeņu kvalitātes veidošanās, ir jānosaka atšķirīgas jeb mazāk stingras kvalitātes prasības nekā upju ūdeņiem.

Vērtējot kvalitātes klašu kritēriju robežvērtību pamatotību notecei no lauksaimniecības zemēm, izmantoti LLU Vides un ūdenssaimniecības katedras veiktā lauksaimniecības noteču monitoringa hidroķīmiskie dati, kas iegūti monitoringa stacijās „Mellupīte” (Saldus rajons) un „Bērze” (Dobeles rajons), attiecīgi Ventas un Lielupes upju baseinu apgalbos, laikā no 1994. līdz 2006. gadam.

Monitoringa stacijas un līdz ar to arī sateces baseini izvēlēti, jo tie reprezentē platības ar intensīvu lauksaimniecisko darbību Latvijā (lauksaimniecībā izmantojamo zemju īpatsvars vairāk nekā 60%). Monitoringa staciju un sateces baseinu raksturojums apkopots 2. tabulā. Stacijās iegūtie rezultāti apvienoti vienā datu paraugkopā.

Sateces baseina un drenu sistēmas līmenī automatiskā režīmā uz mēriekārtas tiek noteikts ūdens līmenis un izrēķināts tam atbilstošais caurplūdums. Abos monitoringa līmeņos automatiski, proporcionāli caurplūdamam, polietilēna konteineros tiek atsūknēti un uzkrāti kompozīti ūdeņu paraugi. Ne retāk kā reizi mēnesī ūdeņu paraugi tiek nogādāti Latvijas Hidroekoloģijas institūta ķīmijas laboratorijā, kur ar

akreditētām testēšanas metodēm LVS 340:2001 un LVS EN 1189:1996 nosaka attiecīgi kopējā slāpekļa un kopējā fosfora savienojumu koncentrācijas. Savāktās datu rindas dod iespēju analizēt noteces apjomu un kvalitāti lauksaimniecībā izmantojamās platībās.

Pētījumu rezultātā iegūtie empīriskie dati apstrādāti un analizēti, izmantojot matemātiskās statistiskās metodes. No monitoringa rezultātu datu paraugkopas izveidotas vidējo, maksimālo un minimālo vērtību līknes, kā arī normālā sadalījuma līknes, kuras raksturo savstarpēji saistītas skaitļu rindas: pētāmās pazīmes vērtības un tām atbilstošie atkārtotānos biežumi jeb frekvences. Atkarībā no novērojumu skaita ieteicamā klašu intervāla garuma noteikšanai lieto Sterdžesa vai Breksa formulu (Arhipova, Bāliņa, 1999).

Ja $n < 100$, lieto Sterdžesa formulu:

$$c = (X_{\max} - X_{\min}) \times (1 + 3.32 \lg(n))^{-1}, \quad (1)$$

ja $n > 100$, izmanto Breksa formulu:

$$c = (X_{\max} - X_{\min}) \times (5 \lg(n))^{-1}, \quad (2)$$

kur

- n – novērojumu skaits;
- c – klašu intervālu garums, mg L^{-1} ;
- X_{\max} – novērojumu paraugkopas lielākā vērtība, mg L^{-1} ;
- X_{\min} – novērojumu paraugkopas mazākā vērtība, mg L^{-1} .

2. tabula / Table 2

Monitoringa staciju un sateces baseinu raksturojums
Characteristics of monitoring stations and watersheds

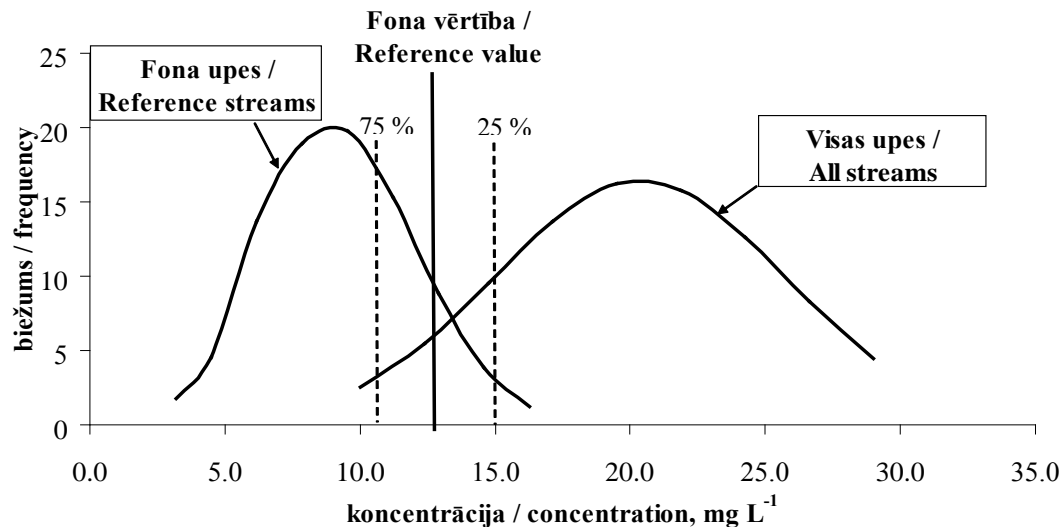
Monitoringa stacija / Monitoring station	Līmenis / Level	Platība, ha / Area, ha	Augsne / Soil	Aprīkojums / Equipment
Mellupīte	Mazais sateces baseins / Small catchment	960		Krampa pārgāzne, datu logeris / Crump weir, data logger
	Drenu sistēma / Drainage system	12	Smilšmāls / Loam	Trijstūra pārgāzne, datu logeris / Triangular weir, data logger
Bērze	Mazais sateces baseins / Small catchment	368		Modificēta Krampa tipa pārgāzne ar V-veida profilu, datu logeris / Modified Crump V-weir, data logger
	Drenu sistēma / Drainage system	77	Putekļains smilšmāls / Silty clay loam	Trijstūra pārgāzne, datu logeris / Triangular weir, data logger

Balstoties uz ASV (Nutrient Criteria ..., 2000) un ES (Cardoso et al., 2001; River and lakes ..., 2003) ieteikto vērtēšanas metodiku, uz ūdeņu kvalitātes rādītāju normālā sadalījuma līknēm atliktas procentuālās robežas, kuras atdala ūdeņu kvalitātes rādītāju vērtības noteiktu klašu ietvaros. Par nosacīti nepiesārņotu dabas ūdeņu stāvokli (fona vērtība) iesaka uzskatīt vidējo lielumu starp nepiesārņotu upju (fona upes) kvalitātes rādītāja koncentrāciju ar 75% nodrošinājumu un pārējo upju koncentrāciju ar 25% nodrošinājumu (1. attēls). Kvalitātes klašu dalījuma

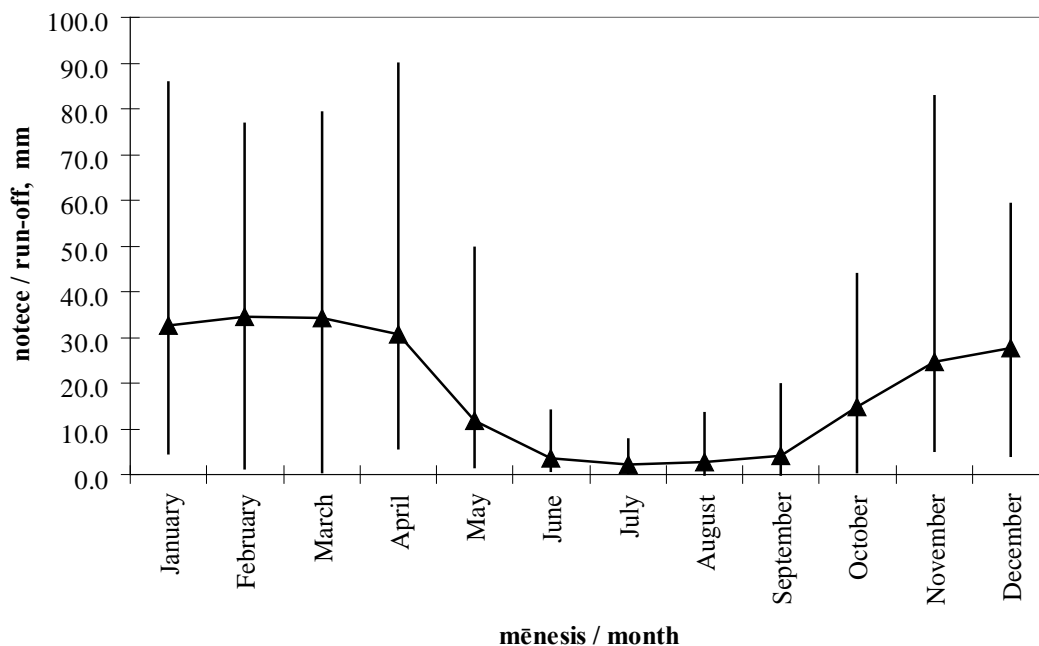
izmantotās procentuālās robežas iesaka saistīt ar šādu aprēķinu nodrošinājumu: <10% – augsta, 10%–25% – laba, 25%–75% – vidēja, 75%–90% – slikta, >90% – ļoti slikta kvalitāte.

Rezultāti un diskusija

Pētāmajā periodā, izmantojot datus no Mellupītes monitoringa stacijas, mazā sateces baseina līmenī tika noteikti mēnešu vidējie, maksimālie un minimālie noteces daudzumi (2. attēls). Konstatēto vērtību intervāli ir īpaši mainīgi gada rudens, ziemas un



1. att. Fona koncentrāciju noteikšana pēc ASV Vides aizsardzības aģentūras metodikas.
Fig. 1. USA Environmental Protection Agency method recommended for determination of reference values.



2. att. Mēnešu vidējā, maksimālā un minimālā notece (1994.–2006. g.).
Fig. 2. Monthly average, maximal and minimal runoff (1994–2006).

pavasara periodā, bet ne tik izteikti mainīgi vasaras periodā. Šādas noteces svārstības (palielināšanos) aukstajā periodā ietekmē gaisa temperatūru un atmosfēras nokrišņu nepastāvīgums, augsnes sasaldšana, sniega akumulācija un kušana. Savukārt vasaras periodā, kad sastopamas augstākās pozitīvās temperatūras, noteci lielā mērā var samazināt evapotranspirācija (iztvaikošana no augsnes un augiem), ūdens uzkrāšanās augsnē un pieplūdes/noplūdes procesi no gruntsūdeņiem.

Gada griezumā ar noteci saistītie dabas procesi ir mainīgi. Veģetācijas stāvoklis, nokrišņu daudzums, gaisa temperatūra, noteces daudzums un intensitāte pa gadiem ir galvenie mainīgie, kas nosaka ūdeņu kvalitāti sateces baseinā. Kopējā slāpekļa mēnešu vidējo koncentrāciju novērojumos ir konstatētas tendences, kuras var salīdzināt ar noteces slāņa vidējo vērtību svārstībām (2. un 3. attēls). Mēnešu vidējās vērtības ir dažādas, tomēr koncentrāciju izmaiņas vasaras mēnešos nav tik izteiktas, salīdzinot ar gada mitrākajiem periodiem. Ziemas, rudens un pavasara periodos koncentrāciju vidējās vērtības ir lielākas un ar lielāku svārstību amplitūdu ilggadīgā griezumā.

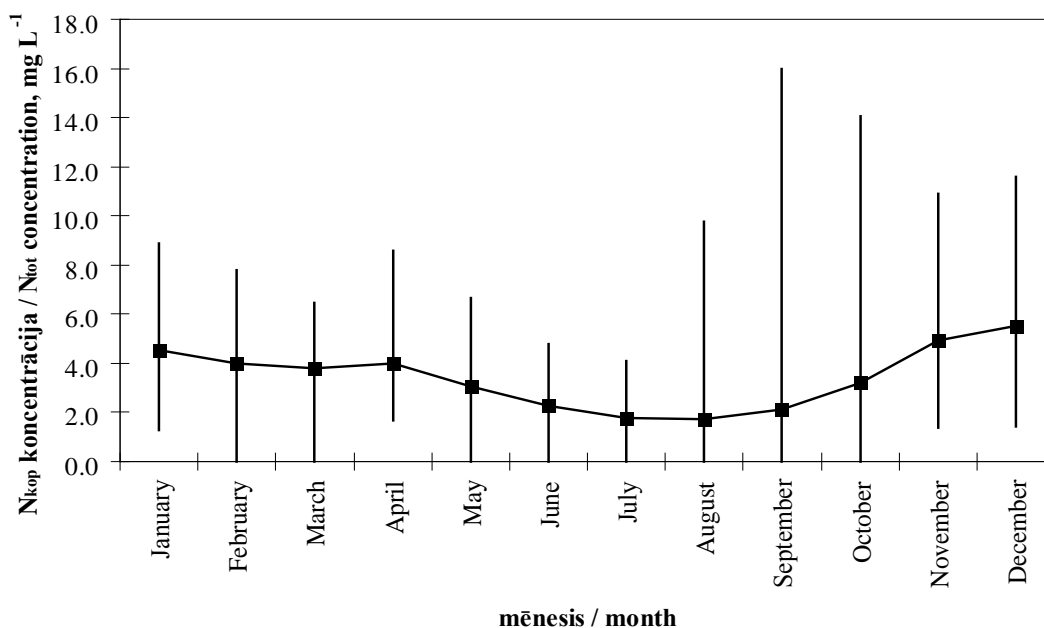
Maksimālās kopējā slāpekļa koncentrācijas novērotas pārmitros rudens periodos pēc izteikti sausām vasarām. 2003. gada sausuma periods, kas ilga no augusta sākuma līdz septembra vidum, un tam sekojošais lielais noteces daudzums bija cēlonis konstatētajai maksimālajai kopējā slāpekļa koncentrācijai ūdenī – 15.97 mg L⁻¹. Savukārt, pēkšņš kopējā slāpekļa koncentrācijas paaugstinājums parasti

tiek saistīts ar lietussgāzēm; šī fenomena skaidrojumam lieto terminu „skalošanas efekts” (Burt et al., 1993).

Galvenais mehānisms tam, kā fosfora savienojumi nonāk ūdenī, ir virszemes noteces procesi. No tā izriet, ka ja neveidojas virszemes notece, tad arī fosfora noplūde ir nenozīmīga (Tunney et al., 1997). Mellupītes sateces baseinā virszemes notecēi ir neregulārs, gadījuma raksturs, līdz ar to monitoringa posteni konstatētās vidējās fosfora koncentrāciju vērtības ir nevienmērīgas un svārstās plašās robežās – no 0.055 mg L⁻¹ līdz 0.135 mg L⁻¹.

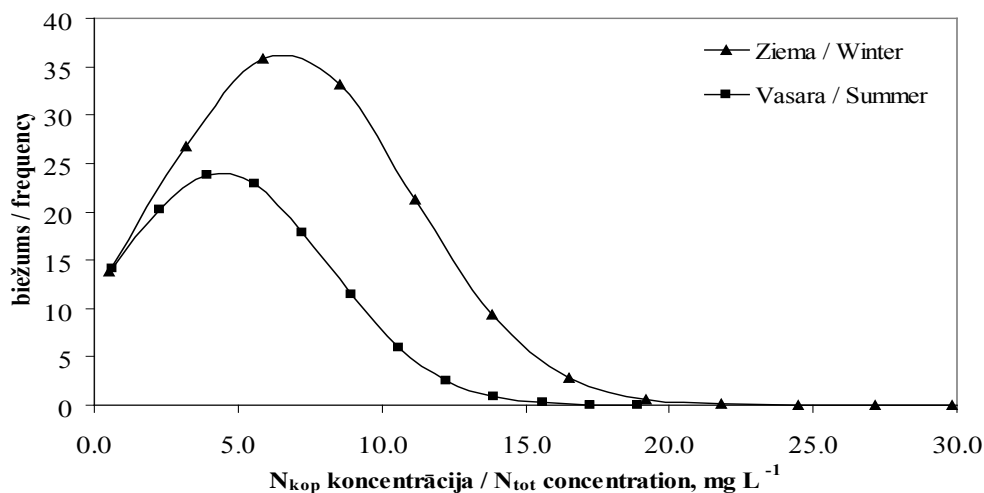
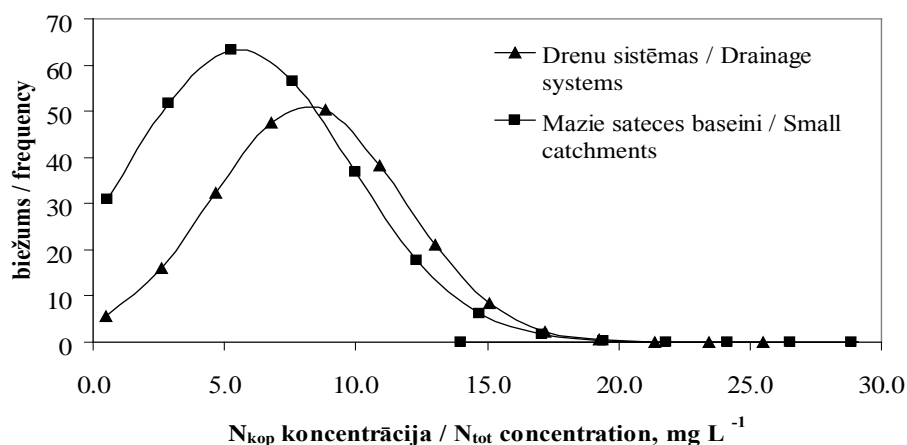
Monitoringa stacijās „Mellupīte” un „Bērze” iegūtie sateces baseinu ūdeņu kvalitāti raksturojošie dati parāda būtiskas atšķirības starp ziemas un veģetācijas periodiem (attieciņi oktobris–marts un aprīlis–septembris). Ziemas periodā analizēti 150 ūdeņu paraugi, veģetācijas periodā – 134. Veģetācijas periodā iegūts mazāk paraugu, jo vasarā izteikta sausuma apstākļos ūdensteces ir izsīkušas. Vērtības attēlotas, izmantojot normālā sadalījuma līknes (4. attēls). Periodi definēti saskaņā ar Nitrātu direktīvas monitoringa vadlīniju (Draft guidelines for ..., 2003) ieteikumiem.

Ziemas periodā, it īpaši gados ar mainīgiem laika apstākļiem un nepastāvīgu sala periodu, tiek novērotas ievērojami augstākas kopējā slāpekļa koncentrācijas. Līdz ar to nākotnē klimata izmaiņu rezultātā varētu palielināties biogēno elementu noplūdes no lauksaimniecībā izmantotajām platībām. Veģetācijas periods ir zīmīgs ar biogēno elementu intensīvu izmantošanu augu attīstības procesos gan augsnes, gan ūdens vidē, tādēļ konstatētās kopējā slāpekļa



3. att. N_{kop} koncentrācijas mazajos sateces baseinos (1994.–2006. g.).

Fig. 3. N_{tot} concentrations in small catchments (1994–2006).

4. att. Sezonālās N_{kop} koncentrāciju atšķirības mazajos sateces baseinos.Fig. 4. Seasonal differences in N_{tot} concentrations in small catchments.5. att. N_{kop} koncentrāciju salīdzinājums drenu sistēmās un mazajos sateces baseinos.Fig. 5. A comparison of N_{tot} concentrations in drainage systems and in small catchments.

vērtības ir zemākas. Salīdzinot ziemas un vasaras visbiežāk novērotās kopējā fosfora koncentrācijas, var secināt, ka vērtību atšķirības ziemā ir 0.11 mg L^{-1} , vasarā – 0.064 mg L^{-1} . Lai gan ziemas un veģetācijas periodi ir savstarpēji nesalīdzināmi (gaisa un ūdens temperatūras, nokrišņu daudzums un intensitāte, noteces slānis), tomēr mūsu pētījuma ietvaros, veidojot ūdeņu kvalitātes klašu dalījuma ieteikumus, sezonālās atšķirības netiek ņemtas vērā.

Drenāža ietekmē augsnes ūdens režīma izmaiņas, kā arī noteces kvalitāti nosusinātajās platībās, īpaši lauksaimniecībā intensīvi izmantotajās teritorijās (Burt et al., 1993). Drenāža uzlabo kultūraugu augšanas apstākļus un palielina ražu, jo iespējama ātrāka sēja pavasarī, samazinās augsnes pārmitrinājums, palielinās augsnes temperatūra, tiek veicināti aerobie procesi augsnē (Oquist et al., 2007). Aerobie procesi augsnē pastiprina organiskā slāpekļa transformāciju

nitrātu slāpekli, kas var vieglāk izskatīties no augsnes profila ar drenu noteci (Burt et al., 1993). Savukārt baseina līmenī sākas nitrātu slāpekļa aiztures procesi, īpaši veģetācijas periodā.

Mellupītes un Bērzes monitoringa stacijās konstatētā nitrātu slāpekļa procentuālā attiecība pret kopējo slāpekli baseinu līmenī ir 62%, drenu sistēmu ūdeņos – 90%. Tādējādi arī kopējā slāpekļa koncentrācijas drenu ūdeņos ir augstākas (5. attēls).

No drenu sistēmām virszemes ūdenstecē nonākušais organiskais un neorganiskais slāpekļlis tiek izmantots un transformēts ūdens floras metabolisma procesos. Šajos procesos piedalās ūdens makrofīti, krastu makrofīti, aļģes, mikro-heterotrofi un denitrifikācijas baktērijas. Transformācijas procesi, tādi kā nitrifikācija un denitrifikācija, pārnes slāpekļa savienojumus no ūdens vides biotā, atmosfērā vai sedimentos (Burt et al., 1993).

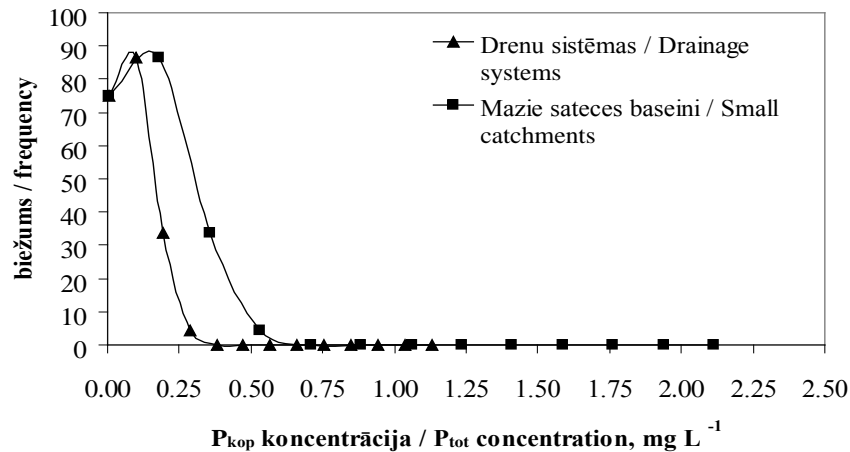
Koncentrāciju samazināšanos baseinu līmenī ietekmē ne tikai transformācijas un patērēšanas procesi, bet arī virszemes noteces pieplūdums un ar to saistītā drenu noteces ūdeņu atšķaidīšana.

Fosfora zudumus no lauksaimniecībā izmantotajām platībām var izraisīt vairāki procesi. Svarīgākie no tiem ir ūdens izraisītā augsnes erozija, virszemes notece un notece, kas veidojas, ūdenim filtrējoties cauri augsnes profilam (izskalošanās). Lielākai daļai augšņu ir liela fosfora ķīmiskās saistīšanas spēja, tādēļ fosfora savienojumu izskalošanās no augsnes vairumā gadījumu ir niecīga (Tunney et al., 1997). Nereti vairāk nekā 90% no kopējā fosfora savienojumu daudzuma var atrasties organisku savienojumu veidā vai saistīti ar suspendēto vielu (Kļaviņš, Cimdiņš, 2004). Fosfors tiek transportēts izšķīdušā un daļiņu formā. Daļiņu formā fosfors ir saistīts ar augsni un organiskām vielām. Ūdens plūsmas veidotās augsnes erozijas

rezultātā tas ir pakļauts noskalošanai un veido lielāko fosfora noplūdes daļu no lauksaimniecībā apstrādātajām platībām. Atkarībā no noskalošanās augsnes īpašībām augi ir spējīgi bioloģiski uzņemt no 10% līdz 90% no daļiņu formā esošā fosfora. Notece no ganībām, drenētām platībām un mežiem satur maz sedimentu, tādēļ tur dominē izšķīdušā fosfora forma, kas ir pilnībā pieejama augu izmantošanai (Tunney et al., 1997). Salīdzinot P_{kop} koncentrācijas drenu sistēmu un mazo sateces baseinu ūdeņos (6. attēls), redzams, ka visbiežāk novērotās koncentrācijas drenu ūdeņos ir mazākas nekā sateces baseinā. Mazajos sateces baseinos drenu noteci papildina virszemes notece un augsnes ūdens erozijas produkti.

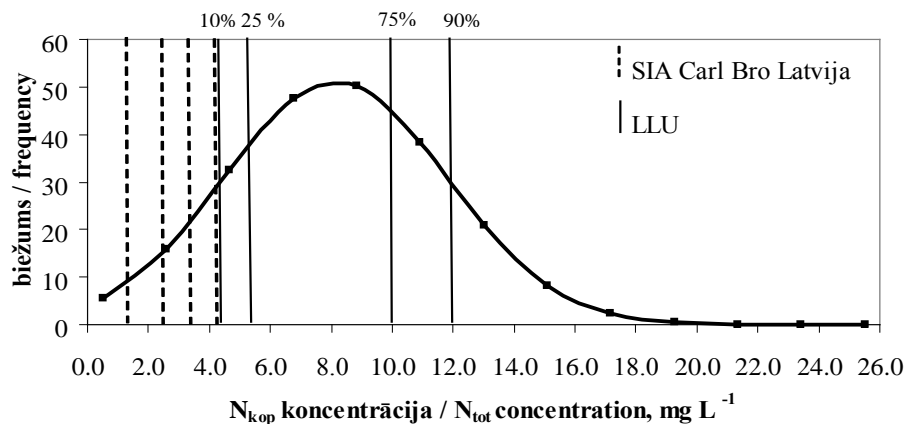
Ieteikumi

Priekšlikumus ūdeņu kvalitātes dalījumam klasēs Latvijai izstrādājusi SIA „Carl Bro Latvija”



6. att. P_{kop} koncentrācijas drenu sistēmās un mazajos sateces baseinos.

Fig. 6. P_{tot} concentrations in drainage systems and in small catchments.



7. att. Ūdeņu kvalitātes klašu robežvērtības.

Fig. 7. Water quality classification boundaries.

3. tabula / Table 3

Ieteicamais ūdeņu kvalitātes dalījums (N_{kop} un P_{kop}) pēc LLU pētījumiem
 Evaluation for water quality (N_{tot} and P_{tot}) according to LLU data

Kvalitāte / Quality	N_{kop} / N_{tot} , mg L ⁻¹			P_{kop} / P_{tot} , mg L ⁻¹		
	Agricultural area		"Carl Bro"	Agricultural area		"Carl Bro"
	Drenu sistēmas / Drainage systems	Mazie sateces baseini / Small catchments		Drenu sistēmas / Drainage systems	Mazie sateces baseini / Small catchments	
Augsta / High	<4.5	<1.5	<1.5	<0.015	<0.025	<0.045
Laba / Good	4.5-5.5	1.5-2.5	1.5-2.5	0.015-0.020	0.025-0.050	0.045-0.090
Vidēja / Moderate	5.5-10.0	2.5-7.5	2.5-3.5	0.020-0.075	0.050-0.150	0.090-0.135
Slikta / Poor	10.0-12.0	7.5-10.5	3.5-4.5	0.075-0.135	0.150-0.250	0.135-0.180
Ļoti slikta / Bad	>12.0	>10.5	>4.5	>0.135	>0.250	>0.180

(1. tabula). Taču pielietot šo ieteikto kvalitātes rādītāju vērtēšanas skalu nebūtu ieteicams, ņemot vērā faktisko ūdeņu kvalitāti drenu sistēmās un meliorācijas sistēmu notekās lauksaimniecībā izmantojamās zemēs (LLU monitoringa rezultāti no 1994. līdz 2006. gadam stacijās „Mellupīte” un „Bērze”). Vadoties pēc šiem rādītājiem, drenu sistēmu un mazu sateces baseinu līmenī izpildīt Ūdeņu struktūrdirektīvas pamatuzdevumu „sasniegt labu ūdens kvalitāti” nevarēs. Par to liecina pētījumu rezultātā izveidotā drenu sistēmu ūdeņu kvalitātes klašu dalījuma salīdzinājums ar SIA „Carl Bro Latvija” priekšlikumiem (7. attēls).

SIA „Carl Bro Latvija” un pētījuma gaitā izstrādātie priekšlikumi apkopoti 3. tabulā. No tabulas redzams, ka, novērtējot fosfora savienojumus ūdeņos, drenu sistēmu notecei var noteikt pat stingrākus vērtēšanas kritērijus nekā upēm pēc SIA „Carl Bro Latvija” ieteikumiem. Līdzīgi varētu rīkoties ar koncentrāciju vērtējumu (augsta un laba kvalitāte) meliorācijas sistēmu novadgrāvjiem un notekām. Taču šeit būtu jāsamazina prasības vidējas, sliktas un ļoti sliktas kvalitātes ūdeņiem.

Vērtējot slāpekļa savienojumus, nepieciešams vairākkārt samazināt prasības drenu noteces kvalitātei un daļēji samazināt prasības novadgrāvju un ūdens noteku noteces kvalitātei.

Secinājumi

1. Ūdeņu kvalitātes standartu/kritēriju noteikšanai ieteicams izmantot ASV Vides aizsardzības aģentūras un Eiropas Komisijas Apvienotā pētījumu centra ieteikto metodiku, kuras pamatā

ir procentuālo robežu noteikšana, izmantojot normālā sadalījuma līknes.

- Lai gan gada griezumā dabā notiekošie procesi ir mainīgi (veģetācijas attīstība, nokrišņu daudzums, gaisa temperatūra, noteces apjoms) un atstāj ietekmi uz ūdeņu kvalitāti, tomēr, izstrādājot ūdeņu kvalitātes vērtēšanas standartus, tos nevajadzētu ņemt vērā, jo nebūtu vēlams atsevišķi klasificēt ūdeņu kvalitāti dažādos gada periodos.
- Drenu sistēmu notecei un notecei no mazajiem sateces baseiniem nevar piemērot upju notecei izstrādātās ūdeņu kvalitātes standartu vērtības. Hidrogrāfiskā tīkla sākumā (drenu sistēmas, novadgrāvji, mazie sateces baseini) biogēno elementu koncentrācijas ūdenī parasti ir paaugstinātas salīdzinājumā ar upēm.
- Ieviešot SIA „Carl Bro Latvija” priekšlikumus ūdeņu kvalitātes vērtēšanai drenu sistēmu un mazo sateces baseinu līmenī, izpildīt Ūdeņu struktūrdirektīvas pamatuzdevumu „sasniegt labu ūdens kvalitāti” nevarēs. LLU pētījuma gaitā izstrādāto kvalitātes standartu ieviešana ļautu objektīvāk izvērtēt šo ūdensteču kvalitāti, noteikt piesārņojuma līmeni, kā arī sekmētu rīcības programmas izstrādi, lai uzlabotu ūdeņu stāvokli lauksaimniecībā izmantotajās platībās.
- Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka par labu ūdeņu kvalitātes robežlielumu, vērtējot pēc kopējā slāpekļa koncentrācijas, drenu sistēmās varētu pieņemt 4.5-5.5 mg L⁻¹, mazos sateces baseinos – 1.5-2.5 mg L⁻¹.

6. Savukārt, vērtējot pēc kopējā fosfora koncentrācijas, par labu ūdeņu kvalitātes robežlielumu drenu sistēmās varētu uzskatīt 0.015-0.020 mg L⁻¹, mazos sateces baseinos – 0.025-0.050 mg L⁻¹.

Literatūra

1. Arhipova, I., Bāliņa, S. (1999) *Statistika ar Microsoft Excel 97 ikvienam. 1. daļa*. Datorzinību Centrs, Rīga, 15-22 lpp.
2. Burt, T.P., Heathwaite, A.L., Trudgill, S.T. (1993) *Nitrate: processes, patterns and management*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, pp. 444.
3. Cardoso, A.C., Duchemin, J., Magoarou, P., Premazzi, G. (2001) *Criteria for the identification of freshwaters subject to eutrophication*. European Commission, Joint Research Centre, Italy, pp. 39-41.
4. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy. (2000) *Official Journal of the European Communities*, No. L327, pp.1-5 (22.12.2000).
5. *Draft guidelines for the monitoring required under the Nitrates directive (91/676/EEC)*. (2003) European Commission, Directorate 0 – Environment quality and natural resources, XI.D.1 – Water protection, soil conservation, agriculture. Norwegian Institute for Water Research, Oslo, pp. 14.
6. Kļaviņš, M., Cimdiņš, P. (2004) *Ūdeņu kvalitāte un tās aizsardzība*. Latvijas Universitāte, Rīga, 52 lpp.
7. Ministru kabineta noteikumi Nr. 118. (2002) Noteikumi par virszemes un pazemes ūdeņu kvalitāti. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 50, 03. 04. 2002.
8. Ministru kabineta noteikumi Nr. 179. (2003) Noteikumi par upju baseinu apgabalu robežu aprakstiem. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 60, 17. 04. 2003.
9. Ministru kabineta noteikumi Nr. 283. (2003) Noteikumi par upju baseinu apgabalu apsaimniekošanas plāniem un pasākumu programmām. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 81, 30. 05. 2003.
10. Ministru kabineta noteikumi Nr. 681. (2004) Upju baseinu apgabala konsultatīvās padomes nolikums. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 176, 12. 12. 2003.
11. Ministru kabineta noteikumi Nr. 736. (2003) Noteikumi par ūdens resursu lietošanas atļauju. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 183, 30. 12. 2003.
12. Ministru kabineta noteikumi Nr. 858. (2004) Noteikumi par virszemes ūdensobjektu tipu raksturojumu, klasifikāciju, kvalitātes kritērijiem un antropogēno slodžu noteikšanas kārtību. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 168, 22. 10. 2004.
13. Ministru kabineta noteikumi Nr. 92. (2004) Prasības virszemes ūdeņu, pazemes ūdeņu un aizsargājamo teritoriju monitoringam un monitoringa programmu izstrādei. *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 30, 25. 02. 2004.
14. *Nutrient Criteria Technical Guidance Manual: Rivers and Streams*. (2000) United States Environmental Protection Agency, Washington, pp. A-25–A-28.
15. Nutrient Pollution to the Baltic Sea in 2000. (2005) *Baltic Sea Environment Proceedings*, No.100, Helsinki Commission, pp. 3-4.
16. *Nutrients in European ecosystems*. (1999) Office for Official Publications of the European Communities, Copenhagen, pp. 60-80.
17. Oquist, K. A., Stroock, J. S., Mulla, D. J. (2007) Influence of alternative and conventional farming practices on subsurface drainage and water quality. *Journal of Environmental Quality*, 36, pp. 1194-1204.
18. *River and lakes – Typology, reference conditions and classification systems*. (2003) EU Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC), Working group 2.3 – Reference conditions for inland surface waters, Luxembourg, pp. 39-42.
19. *The Quality of Our Nation's Waters – Nutrients and Pesticides*. (1999) U.S. Geological Survey, Reston, Virginia, pp. 40-45.
20. *Transposition and Implementation of the EU Water Framework Directive In Latvia*. (2004) Technical Report No. 3: Action Plan – How to define ecological status of surface water body types. Dānijas vides aizsardzības aģentūra, LR Vides ministrija, Carl Bro a/s (Denmark) & Carl Bro SIA (Latvia), April, pp. 50-60.
21. Tunney, H., Carton, O.T., Brookes, P.C., Johnston, A.E. (1997) *Phosphorus Loss from Soil to Water*. Biddles Ltd, Guildford and King's Lynn, UK, 467 pp.
22. Ūdens apsaimniekošanas likums. (2002). *Latvijas Vēstnesis*, Nr. 140, 01.10.2002.
23. Vuorenmaa, J., Rekolainen, S., Lepistö, A., Kenttämies, K., Kauppila, P. (2002) Losses of nitrogen and phosphorus from agricultural and forest areas in Finland during the 1980s and 1990s. *Environmental Monitoring & Assessment*, 76, pp. 214.

Pateicība

Pētījums veikts ar Eiropas Savienības struktūrfondu projekta “Atbalsts doktorantūras studijām un pēcdoktorantūras pētījumiem inženierzinātnēs, lauksaimniecības inženierzinātnēs un mežzinātnē”, līguma Nr. 2004/0004/VPD1/ESF/PIAA/04/NP/3.2.3.1./0001/0005/0067, atbalstu.

Illīta politīpu pētījumi glacigēnos nogulumos Illite Polytypes Studies in Glacigenic Sediments

Ilze Lūse

LLU Augsnes un Augu zinātņu institūts;
LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātes Lietišķās ģeoloģijas katedra
Institute of Soil and Plant Sciences, Latvia University of Agriculture;
Department of Applied Geology, University of Latvia
e-mail: ilze.luse@llu.lv

Valdis Segliņš

LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātes Lietišķās ģeoloģijas katedra
Department of Applied Geology, University of Latvia

Agnese Stunda, Līga Bērziņa-Cimdiņa

RTU Rīgas Biomateriālu inovāciju un attīstības centrs
Riga Biomaterials Innovation and Development Centre, Riga Technical University

Abstract. Illite mineral forms are studied by X-ray powder diffraction in fractions of $<1 \mu\text{m}$ of glacigenic and older basin sediments collected in Kuprava and Ulmale study areas. Samples were fractioned without chemical treatment and random samples were subjected to X-ray powder diffraction (XRPD) analysis. The presence of various mineral phases was established in the samples, crystallization level of illite was determined, and asymmetry of illite 002 reflex was observed. Poor non-basal illite reflexes appear among maxima of primary phases (quartz, albite, orthoclase) in XRPD spectra. Detritic origin $2M_1$ illite containing solitary reflexes of $1Mc_v$ and $1Mt_v$ polytype is predominant among $1Md$ structures. Glacigenic and underlying sediments show different intensity of reflexes corresponding to these polytypes. Diversity of illite $1Mt_v$ and $1Mc_v$ reflexes is observed either for glacigenic or underlying sediment samples of $<1 \mu\text{m}$. The absence of some reflexes is observed: there is not observed 112 and -110 reflexes characteristic for $1Mc_v$ polytype as well as 112 reflex characteristic for $1Mt_v$ structure.

Key words: illite, polytype, glacigenic sediments.

Ievads

Glacigēno jeb ledāja veidoto nogulumu sastāva un saguluma apstākļu ļoti augstā mainība griezumā un telpā arī zinātniskajā literatūrā nereti tiek uzskatīta par šķērslī vai pat izslēdzošo faktoru to detalizētiem pētījumiem, īpaši attiecībā uz sastāva un īpašību izmaiņām. To apliecina pēdējā pusgadsimtā veiktie daudzie detālie pētījumi visā pēdējā apledojuma zonā (Boulton et al., 2001; Svendsen et al., 2004). Tajā pašā laikā ir labi izpētītas dominējošo glacigēno nogulumu (morēnu jeb diamiktonu) sastāva veidošanās galvenās likumsakarības un ietekmējošie faktori (Dreimanis, 1989; Kalm, Kadastik, 2001). Šīs atziņas papildina pēdējos gadu desmitos veiktie mūsdienu ledāju veidoto nogulumu pētījumi (Benediktsson et al., 2008; Christoffersen et al., 2003). Tomēr šie pētījumi galvenokārt ir statistiski un konstatējoši, tādēļ nesniedz pilnīgas atziņas par sastāva izmaiņām ledāja mijiedarbībā ar tā gultnes iežiem un jaunveidotās morēnas materiāla sastāva izmaiņām agrīnās diaģenēzes posmā.

Morēnas materiāla sastāva pētījumiem Ziemeļeiropā un arī Latvijā ir ļoti sena vēsture un atzīstami panākumi, kas īpaši svarīgi ir attiecībā uz pētījumu metodoloģijas attīstību. Tomēr pēdējo gadu desmitu laikā attiecībā uz sastāva pētījumiem jaunu sekmīgu risinājumu ir maz. Pēc mūsu domām, tam ir divi galvenie iemesli, starp kuriem svarīgākais ir maldīgs pieņēmums mēģināt konstatēt un izskaidrot morēnas sastāva izmaiņas ģeogrāfiskajā telpā pēc tiem vai citiem sastāva analītiskiem pētījumu rezultātiem, nepietiekami izzinot sastāva izmaiņas mijiedarbības zonā starp senā ledāja gultnes iežiem un jaunveidotās morēnas nogulumiem. Savukārt kā otrs iemesls minams pētījumiem izvēlēto raupjuma frakciju pamatojums kādu noteiktu likumsakarību atpazīšanai un interpretācijai.

Vispārējās morēnu sastāva veidošanās likumsakarības un sastāva ietekme no ledāja gultnes iežu sastāva Latvijas Kvartāra nogulumos ir salīdzinoši labi zināmas (Даниланс, 1973; Segliņš, 1987), tomēr to vispārīguma pakāpe ir

Ļoti augsta. Šajos pētījumos nav apskatīts morēnas sastāva veidošanās mehānisms. Tajā pašā laikā vēra ņemamas ir minēto autoru un citu pētnieku norādes par glacigēno nogulumu sastāva pētījumu tradicionālās prakses ierobežojumiem konstatēt sastāva veidošanās likumsakarības. Minētais ir attiecināms uz sastāva raupjuma frakcijām no pašām rupjākajām morēnas sastāvā iekļautajām atlūzām un graudiem līdz pat smalkiem aleirītiem, tos ieskaitot. Tomēr no iepriekšējos gados veiktiem pētījumiem zināms (Kalm, 1992; Haldorsen et al., 1989), ka arī mālu frakcijās minerālu sastāva ziņā morēnas praktiski neatšķiras no vietējiem pamatiežiem, lai arī proporcijas starp dažādiem mālu minerāliem un to grupām var būt visai atšķirīgas (Pulkkinen, 2004).

Detālāk ir lietderīgi pētīt smalkākās morēnas sastāva frakcijas (māli) un šajā sadaļā potenciāli ir iespējams rast kādus jaunus sastāva veidošanās indikatorus un liecības. Šādi pētījumi ir uzsākami ledāja un tā gultnes iežu mijiedarbības zonā.

Latvijā dažāda vecuma mālainajos nogulumos ir pētīta mālu minerālu reģionālā izplatība, to asociācijas (Eiduks, Vaivads, 1953; Stinkule, 2006) un šo nogulumu sorbcijas īpašības (Lakevics, 2006; Rupulis, 1998). Latvijas mālainie nogulumi ir pētīti arī no tautsaimniecības viedokļa, galvenokārt analizējot šo nogulumu fizikālās īpašības un ķīmisko sastāvu (Certoks et al., 2006). No šiem pētījumiem (Stinkule, 2006) zināms, ka Latvijā sastopamajos mālainajos nogulumos no mālu minerāliem galvenokārt dominē illīts un kaolinīts. Pētījumu par kaolinīta saimniecisko nozīmi pasaulē ir daudz, un tie ir pietiekami, bet par illītu – maz. Atzīmējams, ka kaolinīts morēnu sastāva analītiskajos pētījumos ir apskatīts vairākkārtīgi, un tie norāda uz visai ierobežotām iespējām kaolinītu izmantot kā pietiekami jutīgu sedimentācijas apstākļu un sekojošo pārmaiņu indikatoru (Junttila, 2007).

Pētījuma mērķis bija noskaidrot iespējamās izmaiņas illīta struktūrās morēnas nogulumu veidošanās un pēdsedimentācijas gaitā, kā arī novērtēt iespējas izmantot konstatētās izmaiņas kā paleovides indikatoru. Tika pieņemts, ka šajā gadījumā literatūrā aprakstītās (Sainz-Diaz et al., 2001; Drits, 2003) cis un trans vakanto struktūru izmaiņas pat nelielu ārējo faktoru ietekmē var tikt konstatētas paraugos no pamatiežiem un tos pārklājošās morēnas (Lūse et al., 2008).

Līdzīgu māla minerālu pētījumu veikšanai par ātrāko un drošāko metodi visbiežāk izmantota rentgenstaru pulverdifraktometrija (turpmāk tekstā – XRPD) (Środon et al., 2001). Šī metode tika

apgūta Latvijas Universitātes Cietvielu Fizikas institūtā un pētījuma vajadzībām tika adaptēta tieši šādu paraugu pētījumiem (Luse et al., 2007). Illīta strukturālās izmaiņas noteica ar rentgenstaru pulverdifrakcijas metodi, izmantojot illīta nebazālos refleksus. Šie refleksi ir ar vāji izteiktu intensitāti, kas apgrūtināja to izšķiršanu no spektru fona. Tādēļ, lai panāktu konstatēto nebazālo maksimumu augstāku izšķirtspēju, tika veikta eksperimentu sērija, izmantojot rentgenstaru pulverdifraktometrus ar atšķirīgiem tehniskajiem parametriem, pilnveidojot paraugu sagatavošanas tehniku un mainot paraugu uzņemšanas parametrus (Stunda et al., 2008).

Materiāli un metodes

Pētījumam tika izvēlēti divi iecirkņi, no kuriem pirmais atradās Baltijas jūras stāvkrastā apmēram 2 km uz ziemeļiem no Ulmāles, bet otrs – apmēram 5 km uz rietumiem no Kupravas. Ulmāles pētījumu iecirknī tika izveidots atsegums (7·8 m), no kura turpmākajiem pētījumiem tika ievākti divi glacigēno nogulumu paraugi un divi zem tiem paguļošo nogulumu paraugi. Kupravas pētījuma iecirknī tika izveidots šurfs (3·4·3 m), no kura ievākti trīs glacigēno un trīs zem tiem iegūļošo devona mālu nogulumu paraugi. Visos gadījumos paraugu ievākšana veikta pa profila līniju perpendikulāri slāņu kontaktvirsmām. Rezultātā tika noņemti 2–3 kg smagi glacigēno¹ nogulumu paraugi ar salīdzinoši augstu vietējā² materiāla piesātinājumu. Paraugi tika nogādāti laboratorijā un žāvēti istabas temperatūrā.

Paraugi tika frakcionēti, izmantojot dekantēšanas un sijāšanas metodes, >63, 63–16, 16–2, <2 un <1 μm frakcijās. Balstoties uz līdzīga sastāva nogulumu pētījumiem (Austin et al., 1989; Ferrari et al., 2006), šim pētījumam tika izvēlēta frakcija <1 μm.

Illīta struktūru pētījumi veikti pētāmo paraugu 1 μm frakcijai, kas iegūta ar frakcionēšanas palīdzību, nepieciešamo frakciju dekantējot pēc L. Stoksa vienādojuma (Tucker, 1988). Frakcionēšanai nepieciešamais parauga daudzums (50 g) iegūts, gaissausus paraugus maisot un kvartējot, tādējādi iegūstot vidējotu nogulumu paraugu. Frakcionēšanas gaitā koagulācijas novēršanai tika izmantota paraugu trīskārša skalošana ar bidestilētu ūdeni. Šāds metodisks risinājums tika izvēlēts pēc vairākiem eksperimentiem, kuru rezultātā tika noskaidrots, ka ķīmisko elementu izmantošana paraugu disperģēšanā būtiski ietekmē rentgenogrammu fonu, kas apgrūtināja iegūto datu turpmāko interpretāciju (Lūse et al., 2008).

¹ Glacigēnie nogulumi (morēna) ir veidojušies ledajā ieslēgtā un pārvietotā iežu atlūzu materiāla izgulsnēšanās rezultātā bez aktīvas ledāja kušanas ūdeņu līdzdalības.

² Par vietējo sauc drupu materiālu, ko ledājs asimilē un pārnes nelielā attālumā.

Paraugu sagatavošana XRPD analīzei. Illītu politīpu noteikšanai tika izmantoti neteksturēti paraugi, kurus ieguva, paraugu samālot korunda piestā līdz miltveida konsistencei. Pēc tam samaltais paraugs tika vienmērīgi uzbērts uz parauga turētāja un nolīdzināts, ar īsiem naža vilcieniem nogludinot atsevišķu minerālu agregātu veidotos nelīdzenums. Ņemot vērā parauga nelielo daudzumu, analīzei tika izmantots plānslāņa pulvera paraugu turētājs. Mūsu pieredze norāda, ka šāds parauga turētājs rentgenstara caurspīdēšanas gadījumā nerada kļūdainus XRPD spektros nolasāmos refleksus. Paraugs tika uzņemts, parauga turētājam rotējot, līdz ar to samazinot iespējamās tekstūrēšanās ietekmi. Sekojot citu pētnieku pieredzei (Grathoff, Moore, 1996), nejaus kristalītu izvietojums paraugā tika atzīts par labu, ja illīta 020 reflekss bija ievērojami lielāks par 002 refleksu.

Illīta struktūras tika pētītas ar rentgenstaru pulverdifrakcijas analīzi (XRPD metode), kas ir viena no pamatmetodēm mālaino nogulumu kvalitatīvai, kvantitatīvai analīzei (izmantojot Rietvelda metodi), kā arī mālu minerālu polimorfisma pētījumos (Šrodon et al., 2001). Paraugi tika analizēti ar X'PERT-PRO rentgenstaru difrakcijas iekārtu, izmantojot CuK 2θ³ starojumu (λ=1.54183Å) pie 30 kV un 40 mA. Izmantotā iekārta eksperimentu gaitā tika pielāgota mālu minerālu struktūru pētījumiem, kam bija nepieciešama augsta nebazālo refleksu izšķirtspēja. Augsta XRPD rezultātu precizitāte iegūta, izmantojot mazu soli (0.017°) un palielinot ekspozīcijas laiku uz katru soli līdz 120 sekundēm. Vienmērīgs fons un pietiekami intensīvi nebazālie refleksi tika iegūti pie 10 mm vertikālās un 1/2° horizontālās spraugas atvēruma, parauga apstarotais laukums tika ievērots konstanti 5 mm, bet difrakcijas ainas tika uzņemtas no 2° līdz 70° 2θ.

Pēc neteksturētu paraugu uzņemšanas izmantotie paraugi tika sadalīti divās vienādās daļās. Turpmākai hlorīta, kaolinīta un smekītīta identifikācijai no katra šāda parauga tika sagatavoti divi neteksturēti paraugi. Viena parauga daļa divas stundas tika karsēta pie 550 °C, bet otra tika ievietota eksikatorā, kuru līdz 1 cm uzpildīja ar etilēnglikolu. Paraugus novietoja uz paraugu turētāja žāvējamajā skapī kopā ar eksikatoru uz diennakti 60–70 °C etilēnglikola atmosfērā (Poppe et al., 2001). Rezultātā paraugi tika piesātināti ar etilēnglikolu. Šāda paraugu sagatavošanas gaita ļāva no katra sākotnējā parauga iegūt trīs atsevišķus paraugus, kuriem tika uzņemtas un analizētas atbilstoši trīs rentgenogrammas.

Minerālā sastāva noteikšanā XRPD spektros tika izmantoti vairāku autoru darbos (Bradley, 1961; Brindlley, 1961a, 1961b; Jørgensen, 1965; Grim, 1962; Tucker, 1988; Burt ed., 1996 u.c.) aprakstītie fāžu diagnostikas pamatkritēriji. Tā iespējamo illīta modifikāciju noteikšanai tika izmantots 2θ posms no 23° līdz 35.5° (Austin et al., 1989; Ferrari et al., 2006) neteksturētu paraugu rentgenogrammās, kurās citu fāžu refleksu ar augstām intensitātēm bija salīdzinoši maz vai netika novēroti. Illīta struktūrās sastopamā slāņu nesakārtotības pakāpe jeb turbostratīsmas tika noteikta, katram paraugam aprēķinot turbostratīsmas indeksu (Righi et al., 1995). Illīta-smekītīta pieaugums, kas ir saistīts ar iepriekšminēto slāņu nesakārtotību, tika raksturots, analizējot illīta 002 refleksa asimetriju (Meunier, Velde, 2004). Illīta kristalizācijas indekss noteikts, balstoties uz illīta 002 un 004 refleksu attiecību XRPD spektros (Graff-Petersen, 1961).

Paraugu minerālā sastāva kvantitatīvā daudzuma raksturošanai tika izmantotas datorprogrammas „Quanto” (Altomare et al., 2001) un „SiroQuant” (Taylor, 1991), bet illīta modifikāciju noteikšanai tika izmantota puskvantitatīvā rentgenstaru pulverdifrakcijas metode (Pulkkinen, 2004).

XRPD datu verificācijai tika izmantota skenējošās elektronmikroskopijas metode (SEM). Analīzei izmantoti nedrupināti, nefrakcionēti paraugi, kuri tika pielīmēti uz paraugu turētāju virsmām. Paraugi analizēti ar MIRA/LMU iekārtu. Illīta struktūru morfoloģijas pētījumiem izmantoti 100.00e3x un 150.00e3x palielinājumi.

Rezultāti

Glacigēno un zem tiem iegulošo⁴ nogulumu XRPD spektros no Ulmāles tika diagnosticētas vairākas minerālu fāzes: illīts (novērojams maksimums pie 8.85° 2θ visos paraugu apstrādes veidos), kaolinīts (kristāliskās struktūras sagrūšana pie 550 °C, visos pārējos apstrādes veidos – piesātināts un nepiesātināts paraugs ar etilēnglikolu, maksimums saglabājās pie 12.5° 2θ), hlorīts (raksturīgs maksimums pie 6.29° 2θ), kvarcs (izteikts maksimums pie 26.71° 2θ visos paraugu apstrādes veidos), ortoklāzs (maksimums pie 27.51° 2θ visos paraugu apstrādes veidos), albīts (dubultmaksimumi starp 27.94 un 28.24 un maksimums pie 23.63° 2θ visos paraugu apstrādes veidos) un kalcīts (izteikts un spēcīgs maksimums pie 29.43° 2θ).

Glacigēno un zem tiem iegulošo nogulumu XRPD spektros no Kupravas pētījuma iecirkņa tika diagnosticētas šādas minerālu fāzes: illīts (diagnosticēts ar maksimumu pie 8.81° 2θ visos

³ Ar θ (theta) apzīmē leņķi starp rentgenstaru un kristāla režģa plakni.

⁴ Nogulumi, kurus pārsedz glacigēnie nogulumi, tiek saukti par zem glacigēnajiem nogulumiem iegulošiem nogulumiem.

parauga apstrādes veidos), kaolinīts (novērota kristāliskās struktūras sabrukšana pie 550 °C, visos pārējos apstrādes veidos – piesātināts un nepiesātināts paraugs ar etilēnglikolu, maksimums saglabājās pie 12.38° 2θ), smektīts (raksturīgs maksimums pie 6.06° 2θ), kvarcs (izteikts maksimums pie 26.72° 2θ visos apstrādes veidos) un hematīts (maksimumi pie 33.33 un 35.74° 2θ).

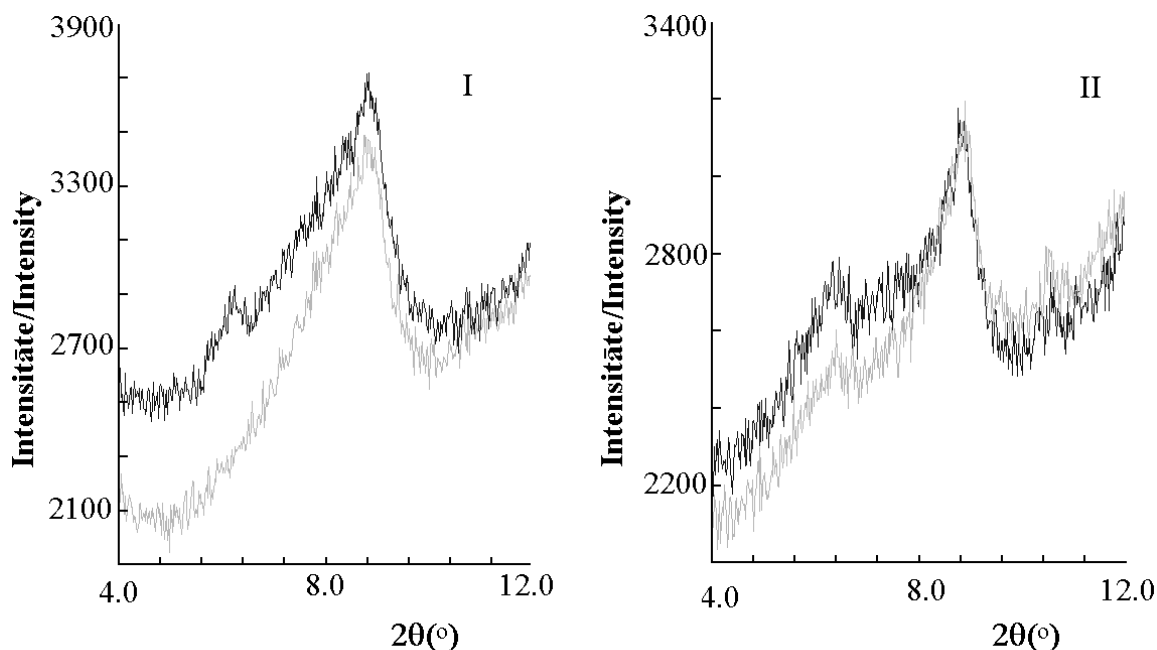
Minerālu kvantitatīvā fāzu attiecība pētītajos paraugos variēja nenozīmīgi, izņemot atsevišķas minerālu fāzes (illīts, illīts-smektīts, hematīts, laukšpati). XRPD kvantitatīvie rezultāti glacigēnajos nogulumos no Ulmāles 1 μm frakcijā uzrādīja illīta un illīta-smektīta fāzu pieaugumu par 8%, bet laukšpatu fāžu summas samazināšanos par 7% salīdzinājumā ar šīs pašas frakcijas zem tiem iegulošajiem nogulumiem. Glacigēnajos nogulumos no Kupravas 1 μm frakcijā ar XRPD kvantitatīvo analīzi tika noteikta neliela hematīta (samazinās par 2%) un kvarca (palielinās par 2%) fāžu nevienlīdzība salīdzinājumā ar zem šiem nogulumiem iegulošiem nogulumiem. Kopumā iegūtie XRPD kvantitatīvie fāžu rezultāti norādīja uz glacigēno un zem tiem iegulošo nogulumu materiāla līdzību 1 μm frakcijā.

Pētāmajā <1 μm frakcijā gan Ulmāles, gan Kupravas paraugos tika konstatēts illīta pārkums pār

citām minerālu fāzēm. Pētījumā paraugu materiāla piesātinājuma pakāpe un illīta strukturālā mainība glacigēno nogulumu 1 μm frakcijā tika savstarpēji salīdzināta, diagnosticējot katram paraugam raksturīgas fāžu izmaiņas XRPD spektrā.

Analizētajos paraugos pēc illīta 002 un 004 refleksu attiecības XRPD spektros tika noteikts illīta kristalizācijas indekss: visos analizējamajos paraugos tas bija zem 3. Pēc šīs vērtības tika noteikta illīta piederība dioktaedriskajam illīta paveidam (Graff-Petersen, 1961).

XRPD spektros tika diagnosticēta illīta 002 refleksa asimetrija, kas tika novērota visos analizējamajos paraugos. Šī refleksa kreisais spāns bija lēzenāks nekā labais un vairāk paaugstināts glacigēno nogulumu 1 μm frakcijā, kas norādīja uz illīta-smektīta, vāji kristalizēta illīta un smektīta, satura palielināšanos šajos nogulumos (1. attēls). Arī augstāks turbostratisma indekss (turpmāk tekstā – TSI) (Reynolds, 1992; Righi et al., 1995) tika konstatēts glacigēno nogulumu paraugos <1 μm frakcijā. Šajos paraugos TSI svārstījās no 0.13% līdz 0.03%, kas liecina par atšķirīgu smektīta daudzumu illīta-smektīta starpslāņos. R. Reynolds (Reynolds, 1992) TSI paaugstināšanos skaidro ar uzbriestošo illīta-smektīta slāņu procentuālo palielinājumu.



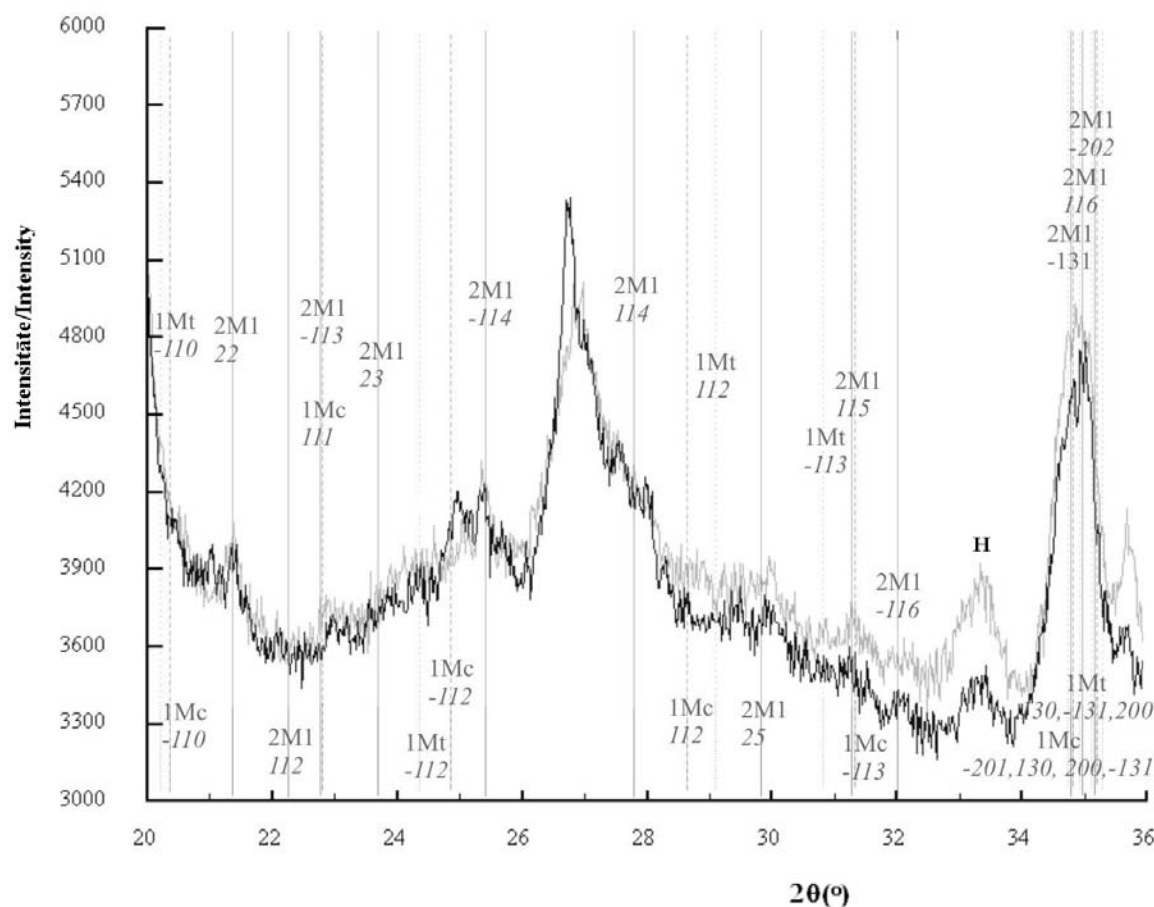
1. att. Illīta 002 refleksa asimetrija: **I** – paraugi (<1 μm) no Kupravas pētījuma iecirkņa; **II** – paraugi (<1 μm) no Ulmāles pētījuma iecirkņa; melnā līnija – glacigēnie nogulumi; pelēkā līnija – zem tiem iegulošie nogulumi.

Fig. 1. Asymmetry of illite 002 reflex: **I** – samples from Kuprava study area; **II** – samples from Ulmale study area; black line – glacigenic sediments; gray line – sediments lying under glacigenic sediments.

XRPD spektros illīta politīpam raksturīgo nebazālo refleksu 2θ posmā no 23° līdz 35.5° starp primāro fāžu (kvarcs, albīts, ortoklāzs u.c.) maksimumiem tika konstatēti vāji izteikti illīta nebazālie atstarojumi, kas atbilst 1Md politīpam, kurš var saturēt daudzus azimutāli pretēji orientētus slāņus (Drits, McCarty, 1996). Šāda slāņu orientācija izraisa rentgenstara nobīdi, veidojot XRPD spektros neizteiktus, zemus un platus maksimumus. Bet starp šiem, dažādi orientētajiem illīta slāņiem analizējamajos paraugos tika konstatēti arī atsevišķi nebazālie atstarojumi, kuri ir raksturīgi $2M_1$ un 1M illīta politīpiem (Grathoff,

Moore, 1996). Pētītajos paraugos kopumā starp 1Md struktūrām dominēja $2M_1$ detritiskas cilmes illīts ar atsevišķiem $1Mc_v$ ⁵ un $1Mtv$ ⁶ illīta politīpu refleksiem. Konstatēts, ka glacigēnos nogulumos un zem tiem iegulošos nogulumos intensitāte starp šiem politīpu refleksiem ir atšķirīga, tas ir, tika novērota šo politīpu nevienlīdzība.

Kupravas iecirkņa paraugos atsevišķi $2M_1$ illīta politīpa refleksi, kuriem raksturīga turbostratiska augšana (Meunier, Velde, 2004), tika konstatēti visos XRPD spektros (2. attēls). Augstāki un asāki $1Mtv$ un $1Mc_v$ illīta politīpu refleksi, kam ir raksturīga



2. att. XRPD spektri paraugiem ($<1\ \mu\text{m}$) no Kupravas pētījuma iecirkņa: melnā līnija – glacigēnie nogulumi; pelēkā līnija – zem tiem iegulošie nogulumi; H – hematīta maksimums; illīta politīpi: nepārtraukta līnija – $2M_1$; pārtraukta līnija – $1Mc_v$; punktēta līnija – $1Mtv$.

Fig. 2. XRPD roentgenograms of samples from Kuprava study area:

black line – glacigenic sediments; gray line – sediments lying under glacigenic sediments; H – hematite maxima; illite polytypes: continuous line – $2M_1$; discontinuous line – $1Mc_v$; dotted line – $1Mtv$.

⁵ *Cis* vakantās struktūrās (*cv*) OH⁻ grupas oktaedrā ir izvietotas plaknes vienā pusē, līdz ar to šajās struktūrās nav simetrijas centra.

⁶ *Trans* vakantās struktūrās (*tv*) oktaedrā OH⁻ grupas ir izvietotas simetriski plaknes pretējās pusēs, tāpēc šajās struktūrās ir novērojams simetrijas centrs.

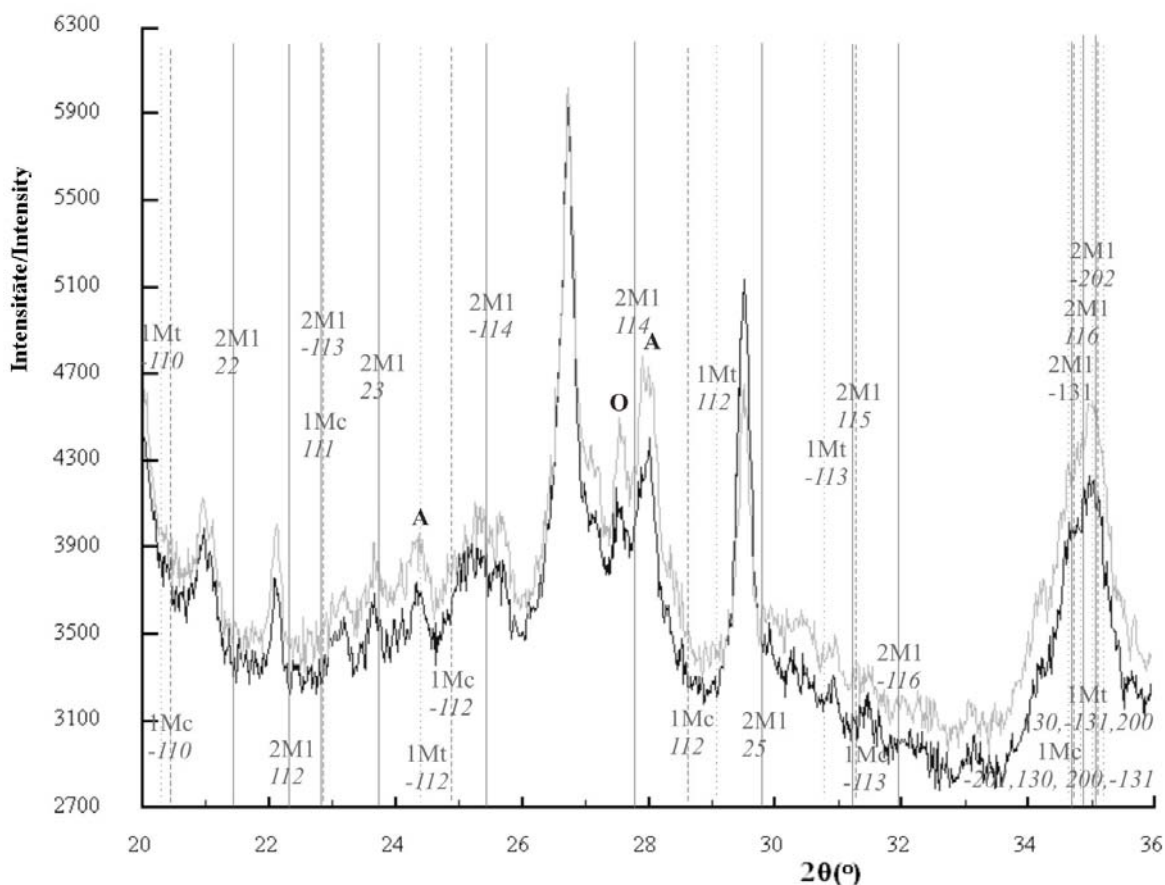
azimutālā augšana vienā virzienā (Meunier, Velde, 2004), tika konstatēti XRPD spektros analizējamo glaciģēno nogulumu 1 μm frakcijā. Savukārt zem glaciģēnajiem nogulumiem iegulošu nogulumu šīs pašas frakcijas paraugu XRPD spektros izteikti 1M illīta politīpu refleksi netika konstatēti (2. un 3. attēls). Līdzīgas maksimumu proporcijas starp 1Mt_v un 1Mc_v illīta politīpa struktūrām tika konstatētas glaciģēno un zem tiem pagulošo nogulumu 1 μm frakcijā no Ulmāles (3. attēls). Atsevišķi 1Mc_v illīta politīpa refleksi ar augstāku intensitāti nekā pamatieģos tika konstatēti glaciģēno nogulumu paraugos 1 μm frakcijā (2. attēls).

Iespējamā pāreja no 1Mt_v uz 1Mc_v illīta struktūrām tika novērota ar SEM palīdzību diagnosticētajos illīta latiņveida formas kristālītu uzaugumos (Meunier, Velde, 2004), kas uz heksagonālas formas kristālītiem vizuāli atgādina sekundārus veidojumus (4. attēls). Tika konstatēts, ka

šo latiņveida kristālītu izmēri ir mazāki par paraugos dominējošiem heksagonālas formas kristālītiem. Šos konstatējumus daļēji apstiprināja arī XRPD spektros vāji izteiktie atsevišķie 1Mt_v un 1Mc_v illīta politīpu refleksi, kas norādīja uz 1Md illīta struktūrās sastopamajiem šo politīpu refleksiem.

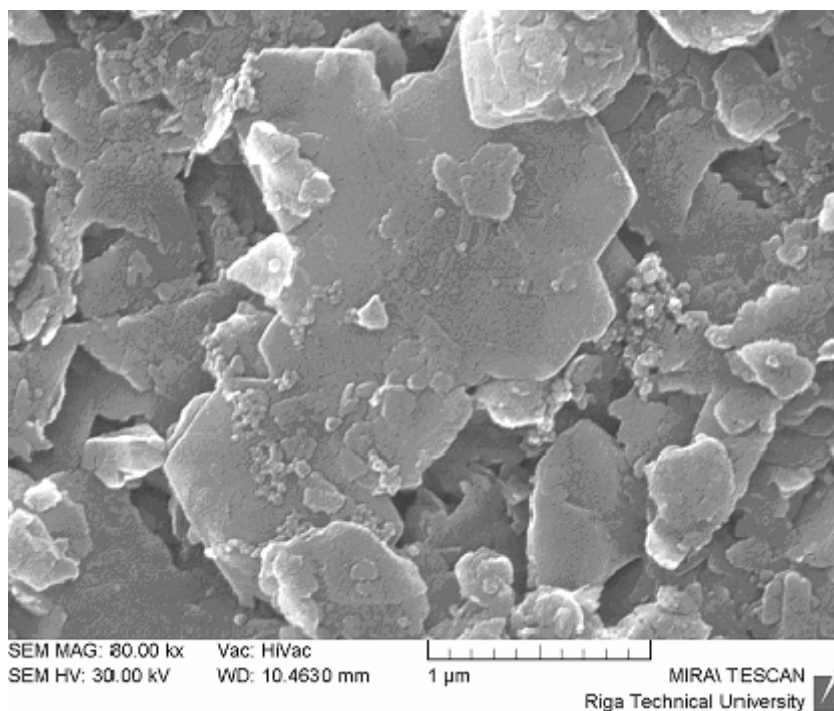
Diskusija

Visos pētāmajos paraugos tika novērots plats illīta 002 maksimums ar pīķa asimetriju mazo leņķu virzienā. Šāda maksimuma forma vairākos autoru darbos (Lanson et al., 1998; Gharrabi et al., 1998; Meunier, Velde, 2004 u.c.) tika skaidrota kā labi kristalizēta, vāji kristalizēta un illīta-smektīta dažādu proporciju attiecība. Paraugos no abiem pētījuma iecirkņiem pār vāji kristalizētā illīta 002 maksimumu dominēja labi kristalizēts illīta maksimums (Brime et al., 2002; Lanson et al., 1998), uz ko norādīja illīta 002 refleksa pīķis pie 8.85 un 8.81° 2 θ . Šāda sakarība



3. att. XRPD spektri paraugiem (<1 μm) no Ulmāles pētījuma iecirkņa: melnā līnija – glaciģēnie nogulumi; pelēkā līnija – zem tiem iegulošie nogulumi; A – albīta maksimums; O – ortoklāza maksimums; illīta politīpi: nepārtraukta līnija – 2M_v; pārtraukta līnija – 1Mc_v; punktēta līnija – 1Mt_v.

Fig. 3. XRPD roentgenograms of samples from Ulmale study area: black line – glaciģēnie sediments; gray line – sediments lying under glaciģēnie sediments; A – albite maxima; O – orthoclase maxima; illite polytypes: continuous line – 2M_v; discontinuous line – 1Mc_v; dotted line – 1Mt_v.



4. att. Illīta latiņveida kristalītu uzaugumi uz heksagonālas formas illīta kristalītiem.
Fig. 4. Illite lath crystallites on the surface of hexagonal form illite crystallites.

nevar tikt uzskatīta par labi kristalizētu un vāji kristalizētu illīta kvantitatīvo rādītāju, kas norādītu uz labi kristalizētu illīta dominanti pētāmajos paraugos, jo labi kristalizētas struktūras rada spēcīgākus refleksus, turpretim vāji kristalizētas struktūras sniedz mazāk izteiktus maksimumus (Will, 2006). Līdz ar to autori uzskata, ka šo fāžu kvantificēšana nav iespējama bez šo struktūru modelējošo datorprogrammu pielietojšanas, izmantojot tikai XRPD puskvantitatīvo noteikšanas metodi.

R. Reynolds (Reynolds, 1992), A. Meiners (Meunier, Velde, 2004) un citi autori vairākos darbos ir publicējuši rezultātus par XRPD spektros novērojamo illīta 002 refleksa asimetriju, kas tika novērota arī visos mūsu analizējamajos XRPD spektros. Illīta 002 refleksa maksimuma kreiso lēzeno spārnu iepriekšminētie autori skaidro ar vāji kristalizētu illīta un illīta-smektīta struktūru klātbūtni. Pētāmo glacigēno nogulumu 1 μm frakcijā tika konstatēts augstāks illīta 002 maksimuma kreisā spārna pacēlums nekā zem tiem iegūto nogulumu tādas pašas frakcijas paraugiem (1. attēls). Šis fakts tika skaidrots ar jauktslāņu illīta-smektīta kvantitatīvā daudzuma palielināšanos glacigēno nogulumu 1 μm frakcijā. Glacigēno nogulumu bagātināšanās ar šo jauktslāņu minerālu tika skaidrota ar ūdens molekulu iekļūšanu illīta starpslāņu pozīcijās. I. Rozenkvists (Rosenqvist, 1963) to ir interpretējis kā iespējamu kālija aizstāšanu un ūdens iekļūšanu starpslāņu

pozīcijās, vienlaicīgi protoniem iekļūstot vakantajās oktaedru pozīcijās. B. Lansons savā (Lanson et al., 1989) pētījumā par pieciem atšķirīgiem sedimentācijas baseiniem tika novērojts sakarību starp illīta-smektīta proporcijām un nogulumu vecumu, augstākas illīta-smektīta proporcijas saistot ar jaunākiem nogulumiem. Šāda veida apgalvojumu apstiprināja arī mūsu pētījuma gaitā iegūtie rezultāti, kuros augstāks illīta-smektīta saturs tika konstatēts pēc ģeoloģiskā vecuma jaunākajos glacigēnajos nogulumos (<1 μm) nekā zem tiem iegūto nogulumos (<1 μm). Kopumā augstāku illīta slāņu nesakārtotību uzrādīja arī turbostratisma indeksa (TSI) (Righi et al., 1995) aprēķini, kuri augstāku illīta slāņu nesakārtotību uzrādīja tieši analizējamajos glacigēnajos nogulumos <1 μm frakcijā, kas vismaz daļēji apstiprināja jau iepriekš izteikto apgalvojumu.

Analizējot 002 un 004 refleksu attiecību, tika noteikta neliela degradācijas faktora samazināšanās Ulmāles glacigēno nogulumu 1 μm frakcijā. Tā tika skaidrota ar jaunu mālu minerālu (illīta un smektīta) veidošanos, uz ko norādīja paraugu XRPD kvantitatīvie rezultāti un illīta 002 refleksa kreisā spārna asimetrija.

Pētāmo paraugu XRPD spektros tika konstatēta 1Md politipa dominante. V. Dritsa, G. Austina un līdzautoru pētījumos (Austin et al., 1989; Drits, McCarty, 1996) ir minēts, ka šis illīta politips var saturēt daudzus azimutāli pretēji orientētus slāņus.

Tā, G. Austins (Austin et al., 1989) norāda, ka šāda slāņu strukturālā nesakārtotība nav iespējama bez smektīta klātbūtnes illīta starpslāņos, bet V. Drits (1996) atzīmē, ka 1Md politipā parasti dominē 2M₁ un 2M₂ struktūru fragmenti. Arī mūsu pētītajos paraugos starp 1Md vāji izteiktajiem maksimumiem tika konstatēti atsevišķi 1M un 2M₁ illīta politipu maksimumi (2. un 3. attēls).

Illīta 1M_{1v} un 1M_{1cv} refleksu intensitāšu mainība tika konstatēta glaciģēno nogulumu un zem tiem iegulošo nogulumu paraugos <1μm, kā arī atsevišķu šiem politiem atbilstošu refleksu iztrūkums. Vairumā gadījumu tika konstatēts 1M_{1cv} struktūrām raksturīgo 112, -110, bet 1M_{1v} struktūrām – 112 refleksu iztrūkums. Šādu 1M_{1v} un 1M_{1cv} illīta struktūru maiņu Sain-Diazs ar līdzautoriem savā pētījumā saistīja ar šo struktūru jutību uz ārējās vides faktoru ietekmi (Sainz-Diaz et al., 2001; Drits, 2003). Pāreju no 1M_{1v} uz 1M_{1cv} illīta struktūrām nogulumu pēcsedimentācijas laikā daļēji apstiprina arī SEM pētījumos diagnosticētie illīta latīņveida formas kristalītu uzaugumi (4. attēls) uz heksagonālas formas kristalītiem. Šāda veida latīņveida saaugumus A. Meiners (Meunier, Velde, 2004) skaidro ar izmaiņām nogulumu ģeoķīmiskajā vidē, tos attiecinot pie autogēnas ģenēzes kristalītiem un uzskatot par illīta-smektīta pārejas starpfāzi.

C. Sain-Diazs, G. Austina un līdzautoru sniegtajos pētījumos (Sain-Diaz et al., 2001; Austin et al., 1989) par illīta 1M struktūrām uzsverts, ka šī politipa modifikācijas ir izmantojamas kā paleovides indikatori, raksturojot nogulumu termālo, ģeoķīmisko, sedimentācijas un diaģenēzes vidi. Atzīmējams, ka šāda veida illīta politipu pētījumi līdz šim veikti galvenokārt mālaino baseinu nogulumu sedimentācijas vides izpētē un raksturošanā, bet glaciģēno nogulumu pētījumos šādas detalizācijas pētījumi veikti pirmoreiz.

Veiktajam pētījumam un tā rezultātiem jau šobrīd var izcelt vairākus to pielietojuma lietišķos aspektus, kas balstās uz iespējām izmantot illīta politipus kā paleovides indikatorus un norādes uz vides apstākļu izmaiņām. Šādi dati ļautu nozīmīgi palielināt ģeoloģiskās kartēšanas, arī ģeoķīmisko un agrotehnisko pētījumu informativitāti un kvalitāti.

Secinājumi

1. Pētījumā mālu minerālu rentgenstaru pulverdifrakcijas analīžu veikšanai sekmīgi tika izmantotas puskvantitatīvās un kvantitatīvās analīžu metodes un to pielietošana ļāva noteikt illīta politipus un minerālā sastāva kvantitatīvo daudzumu ar augstu analītisko kvalitāti. Šādu rezultātu sasniegšanai tika izstrādātas un adaptētas metodes illīta politipu diagnostikai un

analizējamo politipu puskvantitatīvo daudzuma novērtēšanai.

2. Iegūtie analītiskie rezultāti liecina, ka atsevišķi illīta politipu refleksi ir atšķirīgi pamatiežu mālos un tos pārsedzošās morēnās. Izmaiņas konstatētas tieši kontaktzonas slāņos, kur pētītie mālu minerāli bija pakļauti ledāja termiskai un spiediena ietekmei.
3. Illīta-smektīta daudzuma palielināšanās glaciģēnajos nogulumos tika skaidrota ar pēcsedimentācijas vides apstākļiem.
4. Illīta politipu kvantitatīvās analīzes rezultāti ļautu noteikt dažādu politipu savstarpējās proporcijas, kas var tikt izmantotas par glaciālās paleovides indikatoru.
5. Illīta 1M politipu kvantitatīvā analīze var tikt izmantota glaciģēno nogulumu ģeoķīmisko apstākļu rekonstrukcijās.

Literatūra

1. Altomare, A., Burla, M. C., Giocovazzo, C., Guagliardi, A., Moliterni, A. G. G., Polidori, G., Rizzi, R. (2001) Quanto: a Rietveld program for quantitative phase analysis of polycrystalline mixtures. *J. Appl. Cryst.*, 34, pp. 392-397.
2. Austin, G. S., Glass, H. D., Hugkes, R. E. (1989) Resolution of the polytype structure of some illitic clay minerals that appear to be 1Md. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 37, No. 2, pp. 128-134.
3. Benediktsson, Í.Ö., Möller, P., Ingólfsson, Ó., van der Meer, J.J.M., Kjær, K.H., Krüger, J. (2008) Instantaneous end moraine and sediment wedge formation during the 1890 glacier surge of Brúarjökull, Iceland. *Quaternary Science Reviews*, Vol. 27, pp. 209-234.
4. Boulton, G.S., Dongelmans, P., Punkari, M., Broadgate, M. (2001) Palaeoglaciology of an ice sheet through a glacial cycle: the European ice sheet through the Weichselian. *Quaternary Science Reviews*, Vol. 20, pp. 591-625.
5. Bradley, W. F., Grim, R.E. (1961) Mica clay minerals. *The X-ray identification and crystal structures of clay minerals*. G. Brown (ed.). Mineralogical Society, London, pp. 208-241.
6. Brindley, G.W. (1961a) Chlorite Minerals. *The X-ray Identification and Crystal Structures of Clay Minerals*. G. Brown (ed.). Mineralogical Society, London, pp. 242-296.
7. Brindley, G.W. (1961b) Kaolin, serpentine, and kindred minerals. *The X-ray Identification and Crystal Structures of Clay Minerals*. G. Brown (ed.), Mineralogical Society, London, pp. 51-131.
8. Brime, C., Castro, M., Valín, L. M. (2002) Recognizing illitization progress from diagenesis to very lowgrade metamorphism in rocks of the

- Cantabrian Zone (Spain). *Schweiz. Mieneral. Petrogr. Mitt.*, Vol. 82, pp. 211–219.
9. Burt, R. (ed.). (1996) *Soil Survey Laboratory methods manual. Soil Survey Investigations Report*, No. 42. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service National Soil Survey Center, 693 pp.
 10. Certoks, S., Svinka, V., Svinka, R. (2006) Influence of the structure and composition of illitic clay on the formation processes of new phases during firing. *Material Science and Applied chemistry*, Vol. 1, No. 13, pp. 137-144.
 11. Christoffersen, P., Tulaczyk, S. (2003) Response of subglacial sediments to basal freeze-on, 1 Theory and comparison to observations from beneath the West Antarctic Ice Sheet. *J. Geophys. Res.*, 108(B4), 1-16.
 12. Dreimanis, A. (1989) Tills, their genetic terminology and classification. In: Goldthwait R.P. and Matsch C.L. (eds), *Genetic Classification of Glacigenic Deposits*. Balkema, Rotterdam, pp. 17-84.
 13. Drits, A. V., McCarty, D. K. (1996) The nature of diffraction effects from illite and illite-smectite consisting of interstratified trans-vacant and cis-vacant 2:1 layers: A semiquantitative technique for determination of layer-type content. *American Mineralogist*, Vol. 81, pp. 852-863.
 14. Drits, A.V. (2003) Structural and chemical heterogeneity of layer silicates and clay minerals. *Clay Minerals*, Vol. 38, pp. 403-432.
 15. Eiduks, J., Vaivads, A. (1953) Termogrāfiski un rentgenogrāfiski pētījumi par dažādu Latvijas PSR kvartāro mālu mineraloģisko sastāvu. *Latvijas PSR ZA Vēstis*, Nr. 9, pp. 103-116.
 16. Ferrari, S., Gualtieri, A. F., Grathoff, G. H., Leoni, M. (2006) Model of structure disorder of illite: preliminary results. *Z. Kristallogr. Suppl.*, Vol. 23, pp. 493-498.
 17. Gharrabi, M., Velde, B., Sagon, J.P. (1998) The transformation illite to muscovite in pellicitic rocks: constrains from x-ray diffraction. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 46, No. 1, pp. 79-88.
 18. Graff-Petersen, P. (1961) *Lermineralogien i de limniske jurasedimenter på Bornholm. Dissertation theses*. Copenhagen, 149 pp.
 19. Grathoff, G. H., Moore, D. M. (1996) Illite polytype quantification using WILDFIRE calculated x-ray diffraction patterns. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 44, pp. 835-842.
 20. Grim R.E. (1962) *Applied Clay Mineralogy*. McGraw-Hill, London, 422 pp.
 21. Haldorsen, S., Jørgensen, P., Rappol, M., Riezebos, P. (1989) Composition and source of the clay-sized fraction of Saalian till in The Netherlands. *BOREAS*, Vol. 18, 2, pp. 89-97.
 22. Jørgensen, P. (1965) Mineralogical composition and weathering of some late pleistocene marinē clays from the Kongsvinger area, Southern Norway. *Geologiska Föreningens i Stockholm Förhandlingar*, Vol. 87, pp. 62-83.
 23. Junttila, J. (2007) *Clay minerals in response to Mid-Pliocene glacial history and climate in the polar regions (ODP, Site 1165, Prydz Bay, Antarctica and Site 911, Yermak Plateau, Arctic Ocean). Dissertation thesis*. Department of Geosciences, Faculty of Science, University of Oulu, Finland, 54 pp.
 24. Kalm, V., Aruväli, J., Einmann, A. (1992) Clay mineralogy of surficial fine-grained Quaternary deposits on Saaremaa Island, Western Estonia. *Acta Comment. Univ. Tartuensis*, 956, pp. 95-113.
 25. Kalm, V., Kadastik, E. (2001) Waterlain glacial diamicton along the Palivere ice-marginal zone on the West Estonian archipelago, Eastern Baltic Sea. *Proc. Estonian Acad. Sci. Geol.*, Vol. 50, 2, pp. 114-127.
 26. Lakevics, V. (2006) *Sorption characteristics of Latvian clays. Summary of Promotion Work*. Riga Technical University, Riga, 17 pp.
 27. Lanson, B., Velde, B., Meunier, A. (1998) Late-stage diagenesis of clay minerals as seen by decomposition of x-ray diffraction patterns: contrasted behaviors of sedimentary basins with different burial histories. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 46, No. 1, pp. 69-78.
 28. Luse, I., Mishniev, A., Seglins, V., Karpovics, A. (2007) X-Ray Powder Diffraction Study of Clay Minerals Deposits by Rietveld method. *Geo-Pomerania Szczecin 2007, Poland, Abstract-Volume*, p. 176.
 29. Lūse, I., Mishnev, A., Stunda, A., Seglins, V. (2008) Quantitative ratio of illite polytypes in the contact zone of till and basin sediment. *Abstract CD-ROM: 33rd International Geological Congress, Oslo, Norway*. – 1 kompaktdisks.
 30. Meunier, A., Velde, B. (2004) *Illite*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 286 pp.
 31. Poppe, L.J., Paskevich, V.F., Hathaway, J.C., Blackwood, D.S. (2001) A Laboratory Manual for X-Ray Powder Diffraction, *U. S. Geological Survey Open-File Report 01-041*, 33 pp.
 32. Pulkkinen, P. (2004) *Mineralogy and geochemistry of the fine and the clay fractions of till in northern Finland. Dissertation thesis*. Department of Geosciences, Faculty of Science, University of Oulu, Finland, 138 pp.
 33. Reynolds, R. C. (1992) X-ray diffraction studies of illite/smectite from rocks, <1 μm randomly oriented powders and <1 μm oriented powder aggregates: the absence of laboratory-induced

- artifacts. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 40, No. 4, pp. 387-396.
34. Righi, D., Terribile, F., Petit, S. (1995) Low-charge to high-charge beidellite conversion in a vertisol from South Italy. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 43, No. 4, pp. 495-502.
35. Rosenquist, I. Th., Jørgensen, P. (1963) Replacement in the octahedral and interlayer positions in micas. *Nature*, Vol. 197, No. 4866, pp. 477-478.
36. Rupulis, A. (1998) *Dzelzs (III) kristālisko hidroksīdu (oksīdu) un Latvijas mālu sorbcijas īpašības. Habilitācijas darba kopsavilkums.* Rīgas Tehniskā universitāte Ķīmijas Tehnoloģijas fakultāte, Rīga, 10 pp.
37. Sainz-Diaz, C.I., Hernandez-Laguna, A., Dove, M.T. (2001) Theoretical modelling of cis-vacant and trans-vacant configurations in the octahedral sheet of illites and smectites. *Phys. Chem. Minerals*, Vol. 30, pp. 322-331.
38. Segliņš, V. (1987) *Rietumlatvijas Pleistocēna stratigrāfija. Ģeoloģijas-mineraloģijas zinātņu kandidāta disertācija.* Tallina, Igaunijas Zinātņu akadēmija, 285 pp.
39. Stinkule, A. (2006) Clay minerals in sedimentary rocks of Latvia. *Material Science and Applied chemistry*, Vol. 1, No. 13, pp. 107-113.
40. Stunda, A., Luse, I., Berzina-Cimdina, L., Seglins, V. (2008) X-ray powder diffraction for illite polytypes analysis. *11th European Powder Diffraction Conference. Warsaw, Poland. Abstract-Volume*, p. 137.
41. Svendsen, J. I., Alexanderson, H., Astakhov, V. I., Demidov, I., Dowdeswell, J. A., Funder, S., Gataullin, V., Henriksen, M., Hjort, C., Houmark-Nielsen, M., Hubberten, H. W., Ingólfsson, Ó., Jakobsson, M., Kjæri, K. H., Larsen, E., Lokrantz, H., Lunkka, J. P., Lyså, A., Mangerud J., Matiouchkov, A., Murray, A., Möller, P. M., Niessen, F., Nikolskaya, O., Polyak, L., Saarnistou, M., Siegert, C., Siegert, M. J., Spielhagen, R. F., Stein, R. (2004) Late Quaternary ice sheet history of northern Eurasia. *Quaternary Science Reviews*, Vol. 23, pp. 1229-1271.
42. Środon, J. R., Drits, V. A., McCarty, D. K., Hsieh, J. C. C., Eberl, D. D. (2001) Quantitative x-ray diffraction analysis of clay-bearing rocks from random preparations. *Clays and Clay Minerals*, Vol. 49, No. 6, pp. 514-528.
43. Taylor, J.C. (1991) Computer programs for the standardless quantitative analysis of minerals using the full powder diffraction profile. *Powder Diffraction*, Vol. 6, No. 1, pp. 2-9.
44. Tucker, M. (1988) *Techniques in Sedimentology.* Blackwell Science Ltd, 394 pp.
45. Will, G. (2006) *Powder Diffraction: The Rietveld Method and the Two-Stage Method.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 224 pp.
46. Даниланс, И. Я. (1973) *Четвертичные отложения Латвии.* Рига: Зинатне, 312 с.

Pateicība

Autori izsaka pateicību A. Mišņevam par metodiskajām konsultācijām un rekomendācijām un I. Rižakovai, D. Grantai un D. Jakovļevam par sniegto atbalstu paraugu sagatavošanas un apstrādes posmā. Pētījums veikts ar ESF finansiālo atbalstu.

Inulin Syrup from Dried Jerusalem Artichoke Inulīna sīrups no kaltēta topinambūra

Martins Bekers, Mara Grube, Dagnija Upite, Elena Kaminska, Aleksejs Danilevich, Uldis Viesturs

Institute of Microbiology and Biotechnology, University of Latvia

LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas institūts

e-mail: mbek@lu.lv

Daina Karklina

Department of Food Technology, LLU

LLU Pārtikas Tehnoloģijas katedra

Abstract. Inulin from Jerusalem artichoke tubers is used as a prebiotic ingredient in functional foods. The extract of inulin was obtained from dry or wet Jerusalem artichoke tuber chips: 11 g of dry matter were suspended in 400 mL of water and were stirred at 50 °C for 4 h. Dry chips as raw material proved to be more convenient as nearly all carbohydrates were extracted in 2 h; a 4-h-extraction from dry chips ensured a 1.57 times higher inulin content than that from wet chips. The concentrations of carbohydrates and inulin in the extract, natural apple juice, and their blend showed that inulin (5%) in apple juice preserved well for 10 days at +4 °C. To obtain inulin syrup, the Jerusalem artichoke extract was concentrated by vacuum evaporator at 80 °C for 5.5 hours or by boiling at 100 °C for 2 hours. It was found that boiling ensures more effective evaporation: after vacuum-evaporation of the initial sample of 409 g it was concentrated to 61 g, whereas by boiling – to 38 g. It is essential that inulin was not lost during the evaporation. As to the content of total carbohydrates, it slightly decreased during boiling. This can be explained by Maillard reaction as the content of melanoidins in the vacuum-evaporated syrup was 32.5 mg g⁻¹, but in the boiled sample – 41.0 mg g⁻¹. FT-IR spectroscopy was used to evaluate the biochemical composition and the relative content of total carbohydrates in apple juice and Jerusalem artichoke juice, as well as to evaluate the biochemical composition of syrups.

Key words: inulin syrup, Jerusalem artichoke, Jerusalem artichoke extract, apple juice.

Introduction

Functional foods and beverages are natural products enriched or balanced with biologically active components which offer the potential of enhanced health or reduced risk of disease. The most common functional foods contain specific minerals, vitamins, fatty acids or dietary fiber, or are enriched with biologically active substances such as phytochemicals or other antioxidants and probiotics – live beneficial cultures (Roberfroid, 2005). Inulin in fortified foods and beverages may improve gastrointestinal health and improve calcium absorption, and may affect the physiological and biochemical processes in rats and human beings, beneficially influencing the lipid metabolism, which results in better health and reduction in the risk of many diseases including cardiovascular diseases (Kaur, Gupta, 2002; Balcazar-Munoz et al., 2003). The main sources of inulin used in the food industry are chicory and Jerusalem artichoke. Jerusalem artichoke is rich in inulin – a polydisperse carbohydrate consisting mainly of β (2-1) fructosyl-fructose links (Flamm et al., 2001). Inulin syrup made from chicory or its

commercial form (Raftiline, Orafiti) can be used as a prebiotic ingredient in breadstuffs as well as functional inulin-juice or milk beverages (McDevitt-Pugh, Rooyackers, 2003; Hempel et al., 2007; Villegas, Costell, 2007). Jerusalem artichoke powder with high inulin concentration, which is produced from the local Jerusalem artichoke varieties offered to the market, contains all water soluble components – proteins (15-18% of DM), carbohydrates (62-62% of DM) including inulin (50-60% of DM), K (400-500 mg 100 g⁻¹), P (70-75 mg 100 g⁻¹), vitamins, and plant-origin cholesterol-free lipids and fiber –, thus increasing its functional value (Bekers et al., 2007A).

The Maillard reaction products form specific smell, taste and color of this concentrate which is used to obtain inulin syrup. The thermostability of inulin has been studied, and it has been found that heating of inulin for up to 1 h at temperature between 135 and 195 °C results in a significant degradation of inulin (20-100%) and formation of new products like di-D-fructoze (Bohm et al., 2005). The loss of fructans during baking can reach up to 38-45% (Praznik et al.,

2002). Our previous studies showed that after boiling of the Jerusalem artichoke concentrate suspension for 1 h the loss of inulin made up 8.8%, but sterilization at 120 °C caused even more significant loss of inulin – 26.9%. At these temperatures Maillard reaction products are formed (Bekers et al., 2007b). Functional beverages are a quickly expanding market segment with inulin containing juices as one of lines. A blend of apple and Jerusalem artichoke juice or inulin syrup could enrich the nutritional value and range of the functional drinks. Therefore the aim of this study was to obtain inulin syrup from Jerusalem artichoke chips and to evaluate the stability of inulin in apple juice.

Materials and Methods

Materials. Tubers of Jerusalem artichoke variety ‘DagNeutral’ were obtained from the Horticultural Study Centre “Pure” Ltd (Latvia). Jerusalem artichoke concentrate (JAC) was produced in the farm “Lazdinas” (Latvia) and finally roasted in the plant “Tukuma Kafija” (Latvia) (Bekers et al., 2007a). The chemical composition of JAC is shown in Table 1.

JAC was used as raw material to obtain inulin water extract and syrup. Jerusalem artichoke juice was squeezed out from tubers by a juicer. Natural apple juice was supplied by the farm “Lases” (Latvia) and was a blend of the four most popular apple varieties in Latvia – ‘Safrāna pepiņš’, ‘Mičurina bezsēklu’, ‘Tribu’, and ‘Rudens svītrainais’. Raftiline – the inulin concentrate – was kindly supplied by “Orafti”. The stability of inulin (5% of Raftiline) in natural apple juice was tested after storage at 4 °C for 10 days.

Methods. Inulin extract was obtained from dry or wet Jerusalem artichoke tuber chips: 11 g of DM

were suspended in water at 50 °C and were stirred for 4 h (Bekers et al., 2007b). Evaporation of Jerusalem artichoke extract – 409 g (12.77% of DM) – was carried out either in a vacuum evaporator at 80 °C for 5.5 h or by boiling at 100 °C for 2 hours. The content of reducing substances (RS) – free and after acid hydrolysis – was determined by Lane-Eynon method (Великая et al., 1964). The concentration of glucose and fructose was determined by ENZYTEC™ D-glucose/D fructose method (Schmidt, 1961). The content of inulin was determined according to the AOAC-999.03 and AACC-32.32 methods. FT-IR spectroscopy being a quick and informative method was used to evaluate the biochemical composition and the relative content of total carbohydrates in the abovementioned juices. The FT-IR spectra were registered on a microplate reader HTS-XT (Bruker), absorption mode – 600-4000 cm⁻¹ region, 32 scans, and resolution – 6 cm⁻¹. Data were processed by OPUS 6.0. Quantitative analysis of total carbohydrates was carried out as in Grube et al. (2002). The standard solvent of melanoidins was prepared according to Nursten (2005), and the concentration of melanoidins was determined spectroscopically on a Biochrom Libra S22.

Three series of experiments were conducted in duplicate, and the average data are presented.

Results and Discussion

The FT-IR spectra of apple and Jerusalem artichoke juices (Fig. 1) are quite different indicating the qualitative and quantitative differences in the biochemical composition. In both spectra the main absorption was in the carbohydrate region – 900–1200 cm⁻¹ (CO, CC, stretching vibrations and COH, COC deformation vibrations of carbohydrates)

Table 1

The chemical composition of Jerusalem artichoke concentrate

Component	Concentration, % of dry weight (DW)
Solids	94.60
Total carbohydrates	62.80–64.50
Reducing sugars	4.70–5.00
Inulin	40.00–50.00
Glucose	0.60–0.90
Fructose	0.70–6.00
Sucrose	7.00–10.00
Glucose after hydrolysis	16.70
Fructose after hydrolysis	44.80
Ratio fructose/glucose	2.80
Proteins	17.12
Lipids	1.96
Nucleic acids	2.11

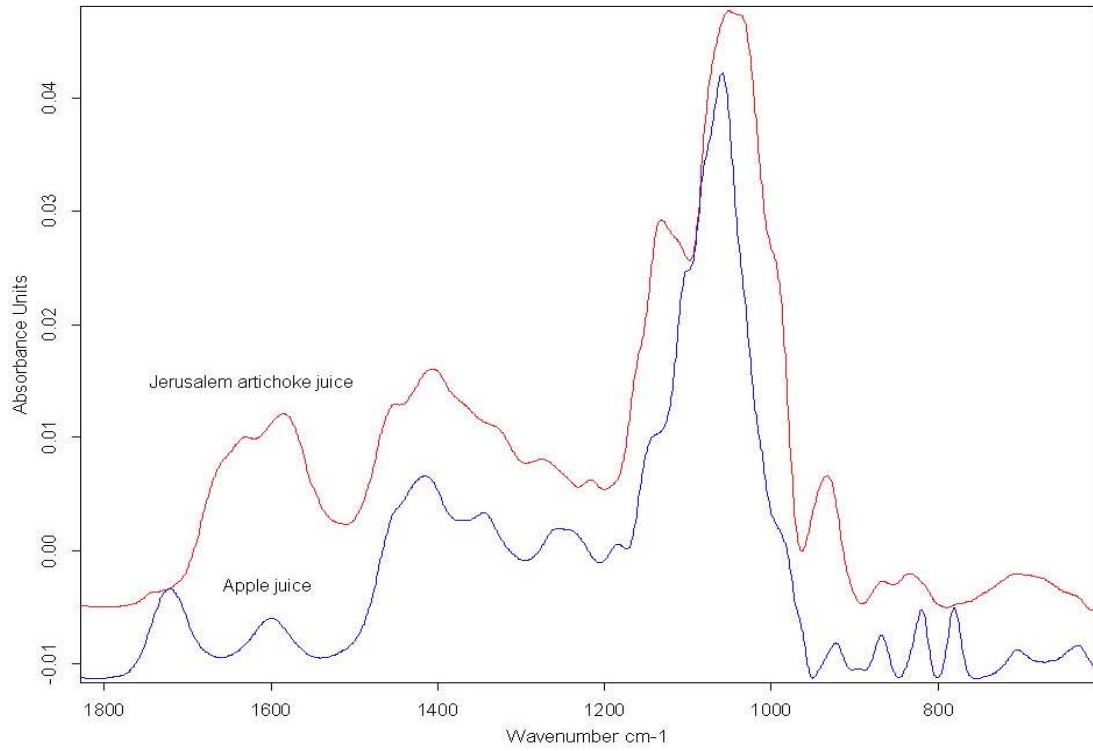


Fig. 1. FT-IR spectra of apple and Jerusalem artichoke juice (data processing – baseline correction and normalization).

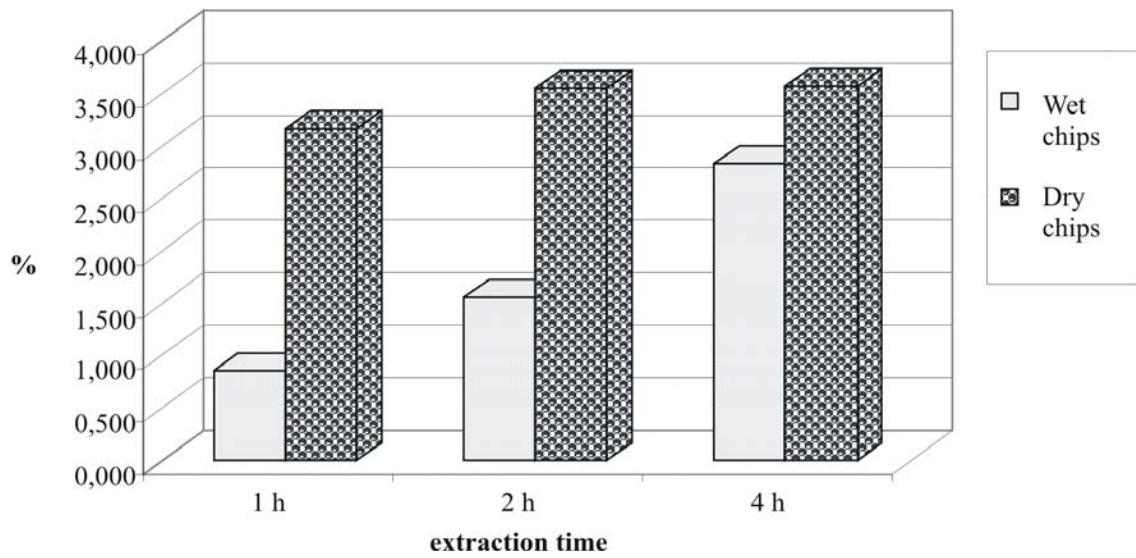


Fig. 2. Extraction of carbohydrates from Jerusalem artichoke chips.

with maximums at 1059 cm^{-1} in apple juice and at 1050 cm^{-1} with a shoulder at 1132 cm^{-1} in Jerusalem artichoke juice. In the spectra of apple juice, the band at 1600 cm^{-1} originates from the COO^- antisymmetrical stretching vibrations of carboxylate in ionized form, and the band at 1721 cm^{-1} – from the acetyl ester groups in pectins (Synytsya et al., 2003). In the spectra of Jerusalem artichoke juice, the band at 933 cm^{-1} was shown to be characteristic for inulin (Bekers et al., 2005). The total carbohydrate content in juices was evaluated and thus the spectra were recorded in the absorption range not exceeding 80%, while the Lambert-Beer law applies and the concentration of the component is directly proportional to the band intensity. The quantitative analysis of carbohydrates showed that the content of carbohydrates in Jerusalem artichoke juice was 85.04% of dry weight (DW) and 86.53% of DW in natural apple juice.

The dynamics of total carbohydrate extraction from dry and wet Jerusalem artichoke chips was studied, and the results are shown in Fig. 2. It can be seen that the extraction rate of carbohydrates was higher from dried chips than from wet ones. Also the extraction of inulin from dried chips was 95.00%, but from wet chips – only 21.69%. After a 4-h-extraction, the concentration of inulin in water extract was 1.73% and 2.38 % in wet and dry chips correspondingly. This study also showed that nearly all carbohydrates

were extracted from dry chips after 2 h. After a 4-h-extraction, the content of inulin in the extract from dry chips was 1.57 times higher than that from wet chips. The study of carbohydrate composition in Jerusalem artichoke extract, natural apple juice, and their mixture showed that the concentration of carbohydrates in apple juice was slightly higher than in Jerusalem artichoke extract, whereas a significant difference was observed in the content of RS (Table 2).

The pH of apple juice and Jerusalem artichoke extract are quite different: 3.5 for juice, and 5.7 for extract. The blend of half apple juice and half Jerusalem artichoke extract would result in a reduced pH and RS, and an inulin-containing functional drink which ensures the daily inulin intake by 200 mL. Therefore the stability of inulin in apple juice is essential and was evaluated in the present study. Storage (for 10 days at +4 °C) of apple juice with inulin additive did not cause a considerable loss of carbohydrates or inulin content (Table 3). The FT-IR absorption spectra of these samples after a 4-h, 7-day, and 10-day storage were recorded and also did not indicate any changes neither in quality nor concentration of inulin; whereas the content of total carbohydrates slightly increased during the storage time.

To obtain inulin syrup, the Jerusalem artichoke extract was evaporated in vacuum or boiled. The

Table 2

Composition of carbohydrates in apple juice and Jerusalem artichoke extract

Component	Apple juice, % DM	Jerusalem artichoke extract, % DM	Apple juice and Jerusalem artichoke extract 1:1 (V:V), % DM
Dry matter	9.85	7.49	8.67
Carbohydrates	79.29	77.70	78.49
RS	66.29	5.74	36.01
Sucrose+fructose	13.00	16.45	14.72
Inulin	0	55.01	27.51

Table 3

Stability of inulin (5% Raftiline) in apple juice during storage at +4 °C

Storage time	pH	DM, %	RS, % DM	Total carbohydrates, % DM	Inulin, % DM
0	3.59	12.77	49.80	91.78	30.71
4 h	3.60	12.26	50.57	94.21	25.86
24 h	3.62	12.86	50.39	88.57	27.52
7 days	3.63	12.47	53.65	90.21	30.55
10 days	3.63	11.64	55.24	96.39	32.56

Table 4

Results of Jerusalem artichoke syrup

Sample	pH	RS, % DM	Carbohydrates, % DM	Inulin, % DM	Melanoidins, mg g ⁻¹	Solids, %
at 80 °C for 5.5 h						
Initially	5.83	5.74	77.70	55.01	–	7.49
After evaporation	5.54	6.35	76.40	56.10	32.50	69.48
at 100 °C for 2 h						
Initially	5.79	5.59	75.81	53.58	–	7.69
After evaporation	5.53	5.80	64.89	55.87	41.00	59.13

– not determined

initial samples of 409 g were concentrated to 61.0 g by vacuum evaporator, but by boiling – to 38.3 g. Analyses of syrups showed that inulin was preserved during both evaporation schemes, whereas the total carbohydrate content slightly decreased after evaporation at 100 °C. This can be indicative to the Maillard reaction as the content of melanoidins in the vacuum “evaporated” syrup was 32.5 mg g⁻¹, but in the “boiled” sample – 41.0 mg g⁻¹ (Table 4). The content of melanoidins in syrup depends on their initial concentration in dried chips of Jerusalem artichoke. The chips obtained at 55 °C contained up to 2 mg g⁻¹ of melanoidins, but those dried at 120 °C for 30 min contained 35-40 mg g⁻¹ of melanoidins; whereas chips used for inulin extraction contained up to 25 mg g⁻¹ of melanoidins.

Although the biochemical composition of both syrups was similar, the evaporation at 100 °C ensured more concentrated syrup in half as much time. The FT-IR absorption spectra of the initial and evaporated samples were evaluated to ensure the possible changes during the treatment; however, no qualitative or considerable quantitative changes were seen. Organoleptic tests showed that the obtained inulin syrup is slightly sweet, with pleasant smell and a bit brown.

Conclusions

1. Dried Jerusalem artichoke concentrate can be used for production of inulin syrup.
2. Boiling ensures more concentrated inulin syrup and is more time-saving process than vacuum evaporation.
3. Subsequent roasting of Jerusalem artichoke chips and evaporation of water extract ensures the formation of Maillard reaction products in syrup and thus the organoleptic properties.
4. FT-IR spectroscopy can serve as a quick method for the process monitoring and assessment of the composition and content of a particular component in juices.

5. The obtained Jerusalem artichoke syrup could be used as an additive in different kinds of functional foods like beverages, cookies, yoghurts, ice creams, and deserts.
6. Further studies should emphasize the formation of Maillard reaction products during processing and should evaluate the significance of variable storage conditions on the quality and nutritive/functional value of inulin-fortified drinks.

References

1. Balcazar-Munoz, B.R., Martinez-Abundis, E., Gonzalez-Ortiz, M. (2003) Effect of oral inulin administration on lipid profile and inulin sensitivity in subjects with obesity and dyslipidemia. *Revista Medica de Chile*, Vol. 131, 597-604.
2. Bekers, M., Grube, M., Upite, D., Kaminska, E., Linde, R., Danilevich, A. (2005) The effect of exo-inulase and dehydration temperature on carbohydrates of Jerusalem artichoke. *Proceedings of the InTraFood 2005*, Valencia, Spain, Vol. II, 867-870.
3. Bekers, M., Viesturs, U., Danilevich, A., Upite, D., Kaminska, E., Marauska, M., Grube, M., Linde, R. (2007a) Fructan production from inulin containing raw materials. Patent, LV 13539.
4. Bekers, M., Grube, M., Upite, D., Kaminska, E., Linde, R., Scherbaka, R., Danilevich, A. (2007b) Carbohydrates from Jerusalem artichoke powder suspension. *Nutrition and Food Science*, Vol. 37, No. 1, 42-49.
5. Bohm, A., Kaiser, I., Trebstein, A., Henle, T. (2005) Heat-induced degradation of inulin. *European Food Research and Technology*, Vol. 220, 466-71.
6. Flamm, G., Glinsmann, W., Kritchevsky, D., Prosky, L., Roberfroid, M. (2001) Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 41, 353-62.

7. Grube, M., Bekers, M., Upite, D., Kaminska, E. (2002) IR-spectroscopic study of *Zymomonas mobilis* levan fermentation. *Vibrational Spectroscopy*, Vol. 28, 277-285.
8. Hempel, S., Jacob, A., Rohm, H. (2007) Influence of inulin modification and flour type on the sensory quality of prebiotic wafer crackers. *European food Research and Technology A*, Vol. 224, No. 3, 335-341.
9. Kaur, N., Gupta, A.K. (2002) Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, Vol. 27, No. 7, 703-714.
10. McDevitt-Pugh, M., Rooyackers, M. (2003) Inulin – a promising ingredient in functional beverages. *Fruit Processing*, Vol. 3, 158-161.
11. Nursten, H. (2005) Maillard reaction chemistry, biochemistry and implications. RSC, Cambridge, UK, 214 pp.
12. Praznik, W., Cieslik, E., Filipiak-Florkiewicz, A. (2002) Soluble dietary fibres in Jerusalem artichoke powders: Composition and application in bread. *Nahrung/Food*, Vol. 46, No. 3, 151-157.
13. Roberfroid, M. (2005) Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, Vol. 93, Supplement 1: S13-S25.
14. Schmidt, F.H. (1961) Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander. *Klinische Wochenschrift*, Vol. 39, 1244-1247.
15. Synytsya, A., Copikova, J., Matejka, P., Machovic, V. (2003) Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydrate polymers*, Vol. 54, Issue 1, 97-106.
16. Villegas, B., Costell, E. (2007) Flow behaviour of inulin–milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. *International Dairy Journal*, Vol. 17, Issue 7, 776-781.
17. Великая, Е.И., Суходул, В., Томашевич, В. (1964) *Общие методы контроля броидильных производств.* СССР, Москва, Пищевая промышленность, 85-86.

Anotācija

Inulīns tiek plaši izmantots kā prebiotisks un fizioloģiski aktīvs savienojums dažādos funkcionālajos pārtikas produktos. Šī darba mērķis bija izpētīt iespēju iegūt ūdenī šķīstošu inulīna sīrupu, izmantojot kaltētus un grauzdētus vai nekaltētus topinambūra bumbulu čipsus. Šo inulīna produktu varētu izmantot funkcionālo dzērienu ražošanai. No sausiem čipsiem praktiski viss inulīns ekstrahējās pēc divām stundām, bet pēc četrām stundām ekstraktā bija 1.57 reizes vairāk inulīna nekā izmantojot nekaltētus čipsus. Tika noteikts inulīna un kopējo ogļhidrātu daudzums sauso čipsu ekstraktā, ābolu sulā un to maisījumā. Glabājot ābolu sulu ar 5% inulīna piedevu 10 dienas +4 °C, inulīna daudzums būtiski nesamazinājās. Lai iegūtu koncentrētu inulīna sīrupu, topinambūra ekstraktu ietvaicēja vakuumā 5.5 stundas 80 °C vai vārīja 2 stundas 100 °C, attiecīgi iegūstot 69.48% un 59.13% koncentrāta. Ietvaicēšanas veids neietekmēja inulīna koncentrāciju, bet kopējo ogļhidrātu daudzums vārot nedaudz samazinājās. Tas varētu būt saistīts ar Mailarda reakcijas produktu veidošanos, jo melanoidīnu daudzums sīrupā pēc vakuuma ietvaicēšanas bija 32.5 mg g⁻¹, bet pēc vārīšanas – 41.0 mg g⁻¹. Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija tika izmantota, lai salīdzinātu topinambūra sulas un ābolu sulas bioķīmisko sastāvu un noteiktu kopējo ogļhidrātu daudzumu, kā arī topinambūra sīrupa kvalitatīvās un kvantitatīvās izmaiņas atkarībā no ietvaicēšanas metodes.

LLU Raksti Nr. 21 (316)
Atbildīgais redaktors Aldis Kārklīņš
Iespiests Jelgavas tipogrāfijā
Langervaldes iela 1a, Jelgava

AUTORU IEVĒRĪBAI

Latvijas Lauksaimniecības universitātes Raksti ievieto publikācijas par nozīmīgiem oriģināliem, teorētiskiem un eksperimentāliem pētījumiem, kas interesē zinātnieku un nozares speciālistu auditoriju. Publicē arī nozares zinātnes pārskatus un hronikas rakstura materiālus.

Manuskriptus autori iesniedz tehniskajam redaktoram latviešu un angļu valodā. Personas, kas iesniedz manuskriptu, to paraksta un pilnībā atbild par iesniegtā manuskripta īpašuma tiesībām un zinātnisko līmeni. Redkolēģijai ir tiesības pakļaut manuskriptus tālākai izvērtēšanai un izņēmuma gadījumos arī noraidīt, ja tie neatbilst vispārējiem publikācijas kritērijiem vai tiek uzskatīti kā nepiemēroti *LLU Rakstiem*. Iesniedzot manuskriptus publicēšanai, autors(i) apliecinā, ka darbs nav iepriekš publicēts, nav paredzēts publicēšanai citos izdevumos, un to izlasījuši un atzinuši par labu visi autori. Autori piešķir ekskluzīvas tiesības Latvijas Lauksaimniecības universitātei iesniegtā raksta publicēšanai.

Vēlamā rakstu struktūra: **virsraksts** (raksta valodā un angļu valodā); **autors** vai autori – pilni vārdi un uzvārdi, darba vietas nosaukums (raksta valodā un angļu valodā), pilna pasta adrese, tālruna numurs, fakss, e-pasta adrese; **abstract** – kopsavilkums angļu valodā līdz 250 vārdiem vienā rindkopā izsmeltošā informācija par rakstā iekļauto datu būtību; **key words** – ne vairāk kā 5 (angļu valodā); angļu valodā iesniegtiem rakstiem **kopsavilkums** – latviešu valodā vienā rindkopā; **ievads** – situācija un hipotēze; **materiāli un metodes** – pētījuma objekts, metodes un metodika, lai ikviens gūtu priekšstatu par pētījumu gaitu; **rezultāti** – teksta, tabulu, attēlu veidā ar atbilstošu datu ticamības novērtējumu un rezultātu analīzi; **diskusija** – pētījumu rezultātu interpretācija, salīdzinājums ar citu autoru līdzīgiem pētījumiem, jaunākajām zinātnes atziņām; **secinājumi**; **literatūras saraksts**. Manuskriptu apjomam nevajadzētu pārsniegt 15 lappuses – oriģinālrakstam, 20 lappuses – apskata rakstam un 6 – īsiem ziņojumiem. Manuskriptā jānumurē lappuses, attēli, tabulas un formulas.

Teksts

Darbs jānoformē datorsalikumā programmā *MS Word* uz A4 formāta lapām, lietojot *Unicode* fontu *Times New Roman* ar izmēru 12. Pamatteksts sastāv no rindkopām. Sarežģītu un optiski grūti uztveramu burtu veidu lietošana pamattekstā nav pieļaujama. Teksta attālums no kreisās lapas malas 30 mm, no pārējām – 25 mm. Rindstarpu attālums – 1.5. Skaitļos kā decimāldalītājs jālieto punkts, nevis komats. Manuskriptā lietojamas SI sistēmas mērvienības un arī attiecīgie saīsinājumi.

Tabulas

Tabulām (visos potenciālo izdevumu manuskriptos) jābūt veidotām programmā *MS Word* vai *Excel* un tās novietojamas teksta beigās uz atsevišķām lapām. Tabulu virsraksti, teksts tajās un paskaidrojumi pie tām tulkojami arī angļu valodā. Tabulām jābūt saprotamām arī tad, ja teksts nav lasīts. Tabulu numuri rakstāmi ar arābu cipariem labajā pusē virs tabulas virsraksta. Tās nedrīkst pārsniegt apdrukai paredzēto lapas laukumu, un tabulu zemteksta piezīmēm jābūt uz tās pašas lapas. Ja tabula turpinās uz vairākām lappusēm, tabulas galva bez virsraksta jāatkārto katrā lapā, virsraksta vietā rakstot «.....tabulas turpinājums» vai «.....tabulas nobeigums». Nav ieteicams veidot tabulas, kurām rindu vai kolonnu skaits mazāks par trīs. Kolonnās skaitļiem jābūt nolīdzinātiem. Daudzdzimju skaitļi jāsadala grupās pa trim. Ja kolonnā uz leju atkārtojas tas pats skaitlis vai teksts, tas jāraksta atkārtoti, nedrīkst likt atkārtojuma simboliku.

Attēli

Diagrammas, zīmējumus un fotogrāfijas uzskata par attēliem. Attēliem jābūt melnbaltā izpildījumā un tie

novietojami teksta beigās uz atsevišķām lapām. Skanētos attēlus, digitālās fotogrāfijas un zīmējumus var veidot jebkurā grafiskajā programmā, bet ievietot tos *MS Word* kā attēlus (*Picture*), nevis kā attiecīgās programmas objektus. Diagrammas ieteicams veidot *MS Excel* vai *MS Word*, izmantojot *Microsoft Graph*. Diagrammās vēlams izvairīties no fona tonējuma un ierāmējuma līniju lietošanas; tīklu līniju biezumam jābūt ¼ pt, rakstzīmju izmēram jābūt tādā pašam kā pamattekstā. Attēlos jāizvairās no uzrakstiem uz tiem. Uzrakstu vietā lietojami simboli vai cipari, kas atšifrējami zem attēla. Paraksts zem attēla sākas ar attēla numuru, tad seko nosaukums, kas atklāj vai raksturo attēlā redzamo, un tad attēlā lietoto ciparu, simbolu atšifrējums. Attēla nosaukums un visi paskaidrojumi tajā tulkojami arī angļu valodā.

Formulas

Formulas jāraksta *MS Equation* programmā. Formulas tekstā raksta atsevišķā rindā pa vidu. Formulas numurē, numuru rakstot tajā pašā rindā starp divām apaļajām iekavām lapas labajā pusē. Formulās lietotajam pamatvienību lielumam jābūt tādā pašam kā pamattekstā. Kursīvā rakstāmi pieņemto apzīmējumu simboli. Formulās ietvertu lielumu mērvienības raksta aiz to nosaukumiem vai skaitliskajām vērtībām tekstā. Formulu paskaidrojumi rakstāmi aiz formulas, katrs savā rindā. Starp paskaidrojumu un mērvienību liek defisi, bet aiz mērvienības – semikolu, un aiz pēdējās mērvienības paskaidrojuma – punktu.

Citējumi

Atsauces tekstā pieraksta, apaļajās iekavās ierakstot izmantotā izdevuma autoru un izdošanas gadu, piem. (Monod, 1963).

Literatūras saraksts darba beigās jānoformē alfabēta kārtībā, atsevišķus darbus pierakstot šādi: **žurnālu raksti** – Hahey, R., Senseman, S., Krutz, L., Hons, F. (2002) Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biol. Fertil. Soils*, 35, pp. 35-40; **grāmatas** – *Lauksaimniecības ilgtermiņa investīciju kreditēšanas programma*. (2001) LR Zemkopības ministrija, Rīga, 20 lpp.; **grāmatu nodaļas** – Carrey, E. A. (1989) Peptide mapping. In: *Protein Structure*. Creighton, T. E. (ed.) ILR Press, Oxford, pp. 191-224.; **INTERNET resursu apraksts** – Veselības noteicošie faktori. Vide kā dzīvības un veselības resurs: http://www.liis.lv/vid_ves/faktori.htm – Resurss aprakstīts 2004. gada 13. janvārī.

Ja atsauces pieraksta ar skaitli kvadrātiekvās citēšanas secībā, tad arī literatūras sarakstu noformē citēšanas secībā. Atsaucēm tekstā jāsakrīt ar literatūras sarakstā minētajiem avotiem, un tiem jābūt publiski pieejamiem.

Fināls

Recenzēto un attiecīgi papildināto manuskripta pēdējo versiju autors(i) elektroniskā veidā kopā ar manuskriptu iesniedz tehniskajam redaktoram.

Tikai precīza visu iepriekš minēto prasību ievērošana sekmēs sagatavoto manuskriptu ātrāku publicēšanu.

Atkāpes no šo noteikumu prasībām pieļaujamas, saskaņojot ar *LLU Rakstu* redkolēģiju

LLU Rakstu redkolēģijas adrese:

Lielā iela 2, Jelgava, LV 3001

Telefons: 630-05671; fakss: 630-05685;

e-pasts: Inga.Skuja@llu.lv

Papildu informācija par *LLU Rakstiem* pieejama *LLU* mājas lapā <http://www.llu.lv> sadaļā Pētniecība.

Latvijas Lauksaimniecības universitātes Raksti ievieto publikācijas par nozīmīgiem oriģināliem, teorētiskiem un eksperimentāliem pētījumiem, kas interesē zinātnieku un nozares speciālistu auditoriju. Publicē arī nozares zinātnes pārskatus un hronikas rakstura materiālus.

Manuskriptus autori iesniedz tehniskajam redaktoram latviešu un angļu valodā. Personas, kas iesniedz manuskriptu, to paraksta un pilnībā atbild par iesniegtā manuskripta īpašuma tiesībām un zinātnisko līmeni. Redkolēģijai ir tiesības pakļaut manuskriptus tālākai izvērtēšanai un izņēmuma gadījumos arī noraidīt, ja tie neatbilst vispārējiem publikācijas kritērijiem vai tiek uzskatīti kā nepiemēroti *LLU Rakstiem*. Iesniedzot manuskriptus publicēšanai, autors(i) apliecinā, ka darbs nav iepriekš publicēts, nav paredzēts publicēšanai citos izdevumos, un to izlasījuši un atzinuši par labu visi autori. Autori piešķir ekskluzīvas tiesības Latvijas Lauksaimniecības universitātei iesniegtā raksta publicēšanai.

Vēlamā rakstu struktūra: **virsraksts** (raksta valodā un angļu valodā); **autors** vai autori – pilni vārdi un uzvārdi, darba vietas nosaukums (raksta valodā un angļu valodā), pilna pasta adrese, tālruna numurs, fakss, e-pasta adrese; **abstract** – kopsavilkums angļu valodā līdz 250 vārdiem vienā rindkopā izsmelši informē par rakstā iekļauto datu būtību; **key words** – ne vairāk kā 5 (angļu valodā); angļu valodā iesniegtiem rakstiem **kopsavilkums** – latviešu valodā vienā rindkopā; **ievads** – situācija un hipotēze; **materiāli un metodes** – pētījuma objekts, metodes un metodika, lai ikviens gūtu priekšstatu par pētījumu gaitu; **rezultāti** – teksta, tabulu, attēlu veidā ar atbilstošu datu ticamības novērtējumu un rezultātu analīzi; **diskusija** – pētījumu rezultātu interpretācija, salīdzinājums ar citu autoru līdzīgiem pētījumiem, jaunākajām zinātnes atziņām; **secinājumi**; **literatūras saraksts**. Manuskriptu apjomam nevajadzētu pārsniegt 15 lappuses – oriģinālrakstam, 20 lappuses – apskata rakstam un 6 – īsiem ziņojumiem. Manuskriptā jānumurē lappuses, attēli, tabulas un formulas.

Teksts

Darbs jānoformē datorsalikumā programmā *MS Word* uz A4 formāta lapām, lietojot *Unicode* fontu *Times New Roman* ar izmēru 12. Pamatteksts sastāv no rindkopām. Sarežģītu un optiski grūti uztveramu burtu veidu lietošana pamattekstā nav pieļaujama. Teksta attālums no kreisās lapas malas 30 mm, no pārējām – 25 mm. Rindstarpu attālums – 1.5. Skaitļos kā decimāldaļitājs jālieto punkts, nevis komats. Manuskriptā lietojamas SI sistēmas mērvienības un arī attiecīgie saīsinājumi.

Tabulas

Tabulām (visos potenciālo izdevumu manuskriptos) jābūt veidotām programmā *MS Word* vai *Excel* un tās novietojamas teksta beigās uz atsevišķām lapām. Tabulu virsraksti, teksts tajās un paskaidrojumi pie tām tulkojami arī angļu valodā. Tabulām jābūt saprotamām arī tad, ja teksts nav lasīts. Tabulu numuri rakstāmi ar arābu cipariem labajā pusē virs tabulas virsraksta. Tās nedrīkst pārsniegt apdrukai paredzēto lapas laukumu, un tabulu zemteksta piezīmēm jābūt uz tās pašas lapas. Ja tabula turpinās uz vairākām lappusēm, tabulas galva bez virsraksta jāatkārto katrā lapā, virsraksta vietā rakstot «.....tabulas turpinājums» vai «.....tabulas nobeigums». Nav ieteicams veidot tabulas, kurām rindu vai kolonnu skaits mazāks par trīs. Kolonnās skaitļiem jābūt nolīdzinātiem. Daudzdzīmju skaitļi jāsadala grupās pa trim. Ja kolonnā uz leju atkārtojas tas pats skaitlis vai teksts, tas jāraksta atkārtoti, nedrīkst likt atkārtojuma simboliku.

Attēli

Diagrammas, zīmējumus un fotogrāfijas uzskata par attēliem. Attēliem jābūt melnbaltā izpildījumā un tie

novietojami teksta beigās uz atsevišķām lapām. Skanētos attēlus, digitālās fotogrāfijas un zīmējumus var veidot jebkurā grafiskajā programmā, bet ievietot tos *MS Word* kā attēlus (*Picture*), nevis kā attiecīgās programmas objektus. Diagrammas ieteicams veidot *MS Excel* vai *MS Word*, izmantojot *Microsoft Graph*. Diagrammās vēlams izvairīties no fona tonējuma un ierāmējuma līniju lietošanas; tīklu līniju biezumam jābūt ¼ pt, rakstzīmju izmēram jābūt tādā pašam kā pamattekstā. Attēlos jāizvairās no uzrakstiem uz tiem. Uzrakstu vietā lietojami simboli vai cipari, kas atšifrējami zem attēla. Paraksts zem attēla sākas ar attēla numuru, tad seko nosaukums, kas atklāj vai raksturo attēla redzamo, un tad attēlā lietoto ciparu, simbolu atšifrējums. Attēla nosaukums un visi paskaidrojumi tajā tulkojami arī angļu valodā.

Formulas

Formulas jāraksta *MS Equation* programmā. Formulas tekstā raksta atsevišķā rindā pa vidu. Formulas numurē, numuru rakstot tajā pašā rindā starp divām apaļajām iekavām lapas labajā pusē. Formulās lietotajam pamatvienību lielumam jābūt tādā pašam kā pamattekstā. Kursīvā rakstāmi pieņemto apzīmējumu simboli. Formulās ietvertu lielumu mērvienības raksta aiz to nosaukumiem vai skaitliskajām vērtībām tekstā. Formulu paskaidrojumi rakstāmi aiz formulas, katrs savā rindā. Starp paskaidrojumu un mērvienību liek defisi, bet aiz mērvienības – semikolu, un aiz pēdējās mērvienības paskaidrojuma – punktu.

Citējumi

Atsauces tekstā pieraksta, apaļajās iekavās ierakstot izmantotā izdevuma autoru un izdošanas gadu, piem. (Monod, 1963).

Literatūras saraksts darba beigās jānoformē alfabēta kārtībā, atsevišķus darbus pierakstot šādi: **žurnālu raksti** – Hahey, R., Senseman, S., Krutz, L., Hons, F. (2002) Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biol. Fertil. Soils*, 35, pp. 35-40; **grāmatas** – *Lauksaimniecības ilgtermiņa investīciju kredīvērtēšanas programma*. (2001) LR Zemkopības ministrija, Rīga, 20 lpp.; **grāmatu nodaļas** – Carrey, E. A. (1989) Peptide mapping. In: *Protein Structure*. Creighton, T. E. (ed.) ILR Press, Oxford, pp. 191-224.; **INTERNET resursu apraksts** – Veselības noteicošie faktori. Vide kā dzīvības un veselības resurss: http://www.liis.lv/vid_ves/faktori.htm – Resurss aprakstīts 2004. gada 13. janvārī.

Ja atsauces pieraksta ar skaitli kvadrātiņkāvē citēšanas secībā, tad arī literatūras sarakstu noformē citēšanas secībā. Atsaucēm tekstā jāsakrīt ar literatūras sarakstā minētajiem avotiem, un tiem jābūt publiski pieejamiem.

Fināls

Recenzēto un attiecīgi papildināto manuskripta pēdējo versiju autors(i) elektroniskā veidā kopā ar manuskriptu iesniedz tehniskajam redaktoram.

Tikai precīza visu iepriekš minēto prasību ievērošana sekmēs sagatavoto manuskriptu ātrāku publicēšanu.

Atkāpes no šo noteikumu prasībām pieļaujamas, saskaņojot ar *LLU Rakstu* redkolēģiju

LLU Rakstu redkolēģijas adrese:

Lielā iela 2, Jelgava, LV 3001

Telefons: 630-05671; fakss: 630-05685;

e-pasts: Inga.Skuja@llu.lv

Papildu informācija par *LLU Rakstiem* pieejama *LLU* mājas lapā <http://www.llu.lv> sadaļā Pētniecība.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Raksti (Proceedings of the Latvia University of Agriculture) publishes reports that describe the results of original theoretical or experimental research of importance and interest to diverse groups of scientists. The scientific articles should be intelligible to a broad scientific audience. The journal publishes also information on events pertaining to science life.

Procedure for submission of manuscripts. The persons who submit manuscripts assume responsibility for the propriety and scientific standards of the manuscripts they submit. However, as authorized by the Council of the University, the Editorial Board reserves the right to subject manuscripts to further review when necessary and to reject those that do not meet the general criteria for publication or are regarded as inappropriate in some significant way. The Editorial Board reserves the right to edit all manuscripts linguistically and stylistically. Authors submitting a paper do so on the understanding that the work has not been published before, is not considered for publication elsewhere and has been read and approved by all authors. The submission of the manuscript means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to the Latvia University of Agriculture if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the Latvia University of Agriculture. The date of receiving the communicated manuscript in the Proceedings Office will become part of the published paper.

Manuscript should be printed out with standard-size (12 points) letters, the font *Times New Roman* or equivalent, on one side of good white paper of A4 format, with margins of at least 25 mm and left-hand margin – 30 mm. 1.5 line spacing should be throughout, including references, tables, figures, and footnotes. Reviews should not exceed 20 pages, original papers – 15 pages, and short communications – 6 pages. The pages should be numbered throughout, including tables and figures. The structure of original paper should be arranged in the following succession:

Title should reveal precisely, in a few words, the subject matter in the shortest possible form; the **Author**, or authors, should type their full names, followed by the names of the department and institution where the investigation was conducted, including a complete postal address. Co-authors from other departments or institutions should be named in the sequence of authorship. The telephone number, fax, and e-mail of the corresponding author should be provided; **Abstract** is in one paragraph – up to 250 words should adequately summarize the essential findings described in the paper; **Key words** – not more than five, should be presented in a separate line; **Introduction** outlines the purpose, scope and methods of the investigation and its relation to other research in the same field; **Materials and Methods** should be described in detail, so that one might follow the procedures. Standard laboratory procedures should be mentioned only, but reference citation is necessary; **Results** are presented in

textual, tabular, or figure form. This section should be brief, if it is both preceded by well expounded Materials and Methods section and followed by a well considered Discussion; **Discussion** provides interpretation of the results. One should not avoid discussion of controversial or unsettled points or of data obtained by the authors, or any evidence for drawing **Conclusions**; those whose role is limited to providing materials, financial support or review should be recognized in the **Acknowledgements** section of the paper; **References**, when cited in the text, should be written as follows: (Carrey, 1989; Hahey et al., 2002; Naturalizing ..., 2007). In the list at the end of the manuscript, they should be arranged in alphabetical order and each reference should be described as in the following examples: **journal article** – Hahey, R., Senseman, S., Krutz, L., Hons, F. (2002) Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biol. Fertil. Soils*, 35, pp. 35-40; **a book** – Chard, T. (1995) *An Introduction to Radioimmunoassay*. Elsevier, Amsterdam. 534 pp.; **chapter from a book** – Carrey, E. A. (1989) Peptide mapping. In: *Protein Structure*. Creighton, T. E. (ed.) ILR Press, Oxford, pp. 191-224; **INTERNET resources** – Naturalizing with flower bulbs: <http://www.flower-gardening-made-easy.com/naturalizing.html> – Accessed on 28.10.2007.

Tables and figures. Tables should be intelligible by them, without reference to the text. Table headings should be concise and should adequately represent the subject matter and be part of the table. Footnotes to the tables should be placed on the same page and designated by superscripts ¹, ², etc. Graphs, diagrams, drawings and photographs are considered as figures. Both tables and figures should be numbered with Arabic numerals in the order of appearance in the text and should be typed on separate pages at the end of the manuscript. Equations should be written in *MS Equation* program, graphs and diagrams – in *Excel 5.0*, without toning in background, and in black-and-white version.

Units of measurement and abbreviations. Use of the International System of Units (SI) is required. In decimals, use the decimal point, not the comma. In the text and tables, use the minus exponential (e.g. g m⁻²) instead of a slash, and use SI abbreviations. The conventional designation of the authority of a binomial scientific name of organism should be added the first time the name is introduced in the main text.

Paper submission. Authors are encouraged to provide the final version of accepted manuscripts either on a floppy diskette, which should be IBM compatible, or by e-mail. Scrupulous adherence to these instructions can speed publication.

Address of the Editorial Board:

LLU Raksti
Lielā iela 2,
Latvia University of Agriculture
Jelgava, LV-3001, Latvia
phone: +371-630-05671; fax: +371-630-05685;
e-mail: Inga.Skuja@llu.lv