

# Utjecaj folijarne gnojidbe na sadržaj glikozida u lišću stevije (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Ana - Marija ŠPICNAGEL<sup>1</sup>, Lepomir ČOGA<sup>1</sup>, Bruno NOVAK<sup>1</sup>, Sanja SLUNJSKI<sup>1</sup>, Ivan PAVLOVIĆ<sup>1</sup>, Šebojka KOMORSKY - LOVRIĆ<sup>2</sup>, Ivana NOVAK<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska, (e-mail: spicnagel@hotmail.com)

<sup>2</sup>Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno - tehnološki fakultet, F. Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

## Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj folijarne prihrane dušikom na sadržaj nekoliko najvažnijih glikozida u lišću stevije (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Stevija (*Stevia rebaudiana* Bertoni) je višegodišnji zeljasti grm iz porodice glavočika (*Asteraceae*) koja je tek prije nekoliko godina introducirana u Hrvatsku. Biljka se uzgaja zbog lišća koje odlikuje slatkast okus zahvaljujući glikozidima koji su i do 300 puta slađi od šećera. Folijarna prihrana provedena je primjenom rastućih doza visokokoncentriranog dušičnog gnojiva - UREE (46% N) u koncentracijama: 0% (kontrola), 0,2%, 0,4% i 0,8% UREE. Temeljem analize uzoraka lišća stevije najveća količina glikozida utvrđena je u kontrolnoj varijanti, a najmanja u varijanti sa 0,2% -tnom koncentracijom.

Ključne riječi: dušik, urea, folijarna analiza, steviozid i steviobilzid

## The importance of foliar fertilization on the glycoside content of stevia (lat. *Stevia rebaudiana* Bertoni)

### Abstract

The subject of this research was to determine the importance of foliar fertilization on glycosides of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Stevia is a perennial herbaceous shrub from the *Asteraceae* family introduced in Croatia only few years ago. The fresh leaves have a sweet taste, due to glycosides that are more than 300 times sweeter than sugar. Foliar fertilization was made with highly concentrated nitrogen fertilizer - urea (46% N) in concentrations: 0% (control), 0,2%, 0,4% and 0,8%. Analysis of stevia leaves show highest value of glycosides in plants that were not applicated with urea fertilizer.

Key words: stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), glycoside, urea, nitrogen

### Uvod

Stevija je višegodišnji zeljasti grm iz porodice glavočika (*Asteraceae*) podrijetlom iz Paragvaja. Budući da je u svom prvotnom staništu rasla kao samonikli, divlji grm, koristili su je i Indijanci (prije više od 1500 godina) koji su njome liječili rane, povišeni krvni tlak i šećernu bolest. Danas se stevija komercijalno uzgaja u Brazilu, Urugvaju, Izrealu, Australiji, Japanu i u mnogim drugim zemljama gdje je prepoznata kao "šećer novog doba". U Hrvatskoj se stevija počela pokusno uzgajati 2006. godine s tendencijom komercijalnog uzgoja (Novak B., 2007). Stevija je termofilna biljka koja se uspješno uzgaja na tlima slabo kisele do neutralne

reakcije. U ljudskoj prehrani najčešće se koristi lišće koje je slatkog okusa ali ne sadrži šećer i nema kalorija. Osušeno lišće stevije je 30 - 40 puta slađe od šećera, dok je ekstrakt slađi i do 300 puta. Slatkasti okus lišća stevije uzrokuju glikozidi koji su termostabilni i ne razgrađuju se u ljudskom organizmu. Najvažniji glikozidi su dominantni steviozid i nekoliko tipova rebaudiozida čija je relativna slatkoća prikazana u Tablici 1. (Kennelly, E.J., 2002).

Tablica 1. Relativna slatkoća i koncentracija pojedinih glikozida u lišću stevije (Kennelly, E.J., 2002.)

Glikozidi	Relativna slatkoća (saharoza = 1)	Koncentracija glikozida u lišću stevije (%)
Steviozid	150 - 300	4 - 14
Rebaudiozid A	250 - 450	2 - 4
Dulkozid A	50 - 120	0,4 - 0,7
Steviolbiozid	100 - 125	< 0,4

Suha tvar stevije sadrži 1,4% N, 0,3% P i 2,4% K. Kod prinosa od 7500 kg ha<sup>-1</sup>, na korijen otpada 26%, na stabljiku 35%, a na lišće čak 39% ukupne mase (Mau Tulasi, 2006). Ovisno o klimatskim uvjetima i broju žetvi prinos suhog lista može se kretati od 1500-2000 kg ha<sup>-1</sup> godišnje. Sukladno željama proizvođača da ostvare što veći prinos sa što kvalitetnijim proizvodom (lišće), nužno je provesti detaljna istraživanja o utjecaju gnojidbe na sadržaj glikozida. Budući da biljka brzo i lako usvaja dušik, potrebno je istražiti koje su optimalne količine dušika koje pozitivno utječe na razinu glikozida (steviozida i steviola) u lišću. Zahvaljujući opsežnim i temeljitim istraživanjima moguće je proizvesti zdravstveno ispravnu sirovinu pogodnu za svakodnevnu upotrebu. Prema posljednjim podacima Svjetska organizacija za aditive u hrani (JECFA) odredila je 4 mg steviola/ kg tjelesne mase kao prihvatljivi dnevni unos (ADI) steviola (Maria, H.L., 2010).

## Materijal i metode

U svrhu određivanja količina i vrsta glikozida u steviji (*Stevia rebaudiana* Bertoni) provedeno je istraživanje na pokušalištu Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno u vremenu od 24. svibnja do 2. rujna 2010. godine. Presadnice stevije uzgojene su u stakleniku u pojedinačnim vegetacijskim lončićima visine i promjera 10 cm. Presadnice stare 8 tjedana ručno su presađene na gredice u sklopu pokušališta. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu s 4 varijante u 4 ponavljanja, gdje pojedine varijante predstavljaju različite koncentracije visokokoncentriranog dušičnog gnojiva - UREE (46% N). Tijekom trajanja pokusa provedene su dvije folijarne prihrane (14. lipnja i 5. srpnja 2010. godine) čija je primjena bila u jutarnjim satima, prije pojave jakog sunca.

Varijante pokusa su:

- I. varijanta- kontrola (bez folijarne prihrane)
- II. varijanta - 0,2% -tna. konc.UREE
- III. varijanta - 0,4% - tna. konc. UREE
- IV. varijanta - 0,8% - tna. konc. UREE

Provedena su dva uzorkovanja lišća stevije, od kojih je prvo izvršeno 12. srpnja 2010., u fazi intenzivnog formiranja lisne mase (sredina vegetacije) a drugo neposredno prije same berbe (2. rujna 2010). Analiza lišća na količinu glikozida provedena je u Laboratoriju za fizičku kemiju tragova na Institutu "Ruđer Bošković" u Zagrebu. Sadržaj glikozida - steviozida i steviola u biljnom materijalu (list) određen je pomoću voltometrijske tehnike - polarografije. Sadržaj ukupnog dušika u tlu određen je metodom po Kjeldahl-u, dok je sadržaj fosfora određen spektrofotometrijski, a kalija plamenfotometrijski (ekstrakcijom tla AL- otopinom). Rezultati kemijskih svojstava tla na kojem je postavljen pokus prikazani su u tablici 2.

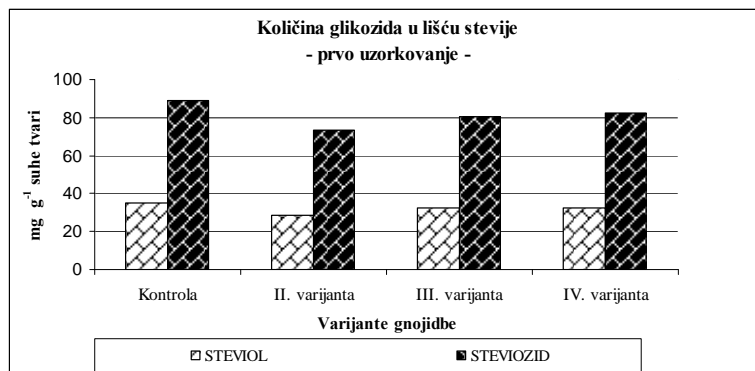
Tablica 2. Kemijska svojstva tla

	pH (H <sub>2</sub> O)	pH (1M KCl)	Humus (%)	N (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg 100 g <sup>-1</sup> tla)	K <sub>2</sub> O (mg 100 g <sup>-1</sup> tla)
Pokušalište Agronomskog fakulteta	8,00	7,05	2,72	0,14	22,52	16,20

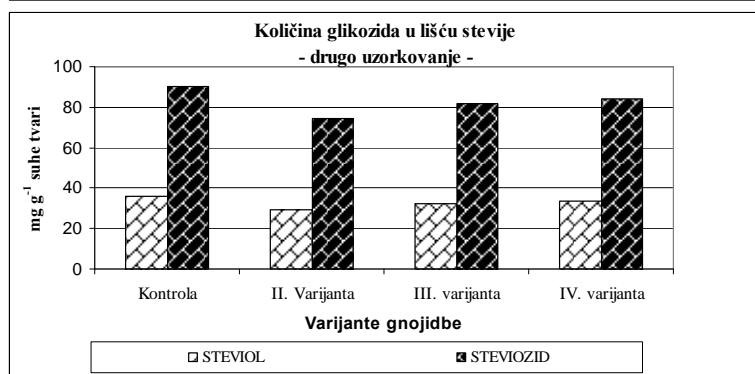
Iz rezultata kemijskih analiza razvidno je da se radi o tlu neutralne reakcije, slabo humoznom i umjereno opskrbljenom ukupnim dušikom, fiziološki aktivnim fosforom i kalijem.

### Rezultati i rasprava

Količine glikozida utvrđene u lišću stevije prikazane su u grafikonima 1 i 2.



Grafikon 1. Količina glikozida (mg g<sup>-1</sup> suhe tvari) u prvom uzorkovanju



Grafikon 2. Količina glikozida (mg g<sup>-1</sup> suhe tvari) u drugom uzorkovanju

Iz grafikona 1 i 2. razvidno je da su najveće količine glikozida, u oba uzorkovanja utvrđene na kontrolnoj varijanti, a najmanje na varijanti tretiranoj sa 0,2%-tnom koncentracijom UREE. Najveće količine steviola 35,68 mg g<sup>-1</sup> i steviozida 90,18 mg g<sup>-1</sup> suhe tvari, utvrđene su u prvom uzorkovanju, na kontrolnoj varijanti. Lagan trend porasta razine glikozida uočava se s porastom koncentracija primjenjene uree. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima istraživanjima koja su dokazala kako visoka primjena dušičnih gnojiva može znatno utjecati na sadržaj glikozida koji predstavljaju kvalitativnu komponentu uzgoja stevije (Chalapathi i sur., 1997). Do sličnih rezultata došli su Das K. i sur. (2006) koji su utvrdili da biljka stevije povećava sadržaj N, P i K samo u prvih 45 dana, nakon čega dolazi do opadanja vrijednosti bez obzira na količinu primjenjenog dušika. Prema Chalapathi i sur. (1997) najpovoljniji postotak suhe tvari postiže se gnojidbom s 60 kg N ha<sup>-1</sup>, 30 kg P ha<sup>-1</sup> i 45 kg K ha<sup>-1</sup>. Brazilski znanstvenik Utumi M.M. (1999) otkrio je kako smanjena koncentracija Ca, K i S može znatno utjecati na sadržaj steviozida u lišću stevije, te samim time i na kvalitetu konačnog proizvoda. Važno je spomenuti da oko 70% svih usvojenih kationa i aniona otpada na nitratni i amonijski ion, a ta činjenica značajno utječe na omjer svih drugih kationa i aniona. Prema tome, prilikom gnojidbe stevije potrebno je uzeti sve elemente u obzir, te na taj način isključiti negativne posljedice koje mogu nastati zbog primjene previsoke doze dušičnih gnojiva. Vrijednosti steviola i steviozida ne razlikuju se značajno između dva termina uzorkovanja. Zahvaljujući ovom podatku može se planirati nekoliko vremenski odvojenih berbi, koje rezultiraju većom količinom ubranog lišća, čija kvalitativna vrijednost odgovara standardima. Pokusi poput ovog provedenog u Zagrebu učestali su u Indiji, koja je prepoznala stevijiu kao "šećer novog doba". Dvogodišnjim istraživanjima provedenim u Indiji - Ludhiana (Zahida, R., 2009), utvrđene su veće količine glikozida u lišću stevije gnojene ureom (60 kg ha<sup>-1</sup>) u odnosu na gnojidbu organskim gnojivom (45 t ha<sup>-1</sup>). Stoga je nužno provesti detaljna istraživanja koja će u većoj mjeri rasvijetliti povezanost dušika sa količinom i vrstama glikozida u lišću stevije.

## Zaključak

Na temelju provedenih istraživanja može se zaključiti da je folijarna ishrana ureom utjecala na sadržaj glikozida u lišću stevije. Količina steviola i steviozida rasla je s porastom koncentracije uree, premda su najveće količine glikozida utvrđene u kontrolnoj varijanti.

## Literatura

- Chalapathi M. V., Shivaraj B., Ramakrishna Parama V.R. (1997): Nutrient uptake and yield of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as influenced by methods of planting and fertilizer levels, *Crop Research*, 14, 205- 208.
- Das, K., Dang, R., Shivananda, T.N. (2006): Effect of N, P and K fertilizers on their availability in soil in relation to the Stevia plant (*Stevia rebaudiana* Bert.), *Archives of Agronomy and Soil Science* 52 (6), pp. 679-685 0
- Egner H. - Riehm H. - Domingo W.R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Boden II. Chemische Extraktionsmethoden zu Phosphor- und Kaliumbestimmung. *K. Lantbr. Hogsk. Annlr. W.R.* vol. 26 199-215 pp.
- Gračanin, M. (1946): *Pedologija (tloznanstvo)*, Poljoprivredni nakladni zavod, Školska knjiga, Zagreb
- Kennelly, E.J., (2002): Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni. In: A.D. Kinghorn, Editor, *Stevia, the Genus Stevia. Medicinal and Aromatic Plants—Industrial Profiles*, Vol. 19, Taylor and Francis, London and NY, pp. 68-85.
- María, H.-L.a , Enrique, B.-C.a , Raúl, B.-D.b , Joven, J.b , Micol, V.a (2010): Stevia is a source for alternative sweeteners: Potential medicinal effects, *Agro Food Industry Hi-Tech* , Volume 21, Issue 3, May 2010, Pages 38-42
- Mau Tulasi (2006): *Hand book on medicinal & aromatic plants*  
<http://assamagribusiness.nic.in/NEDFi/map18.pdf>
- Novak B., Fabek S., Žutić I., Toth N. (2007): *Stevia rebaudiana*- egzotično lisnato povrće. Objavljeno u *Zborniku sažetaka radova*, 125 - 126, Opatija, Hrvatska
- Rashid Zahida, Saini S. S. (2009): Influence of farm yard manure and urea on growth, foliar yield and glycoside content of sweet herb (*Stevia rebaudiana* Bertoni), *Applied Biological Research*, Volume : 11, Issue : 1
- Singh K. and Prasad R.(1976): Effect of nitrogen, phosphorus and rhizobium inoculation on growth and yield of pigeon pea under rainfed condition, *Indian Journal Agron.* 21: 266- 270.
- Utumi, M.M., Monnerat, P.H., Pereira, P.R.G., Fontes, P.C.R., De Godinho, V.P.C. (1999): Macronutrient deficiencies in Stevia: Visual symptoms and effects on growth, chemical composition, and stevioside production, *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 34 (6), pp. 1039-1043 1

sa2011\_0128