

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Nutriční charakteristika zbytků z výroby tekutých  
ochucovadel a jejich využití ve výkrmu kuřecích brojlerů**

**Diplomová práce**

**Bc. Jana Svobodová**

**Výživa zvířat**

**Ing. Vladimír Plachý, Ph.D.**

**© 2022 ČZU v Praze**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Nutriční charakteristika zbytků z výroby tekutých ochucovadel a jejich využití ve výživě zvířat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Vladimírovi Plachému, Ph.D. za vedení práce a za cenné rady. Dále bych ráda poděkovala rodině za podporu při psaní.

# Nutriční charakteristika zbytků z výroby tekutých ochucovadel a jejich využití ve výkrmu kuřecích brojlerů

## Souhrn

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit možnost využití zbytků z výroby tekutých ochucovadel ve výkrmu brojlerových kuřat, které je možné využívat jako alternativní a nezávadnou náhradu antibiotických a růstových stimulátorů. Je to z důvodu obsahu huminových látek, jejichž pozitivní vlivy na zdraví a růst zvířat byly zkoumány již v mnoha studiích.

Vliv huminových látek je neustále zkoumán, jelikož jejich účinky jsou prokazatelně pozitivní a zároveň se jedná o přírodní látky, které lze využít do konce výkrmu a nejsou u nich stanoveny ochranné lhůty. Kvůli jejich vysoce pozitivním účinkům na přírůstek svalové hmoty a životaschopnost by byly vhodným aditivem v krmných směsích, především kvůli neustále se zvyšující poptávce po mase.

Literární rešerše obsahuje informace o chovu, výkrmu a výživě kuřat. Zároveň jsou v této práci uvedena fakta o huminových látkách. Konkrétně o jejich vlivech na zvířata a možnostech jejich využití výkrmu.

V praktické části práce bylo analyzováno 32 vzorků zbytků z výroby tekutých ochucovadel rostlinného původu, které byly dle nám neznámého složení rozděleny do sedmi skupin. Pomocí analýz byl vyhodnocen obsah huminových kyselin, fulvokyselin, hrubého proteinu, aminokyseliny, chloridů a popelovin. Obsah huminových kyselin byl  $12,49 \pm 4,46$  %, fulvokyselin  $9,14 \pm 2,49$  %, hrubého proteinu  $29,93 \pm 5,56$  % a chloridů  $11,38 \pm 2,54$  %. Podle poměrů obsahů jednotlivých živin lze konstatovat, že nejlepší složení měli skupiny TSLK a TRKH.

Dle výsledků bylo možné shledat zbytky jako vhodné aditivum pro vykrmovaná zvířata, jelikož zbytky z výroby tekutých ochucovadel obsahují nejen vysoké množství prospěšných huminových kyselin a fulvokyselin, ale i hrubého proteinu a volných aminokyselin.

**Klíčová slova:** kuře, chlorid sodný, huminové látky, aminokyseliny

# **Nutritional characteristics of residues from the production of liquid flavourings and their using in chicken broiler fattening**

## **Summary**

The aim of the thesis was to evaluate the possibility of using residues from the production of liquid flavorings in the fattening of broiler chickens, which can be used as an alternative and harmless substitute for antibiotics and growth stimulators. This is due to the content of humic substances, whose positive effects on the health and growth of animals have already been investigated in many studies.

The influence of humic substances is constantly being investigated, as their effects are demonstrably positive and at the same time they are natural substances that can be used until the end of fattening and there are no protection periods set for them. Due to their highly positive effects on muscle gain and survivability, they would be a suitable additive in compound feed, especially due to the ever-increasing demand for meat.

The literature search contains information on breeding, fattening and nutrition of chickens. At the same time, facts about humic substances are presented in this work. Specifically, about their effects on animals and the possibilities of using them for fattening.

In the practical part of the thesis, 32 samples of residues from the production of liquid flavorings of plant origin were analyzed, which were divided into seven groups according to their unknown composition. The content of humic acids, fulvic acids, crude protein, amino acids, chlorides and ash was evaluated using analyses. The content of humic acids was  $12.49 \pm 4.46\%$ , fulvic acids  $9.14 \pm 2.49\%$ , crude protein  $29.93 \pm 5.56\%$  and chlorides  $11.38 \pm 2.54\%$ . According to the ratios of the contents of individual nutrients, there is a possibility that the TSLK and TRKH groups had the best composition.

Based on the results it was possible to find that the residues are suitable additive for fattened animals, since the residues from the production of liquid flavorings contain not only a high amount of beneficial humic acids and fulvic acids, but also crude protein and free amino acids.

**Keywords:** chicken, sodium chloride, humic acids, amino acids

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>10</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Chov drůbeže.....</b>	<b>11</b>
3.1.1 Výkrm kuřat .....	11
3.1.2 Mikroklima .....	12
3.1.3 Porážka.....	13
3.1.4 Kuřecí maso .....	13
<b>3.2 Výživa drůbeže .....</b>	<b>14</b>
3.2.1 Trávicí soustava .....	14
3.2.2 Krmítka a napáječky .....	15
3.2.3 Výživa .....	15
3.2.3.1 Voda .....	16
3.2.4 Živiny.....	16
3.2.4.1 Dusíkaté látky.....	17
3.2.4.2 Lipidy .....	20
3.2.4.3 Sacharidy.....	21
3.2.4.4 Minerály .....	21
3.2.4.5 Vitamíny.....	22
3.2.5 Krmiva .....	22
3.2.5.1 Základní komponenty krmných směsí .....	22
3.2.5.2 Zpracování komponentů.....	23
3.2.5.3 Typy krmných směsí .....	23
<b>3.3 Tekutá ochucovadla .....</b>	<b>23</b>
3.3.1 Výroba tekutých ochucovadel .....	24
3.3.2 Zbytky z výroby tekutých ochucovadel .....	25
<b>3.4 Huminové látky .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Vlastnosti huminových látek .....	26
3.4.1.1 Vliv na růst a produkci.....	27
3.4.1.2 Vliv na střevní mikrobiom a klky .....	27
3.4.1.3 Vliv na stravitelnost .....	28
3.4.1.4 Chelatační vlastnosti .....	28
3.4.1.5 Redoxní vlastnosti.....	28
3.4.1.6 Vliv na imunitu .....	29
3.4.1.7 Vliv na krevní parametry.....	29

3.4.1.8	Další účinky .....	29
3.4.2	Využití ve výživě zvířat .....	30
3.4.2.1	Drůbež .....	30
3.4.2.2	Skot .....	31
3.4.2.3	Prasata .....	32
3.4.2.4	Králíci .....	32
3.4.2.5	Ryby .....	32
<b>4</b>	<b>Metodika .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1</b>	<b>Analyzovaný materiál .....</b>	<b>33</b>
4.1.1	Stanovení sušiny .....	33
4.1.2	Stanovení hrubého proteinu .....	33
4.1.3	Stanovení aminokyselin .....	33
4.1.4	Stanovení chloridů a sodíku .....	34
4.1.5	Stanovení huminových frakcí .....	34
<b>4.2</b>	<b>Statistické vyhodnocení .....</b>	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1</b>	<b>Stanovení obsahu huminových kyselin .....</b>	<b>36</b>
<b>5.2</b>	<b>Stanovení obsahu fulvokyselin .....</b>	<b>37</b>
<b>5.3</b>	<b>Stanovení obsahu hrubého proteinu .....</b>	<b>38</b>
<b>5.4</b>	<b>Stanovení obsahu popelovin .....</b>	<b>39</b>
<b>5.5</b>	<b>Stanovení obsahu chloridů .....</b>	<b>41</b>
<b>5.6</b>	<b>Stanovení obsahů aminokyselin .....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>45</b>
<b>6.1</b>	<b>Obsah huminových kyselin a fulvokyselin .....</b>	<b>45</b>
<b>6.2</b>	<b>Obsah hrubého proteinu .....</b>	<b>45</b>
<b>6.3</b>	<b>Obsah aminokyselin .....</b>	<b>45</b>
<b>6.4</b>	<b>Obsah chloridů .....</b>	<b>46</b>
<b>6.5</b>	<b>Příjem zbytků .....</b>	<b>47</b>
<b>6.6</b>	<b>Vliv huminových látek .....</b>	<b>47</b>
<b>6.7</b>	<b>Zhodnocení výsledků .....</b>	<b>48</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>49</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>50</b>



# 1 Úvod

V současné době je zvyšována produktivita zemědělství a zejména užitkovost zvířat. Celosvětově roste poptávka po masu (Bezuglova & Klimenko 2022). Kvůli tomu dochází ke zvyšování produkce především drůbeže, což je podpořeno genetickým pokrokem a lepšími znalostmi výživy (Ravindran 2013). Kuřecí maso se těší velké oblibě, jelikož je dietní a lehce stravitelné. Dále také pro jeho chuť, vůni a nutriční hodnoty. V kuřecím masu je vysoký obsah proteinů, vitamínů a minerálů. Jelikož je výkrm krátký obsahuje maso málo škodlivých látek a tuků (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014; Skalická et al. 2021). Abdominální tuk, který je odpadem, může vznikat při překrmování energetickými krmivy a způsobuje ekonomické ztráty (Boekholt et al. 1994; Zelenka et al. 2014). Právě množství abdominálního tuku může být snižováno přidáním huminových látek (Ozturk et al. 2011; Lacková et al. 2022).

Produkce kuřecího masa zároveň příliš nezátěžuje životní prostředí. Dopady jsou sníženy při výrobě a spotřebě krmiva, ale i při produkci hnoje (Verdal et al. 2011; Tallentire et al. 2016). Drůbež je totiž šlechtěna na vyšší konverzi krmiva a nižší příjem (Aggrey et al. 2010; Tallentire et al. 2016). Genetický pokrok také umožnil rychlejší dosažení porážkové hmotnosti, vyšší výtěžnost prsní svaloviny (Tallentire et al. 2016) a vyšší retenci bílkovin (Boekholt et al. 1994). Dle Zuidhof et al. (2014) byla rychlost růstu kuřecích brojlerů zvýšena mezi roky 1950 a 2005 o více než 400 %.

Pro zvýšení užitkovosti se používají biologicky aktivní látky, huminové látky nevyjímaje, které zlepšují trávicí a metabolické procesy v těle zvířete, podporují konverzi krmiva a zvyšují přírůstky hmotnosti a produkci (Bezuglova & Klimenko 2022). Hlavním předpokladem pro použití huminových látek je pozitivní ovlivnění produktivity zvířat zejména kvůli obsahu huminových kyselin, fulvokyselin a volných aminokyselin (Arafat et al. 2017). Dalším důvodem využívání zbytků je stoupající tlak na využití druhotných produktů potravinářské výroby při krmení zvířat a tím lze zmírnit zátěž životního prostředí.

V důsledku komplexního působení huminových látek na organismus zvířete (Jad'uttová et al. 2019) je lze využít jako náhradu antibiotik a růstových stimulátorů, jejichž použití je již zakázáno (Islam et al. 2005; Nagaraju et al. 2014; Jad'uttová et al. 2019; Mohammadsadeghi et al. 2019). Jejich výhodou je, že při jejich použití není nutné dodržovat ochranné lhůty (Rath et al. 2006; Ozturk et al. 2011). Právě huminové látky jsou poměrně hojně zastoupeny ve zbytcích z výroby tekutých ochucovadel.

Zbytky z výroby tekutých ochucovadel kyselou hydrolyzou jsou označovány jako huminy (Pánek et al. 2014). Tekutá ochucovadla vznikají fermentací nebo kyselou hydrolyzou rostlinných či živočišných materiálů (Kim & Lee 2007). Právě při výrobě ochucovadel vzniká velké množství zbytků, a přestože jsou považovány za odpad, a přesto obsahují vyšší množství bílkovin, olejů (Xu et al. 2022), volných aminokyselin (Kim & Lee 2007), nenasycených mastných kyselin, solí a vitamínů (Yasuda et al. 2015). Hlavní složkou tekutých ochucovadel jsou hydrolyzáty bílkovin, které jsou obsaženy i ve zbytcích (Kim & Lee 2007; Pánek et al. 2014; Hou et al. 2017; Sassi et al. 2021; Xu et al. 2022). Jejich obsah společně s volnými aminokyselinami je velmi výhodný, jelikož se v organismu rychle vstřebávají, a tak během trávení dochází k nižším ztrátám (Selle et al. 2022).

Praktická část byla zaměřena na analýzu zbytků z výroby tekutých ochucovadel a jejich využití jako aditiva, které zvyšuje užitkovost zvířat.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

**Cíl práce:** Popsání nutričních hodnot druhotných produktů z výroby tekutých ochucovadel a zhodnocení možnosti jejich využití ve výkrmu kuřecích brojlerů.

**Hypotéza:** Nutriční hodnota druhotných produktů z výroby tekutých ochucovadel může doplnit a zlepšit nutriční hodnotu krmiv a tím i zajistit vysokou užítkovost.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Chov drůbeže

Kur domácí patří do velkého řádu Galliformes. Tento řád zahrnuje více než 200 druhů ptáků, včetně všech krůt, křepelek, bažantů, tetřevů, perliček a koroptví. Mnohé z těchto druhů jsou všežravci a konzumují širokou škálu potravy rostlinného i živočišného původu (Klasing 2005). Na základě morfologických, behaviorálních a genetických důkazů lze předpokládat, že se domestikovaná kuřata vyvinula z divokého kura bankivského pocházejícího z jihovýchodní Asie, pravděpodobně z Thajska (Klasing 2005; Stupka et al. 2013).

V současné době jsou kuřata chována především k produkci vajec a masa (Stupka et al. 2013). Z tohoto důvodu byly vyšlechtěny různé linie a komerční hybridy pro dva užitkové typy kuřat. Typ masný a nosný se navzájem liší svými fyziologickými funkcemi, které jsou podřízené vysoké růstové schopnosti u masného typu a vysoké vaječné produkci u typu nosného. Oba užitkové typy se od sebe liší i svou stavbou těla. Pro vyšlechtění masného užitkového typu byla použita dvě plemena, a to plymutka bílá a kornýška bílá. Z nich byli vyšlechtěni užitkoví hybridy Ross 308 a Cobb 500, kteří jsou v současnosti nejčastěji vykrmovanými druhy (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Šlechtitelé se zaměřují na vlastnosti související s růstem, efektivitou, výnosem, reprodukční zdatností, životaschopností, stavbou kostry, kardiovaskulárními funkcemi a odolností vůči chorobám (Fancher 2014). Umělým výběrem došlo ke zvýšení rychlosti růstu kuřat a zlepšení konverze krmiva. Dále byla snížena separace krmiva a pohyb kuřat, což zvýšilo využití energie pro růst (Tallentire et al. 2016). Zuidhof et al. (2014) prokázali, že rychlost růstu kuřecích brojlerů se mezi roky 1950 a 2005 zvýšila o více než 400 %. Věk kuřat pro masnou produkci při dosažení tržní hmotnosti 2 kg neustále klesá a to ze 63 dnů v roce 1976 na 35 dnů v roce 2009. To je dáno selekcí na snížení pohybové aktivity rychle rostoucích kuřat, což vede k nižšímu výdeji energie (Tallentire et al. 2016), a dále také schopností vysoké retence bílkovin (Boekholt et al. 1994). Genetický pokrok v chovu brojlerů přispívá ke snížení dopadů na životní prostředí, na který je v posledních letech kladen vysoký důraz. Dopady jsou sníženy při výrobě krmiva, spotřebě a při produkci hnoje (Verdal et al. 2011; Tallentire et al. 2016).

Růst kuřat je ovlivněn faktory vnitřními a vnějšími, které jsou vzájemně provázané. Pokud není některý z nich optimální dochází ke snížení užitkovosti. Vnitřními faktory jsou genetické založení a pohlaví. Samci rostou o zhruba 20 % rychleji, proto se kuřata odlišného pohlaví vykrmují zvlášť. Vnějšími faktory ovlivňující růst jsou výživa, ustájení, mikroklima a péče o zvíře, včetně prevence a léčby onemocnění. Prostedí je řízeno tak, aby splňovalo veškeré potřeby zvířat. Je nutné dbát na welfare kuřat nejen během výkrmu, ale i před porážkou. Kvalitu kuřat ovlivňuje i péče o rodičovskou populaci (Stupka et al. 2013; Aviagen 2009).

#### 3.1.1 Výkrm kuřat

Cílem výkrmu je maximální zisk a užitkovost. Na začátku výkrmu musí být podpořeny návyky pro přijímání potravy a napájení, jelikož výživa během prvních dvou týdnů života ovlivňuje užitkovost a růst kuřat po zbytek výkrmu. Před vylíhnutím čerpají kuřata živiny ze žloutku, bílku a skořápky. Dalším zdrojem živin je pro kuře žloutkový vak, který obsahuje

hodně bílkovin a imunoglobulinů, ty kuře čerpá prvních pár dnů po vylíhnutí. Díky těmto zásobám je vhodná přeprava do hal během prvních dvou dnů života. Před vylíhnutím lze využít krmení in ovo, kdy je amnionová tekutina obohacena exogenními živinami. Důležitá je i výživa nosnic snášejších násadová vejce, protože ovlivňuje kvalitu kuřat až 10 dní po vylíhnutí (Aviagen 2009; Zelenka 2014).

Násadová vejce jsou určena k líhnutí kuřat pro výkrm. Musí mít dobrou kvalitu skořápky a líhivost. Vejce jsou skladována při teplotě 16 až 17 °C, tyto teploty podporují rozvoj embrya. Zároveň musí být zajištěna dostatečná vlhkost, a to 55 až 65 %. Pokud by byla vlhkost nedostatečná, tak by docházelo k dehydrataci kuřat (Aviagen 2009; Glatz 2013b; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014). Vejce jsou prosvícena pro odhalení prasklých nebo neplodných vajec, případně vajec s mrtvými embryi nebo hnilobami. Do inkubátoru, kde je teplota kolem 25 °C, jsou umístěna vejce o hmotnosti 53 až 75 gramů. V inkubátoru jsou vejce 21 dní. V průběhu inkubace je zvyšována relativní vlhkost na 75 %. Vejce jsou pravidelně otáčena. Z inkubátorů jsou přemístěna do líhně, kde je teplota kolem 38 °C a vlhkost až 80 % (Glatz 2013b). V prvních dvou dnech po vylíhnutí se kuřata přepravují na farmu (Zelenka 2014). Osvědčenou praxí při výkrmu kuřat je princip „all-in, all-out“, kdy se přiváží a poráží kuřata stejného stáří. Tímto způsobem se zamezuje šíření chorob (Aviagen 2009; Glatz 2013a). Hala musí být před přivezením kuřat důkladně mechanicky očištěna a vydezinfikována. Díky tomu je úhyn kuřat pouze do 4 % (Stupka et al. 2013).

Výkrm kuřat je prováděn 5 až 6 týdnů, kdy dochází k dosažení cílové hmotnosti, která je 1,8 až 2,6 kilogramů. Průměrná hmotnost kuřat ve velkochovech se zjišťuje vážením kuřat každý týden, a to odebráním náhodného vzorku zhruba 100 kuřat. V rámci uniformity hejna se využívají hmotnosti, která jsou v rozmezí 10 % na obě strany od průměrné hmotnosti (Glatz 2013a; Stupka et al. 2013). Pokud jsou splněny všechny podmínky prostředí a kuřata mají správnou výživu, tak mají v sedmém dni hmotnost až pětkrát větší než na počátku výkrmu, to je 180 až 190 gramů (Aviagen 2009; Zelenka 2014).

Pro efektivnější výkrm se vykrmují zvláště slepičky a kohoutci, a to z toho důvodu, že mají odlišnou rychlost růstu, nástup pohlavního dospívání, výdej tepla a liší se i ve složení přírůstku. Rozdílnost v intenzitě růstu se projevuje od 14. dne věku, proto je oddělený výkrm prováděn od 10. dne věku. Kohouti jsou vykrmováni do 10. týdne věku, kdy je dosažena hmotnost 5,2 kilogramu. Slepice jsou poráženy v 5 až 6 týdnech a jejich váha je 1,9 až 2,4 kilogramu (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

### 3.1.2 Mikroklima

Nejdůležitějším aspektem chovu brojlerových kuřat je vytvoření prostředí bez teplotních výkyvů (Glatz 2013a). Do 14. dne nejsou kuřata schopná regulovat svojí tělesnou teplotu. Proto je vhodné udržovat teplotu 28 až 30 °C. Od 14. dne věku může být teplota snížena na 22 až 24 °C (Aviagen 2009). V případě, že by v hale bylo tepleji, došlo by ke vzniku tepelného stresu, čímž by se snížila růstová výkonnost. Během 3 týdnů se teplota v hale snižuje na 20 °C a tato teplota je udržována až do porážky (Aviagen 2009; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Vlhkost vzduchu v hale se na počátku udržuje do 70 %. Pokud byla nižší, tak by docházelo k vysušování sliznic. V pozdějších fázích výkrmu je snižována na 50 až 70 %,

protože v důsledku vyšší vlhkosti podestýlky je vlhkost v hale zvyšována (Stupka et al. 2013). Z tohoto důvodu je nutné zajistit kvalitní ventilaci (Glatz 2013b).

Jelikož kuřata během výkrmu produkují s trusem i plyny je nezbytné zajistit dostatečnou ventilaci. Ventilace udržuje optimální kvalitu vzduchu. Přivádí kuřatům konstantně kyslík a odvádí prach a odpadní plyny jako je oxid uhličitý, oxid uhelnatý, amoniak a sirovodík. Zároveň je odváděno přebytečné teplo a vlhkost (Aviagen 2009; Glatz & Pym 2013; Zelenka 2014). Pro snížení emisí je vhodné kuřata nepřekrmovat proteiny (Aviagen 2009).

Osvětlení je zásadní pro příjem krmiva a vody, a zároveň je jím stimulován růst kuřat. Do konce 7. dne by měla být intenzita světla 20 luxů a doba svícení 23 hodin. Tato stimulace je nezbytná pro optimální příjem krmiva a vody, trávení a rozvoj metabolismu a imunitního systému. Od 7. dne se snižuje intenzita světla na 10 až 5 luxů, aby byla kuřata klidná a zbytečně se nepohybovala, ale stále přijímala krmivo. Světlo je zhasínáno na 4 až 6 hodin denně. Kuřata si tak vytvoří denní rytmus a je umožněno správné fungování fyziologických procesů jako je mineralizace kostí a trávení. Zároveň je zvyšována produkce melatoninu a tím má kuře vyšší přírůstky a lepší konverzi krmiva. Je vhodné zhasínat světla ve stejný čas. Kuřata si vytvoří podmíněný reflex, a budou přijímat více krmiva a vody, čímž dojde k naplnění volete (Aviagen 2009; Glatz 2013a; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014). Dle Glatz & Pym (2013) je produktivita zvířat ovlivněna délkou, intenzitou a barvou světla. Červená a oranžová světla stimulují produkci vajec. V modrém světle jsou kuřata klidnější, proto je vhodné během depopulace.

Zlepšené podmínky ustájení (teplota, vlhkost a proudění vzduchu) snižují energetické požadavky na jiné funkce jako je termoregulace nebo imunitní reakce. Energie je tak investována především do růstu (Tallentire et al. 2016).

### **3.1.3 Porážka**

Před porážkou by měla mít kuřata co nejdéle přístup k vodě (Aviagen 2009), proto by transport neměl trvat déle než 12 hodin (Zelenka 2014). Toto časové období zahrnuje odchyt, transport a čekání na porážku. Kuřata by neměla být krmena 6 (Stupka et al. 2013) až 8 hodin (Aviagen 2009; Glatz 2013a; Zelenka 2014) před porážkou, a to z důvodu vyprázdnění trávicího traktu a zabránění kontaminace krmivem a trusem během zpracování jatečně upravených těl (Aviagen 2009; Glatz 2013a). Pokud jsou kuřata krmena celou pšenicí, je nutné jí přestat krmit 2 dny před porážkou. V případě, že jsou kuřatům podávána kokcidiostatika a jiná léčiva je nutné dodržet zákonem stanovenou dobu pro jejich vysazení (Aviagen 2009).

Při odchytu kuřat na porážku je dbáno na jejich welfare, které je důležité pro brojlery, ale i pro kvalitu masa. Úhyn v tomto období by neměl být vyšší než 0,1 % (Aviagen 2009).

### **3.1.4 Kuřecí maso**

Kuřecí maso je dietní a lehce stravitelné. Je celosvětově oblíbené pro jeho organoleptické vlastnosti a nutriční hodnoty. Jelikož výkrm trvá krátkou dobu, je v mase málo škodlivých látek a tuku a vyšší množství bílkovin (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014; Skalická et al. 2021).

Kuřecí maso obsahuje 17 až 25 % bílkovin a do 15 % tuku (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014). Ukládání tuku je nedílnou součástí růstu masných kuřat (Wiseman & Lewis 1998). Abdominální tuk je považován za odpad a představuje ekonomickou ztrátu (Boekholt et al. 1994; Zelenka 2014). Selekcí kuřat byl jeho růst snížen (Zuidhof 2014). Zároveň

je nutriční složení masa výrazně ovlivněno stravou (Boekholt et al. 1994). Z toho důvodu tvoří krmné směsi největší část nákladů, a to až 70 % (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Celosvětová produkce drůbeže trvale roste hlavně kvůli šlechtitelské práci, lepšímu pochopení výživy a kontrolám onemocnění (Ravindran 2013). Nejcennějšími částmi kuřete jsou prsní a stehenní svalovina. Jejich podíl tvoří 50 až 60 % z jatečně upraveného těla (Stupka et al. 2013; Zelenka 2014). Selekcí kuřat bylo dosaženo rychlejšího zrání prsní svaloviny (Zuidhof 2014), a zároveň byl zvýšen její podíl až o 54 %. Rychlost růstu se zdvojnásobila. Alokace proteinů byla přeměřovaná ze srdce do prsní svaloviny, proto váží srdce jen 0,44 % tělesné hmotnosti (Fleming et al. 2007; Tallentire et al. 2016).

## 3.2 Výživa drůbeže

### 3.2.1 Trávicí soustava

Trávicí soustava ptáků je podobná té savčí, avšak má určité odlišnosti, které jsou zásadní (Reece 2011; Cibulka et al. 2004). Trávením docházím k rozkladu velkých makromolekul na vstřebatelné živiny (Eugenio et al. 2022).

Ptáci přijímají krmivo zobákem, ten společně se svalnatým žaludkem nahrazuje zuby. Sliny jsou tvořeny ve větším množství u ptáků, kteří přijímají suchou potravu. Ve slinách je obsažena v malém množství alfa-amyláza. Chuťových pohárků mají ptáci málo. Zároveň jsou citliví na kyselou chuť. Z tohoto důvodu vybírají krmivo zrakem a pomocí mechanorecepce. To znamená, že vybírají krmivo dle barvy, velikosti, tvrdosti a tvaru částic. Mechanoreceptory se nacházejí na špičce zobáku (Reece 2011; Zelenka 2014; Cibulka et al. 2004).

Jícen se před hrudníkem vychlipuje ve vole. V něm je skladována přijatá potrava, která je pomocí sekretu z hlenových žlázek zvlhčována a nabobtnává. Promíchání a posunu obsahu do žláznatého žaludku napomáhají peristaltické pohyby (Reece 2011; Cibulka et al. 2004).

Žaludek lze rozdělit na 2 části, a to na žláznatou a svalnatou. Ve žláznaté části žaludku je potrava trávena pomocí žaludečních šťáv, ty jsou tvořeny kyselinou chlorovodíkovou, pepsinogenem a mucinem. Hodnota pH je zde 1,5 až 2. Potrava touto částí prochází plynule do svalnaté části žaludku. Ve svalnaté části je potrava zpracovávána mechanicky, přičemž toto zpracování je podporováno přítomností gritu. To jsou kaménky a písek. Lze v této části nalézt i žluč a pankreatickou šťávu, ty jsou do svalnatého žaludku přiváděny pomocí antiperistaltických pohybů (Reece 2011; Zelenka 2014; Cibulka et al. 2004).

Tenké střevo ptáků je krátké. Lze ho rozdělit na dvanáctník, lačník a kyčelník. V kličce dvanáctníku se nachází slinivka břišní, kterou jsou produkovány pankreatické šťávy. Uprostřed střeva je Meckelovo diverticulum, což je pozůstatek po žloutkovém vaku. Klky tenkého střeva kura nemají na rozdíl od savčích centrální chylový kanálek. Do dvanáctníku a žlučníku ústí žlučové vývody z jater. Žluč je slabě kyselá a napomáhá trávení tuků. Ve střevě se pH pohybuje kolem hodnoty 7 (Reece 2011; Cibulka et al. 2004).

Ptáci mají dvě slepá střeva. Dochází v nich ke zpracování celulózy bakteriemi. Z kloaky se sem přes tračník dostává moč, která je bakteriemi využita jako zdroj dusíku a vstřebává se z ní zde přebytek vody (Reece 2011; Cibulka et al. 2004). Z produktů mikrobiální fermentace získávají kuřata 3 až 5 % metabolizovatelné energie, dospělá drůbež až 11 %. Výkaly ze slepých

střev jsou mazlavé, tmavé a silně páchnoucí. Trus je tvořen výkaly i močí, ta tvoří bílou čepičku výkalů. Tlusté střevo ptáků je na rozdíl od savčího pokryto klky (Zelenka 2014).

Koncem trávicí soustavy ptáků je kloaka, která má tři části. Nachází se zde vývod vylučovacího a pohlavního aparátu. Výkaly se shromažďují v koprodeu. Močovody, chámovody nebo vejcovody ústí do urodea a konečnou částí kloaky je proktodeum. Nachází se v něm samčí pohlavní orgán a u mladých ptáků i Fabriciova burza, v které jsou tvořeny protilátky a dozrávají tam B-lymfocyty (Reece 2011; Zelenka 2014; Cibulka et al. 2004).

### 3.2.2 Krmítka a napáječky

Kuřata se pohybují na vzdálenost 3 až 4 metry, proto této ploše musí být přizpůsobeno rozmístění napáječek a krmítek. Pro podporu příjmu krmiva a vody jsou používány napáječky a krmítka zelené barvy. Na počátku jsou využívána doplňková krmítka a napáječky, ty jsou postupně odstraněny (Zelenka 2014). Hrana krmítek i napáječek je umístována do výše hřbetu kuřete. Výška tak musí být denně upravována (Aviagen 2009; Glatz 2013; Zelenka 2014).

V prvních deseti dnech výkrmu je krmivo podáváno na plochá krmítka, aby po něm kuřata chodila a lépe ho tak nalezla (Zelenka 2014). Po deseti dnech výkrmu se postupně přechází na hlavní krmný systém (Aviagen 2009).

Využívána jsou tubusová, řetězová nebo talířová krmítka. U řetězových krmítkem potřebuje každé kuře 2,5 centimetru délky (Aviagen 2009; Zelenka 2014). Jedním tubusovým krmítkem je nakrmeno 70 kuřat a miskovým 45 až 80 kuřat (Aviagen 2009).

Napáječky se používají kapátkové a kloboukové. Na 1000 kuřat se dává minimálně 8 kloboukových nebo 75 kapátkových napáječek (Aviagen 2009; Zelenka 2014). Odrážející se světlo od hladiny vody přiláká kuřata, čímž zajistí lepší příjem vody (Zelenka 2014).

### 3.2.3 Výživa

Drůbež je řazena mezi všežravce bez potravních preferencí. Ve volné přírodě je drůbeží konzumována široká škála krmiv rostlinného i živočišného původu. Příjem hmyzu překračuje 50 % jejich stravy, dále přijímají zelenou píci a semena. Příjmem a hledáním potravy tak stráví ve volné přírodě až 60 % svého času. Toto chování se učí mláďata od svých rodičů (Klasing 2005; Ravindran 2013; Zelenka 2014).

Drůbež musí být krmena vyváženou stravou (Ravindran 2013). Krmivo je podáváno ad libitum (Wiseman & Lewis 1998). Náklady na krmivo v chovu brojlerů tvoří 70 % celkových nákladů. Z tohoto důvodu je šlechtěna drůbež s vyšší konverzí krmiva a nižším příjmem. Tím jsou sníženy výrobní náklady a dopad tohoto průmyslu na životní prostředí (Aggrey et al. 2010; Tallentire et al. 2016).

Průchod krmiva trávicím traktem rychle rostoucích masných kuřat je kratší než tři hodiny, proto je nutností, aby byl krátký trávicí trakt kompenzován krmivem bohatým na živiny (Ravindran 2013). Opatrnost musí být při přidávání tuků do krmiva, jelikož rapidně zvyšují obsah metabolizovatelné energie. Její nadměrné množství může způsobit přírůstek tuku a tím ekonomické ztráty z výsledného produktu (Wiseman & Lewis 1998). Velký důraz je také kladen na vyšší potřebu minerální výživy u moderních brojlerů (Applegate & Angel 2014).

Krmivo by mělo splňovalo nutriční požadavky každé věkové skupiny kuřat, aby došlo k dosažení co nejvyššího zisku z ekonomického hlediska (Glatz 2013; Stupka et al. 2013; Zelenka

2014). Zároveň nesmí docházet k překrmování kuřat, protože to je dle Zákona na ochranu zvířat proti týrání 246/1992 Sb. zakázáno. Podle Směrnice Rady Evropy 98/58/EC o ochraně zvířat chovaných pro hospodářské účely musí být zvířata živena zdraví prospěšnou dietou vhodnou pro jejich druh a věk, která jim má být podávána v dostatečném množství pro zachování zdraví a uspokojení potřeb. Kvalitou krmiva lze ovlivnit užitek hejna z hlediska rychlosti přírůstku a kvality jatečně upraveného těla. Výživou tedy bude ovlivněna kvalita masa, chuť a protučňelost (Aviagen 2009; Zelenka 2014).

### 3.2.3.1 Voda

Voda je nejdůležitější, ale nejméně opomíjenou ve výživě drůbeže. Má vliv na každou fyziologickou funkci těla drůbeže. Stálý přísun vody je důležitý pro trávení krmiva, vstřebávání živin, vylučování odpadních produktů a regulaci tělesné teploty. Voda tvoří asi 80 % těla. Na rozdíl od jiných zvířat drůbež žere a pije neustále. Pokud by byla i na krátkou dobu bez vody, tak by byla ovlivněna produkce a růst. Voda proto musí být neustále k dispozici. Příjem krmiva i rychlost růstu vysoce korelují s příjmem vody. Přesné požadavky na vodu je obtížné stanovit a jsou ovlivněny několika faktory, včetně podmínek prostředí, věku a fyziologického stavu. Předpokladem je, že příjem vody je dvojnásobkem příjmu krmiva. Teplota pitné vody by měla být mezi 10 a 25 °C. Voda je ideálním prostředím pro distribuci kontaminantů, jako jsou chemikálie a minerály, a pro množení škodlivých mikroorganismů, proto je důležité kvalitu vody pravidelně sledovat. Pro snížení kontaminace se používá ultrafialové záření nebo chlorace (Aviagen 2009; Ravindran 2013).

### 3.2.4 Živiny

Živiny lze definovat jako chemické látky, které jsou obsaženy v krmivu a slouží k zajištění životních funkcí, které se navzájem prolínají. Příkladem mohou být bílkoviny, které slouží jako stavební látky, ale pokud jich je v organismu mnoho, lze je využít i jako zdroj energie. Nositelkou energetických živin je organická hmota (Zelenka 2014). energii pro růst a metabolické funkce získávají kuřata z potravy ve formě sacharidů, bílkovin a tuků. Protože tyto složky tvoří většinu krmiva, silně určují celkové množství spotřebovaného krmiva. S ohledem na tuto skutečnost je vyvíjen selektivní tlak na zvýšení konverze krmiva (Tallentire et al. 2016).

Pro stanovení živin v krmivu se používá krmivářský rozbor. Ten stanovuje sušinu a vodu krmiva. V sušině se nachází popeloviny, které jsou zdrojem makro i mikroelementů a organické látky, to jsou proteiny, sacharidy, lipidy, nebílkovinné dusíkaté látky a specificky účinné látky. Po rozboru zůstává vláknina, ta pochází z rostlinných krmiv. Kuře jí zužitkovává jen z velmi malé části, protože pro její trávení nemá enzymy, ale mohou ji rozložit mikroorganismy ve střevě. Vlákna napomáhá při čištění střev a jejich peristaltice (Zelenka 2014).

Definování potřeb živin je náročné, protože jsou ovlivněny několika faktory a podléhají neustálým změnám. Existují dva typy faktorů ovlivňující požadavky na živiny. Faktory související s kuřaty, jako je genetika, pohlaví a typ produkce a vnější faktory, jako je teplota okolí, stres a podmínky chovu. Pro maximální růst, produkci vajec a dobrý zdravotní stav potřebuje intenzivně chovaná drůbež ve své stravě vyvážený soubor živin. Živiny požadované ptáky se liší podle druhu, věku a účelu produkce. Aby byly splněny tyto specifické potřeby,



musí být jednotlivé třídy drůbeže krmeny odlišnými typy stravy (Ravindran 2013). U mladých kuřat se na přírůstku hmotnosti podílejí hlavně bílkoviny a s přibývajícím věkem je ukládán spíše tuk (Zelenka 2014).

Kuřata potřebují stálý přísun energie, bílkovin, esenciálních aminokyselin, tuků, esenciálních mastných kyselin, minerálů, vitamínů a hlavně vody. Energie a potřebné živiny jsou získány trávením rostlinných krmiv (Ravindran 2013). Některé esenciální aminokyseliny, jako je lysin, methionin, threonin a tryptofan jsou podávány jako syntetické doplňky (Ravindran 2013). Tyto živiny se nesyntetizují z krmiva v dostatečném množství, přestože jsou pro organismus nezbytné, nazývají se esenciální. Proto musí být do krmiva doplňovány, aby nedošlo ke vzniku poruch metabolismu (Zelenka 2014). Dále existují živiny, které jsou limitující. To znamená, že obsahem těchto živin v krmivu je limitován růst a produkce. U kuřat je takovou živinou lysin (Ravindran 2013).

#### 3.2.4.1 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky zahrnují bílkoviny a nebílkovinné dusíkaté látky. Bílkoviny neboli proteiny jsou tvořeny dlouhými řetězci aminokyselin, které jsou spojené peptidickou vazbou (Reece 2011; VanGoudoever et al. 2014; Zelenka 2014). Bílkoviny lze rozdělit na dipeptidy, oligopeptidy a polypeptidy (Reece 2011). Dle struktury lze uspořádání aminokyselin rozdělit na primární (řetězec), sekundární (šroubovici), terciální (globulární) strukturu a kvartérní strukturu, kde dochází k interakci s jinými molekulami (VanGoudoever et al. 2014). Struktura proteinu určuje jeho biologickou funkci (Hou et al. 2017).

Bílkoviny jsou hlavní složkou živočišných tkání a produktů (Hou et al. 2017). Jsou funkční a strukturální složkou všech buněk těla, proto jsou nezbytné pro růst a produkci. Zároveň fungují i jako neurotransmitery. Většina bílkovin je v těle syntetizována z aminokyselin a zpětně na ně degradována (VanGoudoever et al. 2014). Trávení bílkovin a vstřebání aminokyselin v tenkém střevě je rozhodující pro růst brojlerů. Přejít aminokyselin přes enterocyty je komplikován jejich vstupem do anabolických nebo katabolických drah enterocytů, což snižuje jejich postenterální dostupnost (Macelline et al. 2021).

Ve stravě mohou být aminokyseliny přítomné v různých formách, a to vázané na proteiny, oligopeptidy nebo volné aminokyseliny. Lze předpokládat, že volné aminokyseliny mají 100% stravitelnost (Selle et al. 2022). Volné aminokyseliny a malé peptidy jsou absorbovány přímo střevním epitelem, zatímco intaktní proteiny a větší peptidy musí být hydrolyzovány trávením. V důsledku toho jsou různé formy aminokyselin absorbovány odlišnou rychlostí. Různá je i stravitelnost intaktních proteinů, což lze přičíst složitosti jejich proteinové struktury nebo jejich profilu aminokyselin (Eugenio et al. 2022). Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem vázané na proteiny (BCAA) jako je isoleucin, leucin a valin se pomalu vstřebávají podél tenkého střeva ptáků kvůli své hydrofobnosti. Střevní absorpce volných aminokyselin je tedy rychlejší a probíhá převážně v proximální části tenkého střeva než absorpce aminokyselin vázaných na proteiny. Volné aminokyseliny procházejí přes enterocyty do portálního oběhu, aniž by vstoupily do anabolických nebo katabolických drah (Selle et al. 2022). Rozdíly v rychlosti trávení a vstřebávání ovlivňují i metabolismus. Například při krmení volnými aminokyselinami nebo hydrolyzáty je zvýšena inzulínová odezva, čímž

je ovlivněna růstová výkonnost. Inzulín a aminokyseliny působí synergicky a stimulují syntézu svalových proteinů po nakrmení. Zároveň i arginin, leucin, fenylalanin a glycin stimulují sekreci inzulínu. Také bylo prokázáno, že leucin zvyšuje citlivost svalů na inzulín a tím podporuje jejich růst. Sekrece inzulínu a koncentrace aminokyselin v plazmě u intaktních proteinů je nižší, což může vést k nižší syntéze a retenci proteinu (Eugenio et al. 2022). Při použití volných aminokyselin nebo hydrolyzovaných proteinů dochází ke snížení emisí amoniaku a vylučování dusíku (Eugenio et al. 2022; Selle et al. 2022).

Ve výživě je nutné dbát na kvalitu proteinu. Nejvyšší protein je tvořen všemi esenciálními aminokyselinami v požadovaném poměru. U kuřat jsou nejčastějšími limitujícími aminokyselinami lysin, methionin a threonin. Těmito aminokyselinami je ovlivněno, z jaké části budou využity ostatní aminokyseliny, je jimi ovlivněna užitkovost kuřat a také zvyšují potřebu dusíkatých látek v krmivu a náklady na krmivo. Bílkovina, která obsahuje všechny aminokyseliny v takovém množství, že všechny limitují užitkovost stejnou měrou se nazývá ideální bílkovina, ovšem ta je pouze hypotetická (Ravindran 2013; Zelenka 2014).

Bílkoviny a aminokyseliny lze doplnit přidáním bílkovinných krmiv nebo přidáním syntetických aminokyselin (Aviagen 2009; Zelenka 2014). Pro zjištění obsahu bílkovin v krmivu je nutné určit kolik dusíku krmivo obsahuje a jeho obsah následně vynásobit 6,25. A to z toho důvodu, že dusíkaté látky obsahují 16 % dusíku (Zelenka 2014). Bílkoviny ze stravy jsou transformovány na bílkoviny kuřecího těla v konverzním poměru 2,50:1. Odhaduje se tedy, že účinnost přírůstku bílkovin u brojlerů je 33,3 %, což výrazně převyšuje účinnost u prasat, která je 23,3 % a u skotu 12,1 % (Macelline et al. 2021).

Nevyužité aminokyseliny jsou vyloučeny ornitinovým cyklem, ten je pro tělo energeticky náročný. Z tohoto důvodu je vhodné nepřekrmovat kuřata proteinem a dbát na vybalancované aminokyselinové složení krmiva. Při zpracování krmiv mohou být aminokyseliny znehodnoceny Maillardovou reakcí, která vzniká při vysoké teplotě, nebo vznikem enzymorezistentní vazby, tou je omezeno využití aminokyselin (Zelenka 2014).

Aminokyseliny jsou vstřebávány v tenkém a tlustém střevě. Kolik bílkovin je využito k zachovným účelům a k tvorbě bílkovin těla je udáváno biologickou využitelností aminokyselin. Ta je dána jejich stravitelností. Ideální stravitelnost je udávána jako rozdíl mezi množstvím přijatých aminokyselin a množstvím aminokyselin na konci tenkého střeva. Toto je zjišťováno po porážce (Zelenka 2014).

#### 3.2.4.1.1 Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou v organismu využívány pro tvorbu svalové tkáně, perí, enzymů a hormonů. Při nadbytku mohou sloužit jako zdroj energie. Z více než 300 aminokyselin v přírodě má pouze 20 z nich stavební funkci, z nich 10 je esenciálních. V buněčném metabolismu hrají důležitou roli i neproteinogenní aminokyseliny jako je ornithin, citrulin, homocystein, taurin a  $\beta$ -alanin (Wu 2009). Lze je rozdělit na esenciální a neesenciální. Esenciální aminokyseliny je nutné zvířeti dodávat v dostatečném množství potravou, jelikož si je tělo neumí vyrobit samo. Pro syntézu neesenciálních aminokyselin je nezbytný dostatečný přísun dusíku z bílkovin ve stravě. Tím je zajištěno, že esenciální aminokyseliny nebudou používány k dodání dusíku pro syntézu neesenciálních aminokyselin. Esenciální aminokyseliny pro drůbež jsou lysin, methionin, threonin, tryptofan, isoleucin, leucin, histidin, valin, fenylalanin a arginin. Cystein a tyrosin jsou nazývány jako semiesenciální aminokyseliny,

protože mohou být syntetizovány z methioninu a fenylalaninu (Ravindran 2013; Zelenka 2014). Požadavky na esenciální aminokyseliny se s věkem kuřat mění. Na počátku je celkový přírůstek tělesné hmotnosti vyšší a tím je zvýšen i požadavek na aminokyseliny. S přibývajícím hmotností i věkem rostoucích kuřat požadavky na aminokyseliny klesají (Baker 2008).

Nadbytek či nedostatek aminokyselin ve stravě se přímo odráží v obsahu volných aminokyselin v krvi. Pokud je tedy ve stravě některá z esenciálních aminokyselin podávána v nedostatečném množství, dojde ke zpomalení syntetického procesu. Ostatní aminokyseliny se nevyužijí k syntéze proteinů a dojde k jejich vyloučení z organismu (Almquist 1954). Hlavní limitující aminokyselinou pro drůbež je lysin. Od jeho potřeby se tedy odráží požadavky na obsah ostatních aminokyselin v krmivu (Pesti 2009). Limitující aminokyseliny v krmivu stanovují koncept ideálního proteinu. Dodáním potřebných aminokyselin je snížena spotřeba hrubého proteinu a složení stravy přesněji odpovídá potřebám kuřat (Baker 2008; Kidd & Tillman 2016; Maynard et al. 2022).

Požadavky na aminokyseliny lze rozdělit jako kvalitativní a kvantitativní. Kvalitativní požadavky souvisejí s otázkou, jaké aminokyseliny jsou potřebné pro záchovu, produkci (růst, laktace, reprodukci a sportovní výkon) a optimální zdraví. Kvantitativní požadavky znamenají, kolik aminokyselin je potřeba pro kvalitativní požadavky. Funkční aminokyseliny lze definovat jako ty, které se účastní metabolických drah a regulují je. Mohou to být esenciální, neesenciální, ale i poloesenciální aminokyseliny (Wu 2014).

Argininem je stimulována syntéza proteinů v tenkém střevě, a to i během virové infekce a malnutrice, mimo jiné usnadňuje opravu poškozeného střevního epitelu. Anabolický účinek argininu je spojen se zvýšením aktivace svalové mTOR, což je kináza stimulující buněčný růst (Wu 2009). Anabolismus může být zprostředkován i změnami v odpovědi na růstový faktor. Jeho další funkcí je zvýšení citlivosti těla na inzulin (Cremades et al. 2004; Wu 2009). Při dlouhodobější suplementaci dochází ke snížení tukové hmoty. Arginin funguje i jako antioxidant, reguluje sekreci hormonů a imunitní funkce, metylaci proteinů a detoxikaci amoniaku. Produktem argininu je ornitin, který napomáhá hojení ran (Wu 2009). Arginin lze použít jako terapeutické činidlo pro léčbu nekrotické enterokolitidy a zánětu střeva vyvolaného enterotoxiny. Zároveň jeho působením dochází k produkci oxidu dusnatého, který způsobuje relaxaci hladkého svalstva a chrání střevo před toxiny přenášenými krví (Lallés et al. 2008). Suplementace argininu zlepšuje hyperglykémii, hypertenzi a poruchy metabolického syndromu. Zároveň je jím zvýšena produkce mléka, glykolýza a spermatogeneze a zlepšena je i kvalita masa (Wu 2010).

Tryptofan a prolin ovlivňují imunitní funkce. Prolin tvoří strukturu kolagenu a je osmoprotektivem, tedy chrání ostatní látky před oxidačním stresem (Wu 2009). Suplementace prolinem stimuluje růst tenkého střeva a celého těla (Wu 2010). Tryptofan snižuje atrofii klků a podporuje imunitní funkce (Lallés et al. 2008). Je aminokyselinou, ze které se syntetizuje serotonin a melatonin. Serotonin je neurotransmiterem a melatonin antioxidantem. Obě tyto látky inhibují produkci zánětlivých cytokinů a superoxidu (Wu 2009). Prostřednictvím přeměny na serotonin dochází ke snížení koncentrace kortizolu a noradrenalinu v krvi a tím i stresu (Lallés et al. 2008).

Lysin je limitující aminokyselinou kuřat a má antivirovou aktivitu (Wu 2009). Jeho potřeba je ovlivněna pohlavím, samci ho potřebují více. V případě výkrmu, kde nejsou kuřata oddělena dle pohlaví je krmeno množství lysinu splňující požadavek samců (Baker

2008). Lysin představuje přibližně 7 % bílkovin v prsním svalu. Při jeho nedostatku v potravě byla snížena jatečná výtěžnost masa. Bylo prokázáno, že při interakci lysinu s methioninem a treoninem je zvýšena syntéza proteinů a optimalizován přírůstek masa (Dozier et al. 2008).

Methionin je sírná aminokyselina, z které vzniká homocystein, cystein, tyrosin, taurin a cholin. Homocystein je oxidant a pro kuřata je limitující. Taurin je antioxidant a protizánětlivá látka regulující osmotický tlak. Dále napomáhá vývoji orgánů a žilní, svalové, srdeční a retinální funkci. Cystein je sírná aminokyselina ovlivňující buněčný metabolismus. Transportuje síru a tvoří se z něj taurin (Wu 2009). Společně s treoninem se podílí na tvorbě střevního mucinu (Lallés et al. 2008).

Treonin je nezbytný pro syntézu glycinu (Lallés et al. 2008; Wu 2009). Podporuje imunitní funkce a fosforylaci proteinu (Wu 2009). Glycin umožňuje přísun vápníku přes glycinový kanál v buněčné membráně a podílí se na metabolických drahách dusíku a energetickém metabolismu. Funguje jako inhibiční neurotransmiter a syntetizuje se z něj serin (Wu 2009; Kidd & Tillman 2016). Glycin je zásadní při tvorbě kyseliny močové pro vylučování dusíku. Strukturálně je podobný treoninu a serinu (Kidd & Tillman 2016). Serin je výchozí pro syntézu cysteinu, purinu, pyrimidinu a tryptofanu. Podporuje glukoneogenezi a proteinovou fosforylaci. Tvoří se z něj glycin (Wu 2009).

Izoleucin funguje při genové expresi a udržuje rovnováhu aminokyselin s rozvětveným řetězcem stejně jako valin. Slouží jako zvýrazňovač chuti (Wu 2009). Při jeho suplementaci se zvyšuje výtěžnost prsní svaloviny (Maynard et al. 2022). Leucin inhibuje svalovou proteolýzu (Baker 2008) a stimuluje syntézu proteinů (Wu 2010). Z valinu je syntetizován glutamin a alanin. Alanin podporuje glukoneogenezi a transaminaci (Wu 2009).

Glutamát je zvýrazňovačem chuti a umožňuje transaminaci. Syntetizuje se z něj glutamin, citrulin a arginin (Wu 2009). Glutamin reguluje obrat proteinů prostřednictvím buněčné signalizace mTOR. Je palivem pro rychle se množící buňky, inhibuje apoptózu a podporuje syntézu purinu, pyrimidinu, ornithinu, citrulinu, argininu, prolinu, asparaginu a NAD (Lallés et al. 2008; Wu 2009). Také zlepšuje zdraví střev a zvyšuje přírůstek tělesné hmotnosti (Baker 2008). Suplementace glutaminu snižuje hladinu kortizolu v krvi (Lallés et al. 2008). Glutamin a asparagin jsou excitační neurotransmitery a pomáhají detoxikaci amoniaku. Podporují buněčný metabolismus a regulují genovou expresi a imunitní funkce (Wu 2009). Z aspartátu se syntetizuje purin, pyrimidin, asparagin a arginin. Asparagin působí v transaminaci a močovinovém cyklu (Wu 2009).

Histidin methyloje proteiny a je antioxidantem. Tvoří se z něj histamin, který je vazodilatátorem, moduluje imunitní odpověď a podporuje sekreci acetylcholinu. Také reguluje funkci střev. Fenylalanin aktivuje syntézu BH<sub>4</sub>, což je kofaktor pro syntázy oxidu dusnatého. Dále podporuje syntézu tyrosinu a neurologický vývoj. Tyrosin funguje při fosforylaci proteinů a sulfataci. Jsou z něj tvořeny dopamin a melanin (Wu 2009).

#### 3.2.4.2 Lipidy

Tuky zahrnují neutrální tuky, fosfolipidy a cholesterol. Tuk je triacylglycerol a je složen ze třech mastných kyselin a glycerolu. Fosfolipidy jsou součástí buněčných membrán (Reece 2011; Zelenka 2014).

Tuky jsou bohatým zdrojem energie a zvyšují chutnost krmiva. V krmivu snižují prašnost a při zpracování usnadňují granulování. Jejich přidáním se krmivo stává náchylnějším ke žluknutí (Ravindran 2013; Zelenka 2014). Pro ochranu tuků před žluknutím, tedy oxidací, se používají antioxidanty. Tím je například vitamín E (Zelenka 2014).

Tuky jsou tvořeny z 90 % mastnými kyselinami. Mastné kyseliny dělíme na mononenasyčené (MUFA), polynenasycené (PUFA) a nasycené. Nenasycené mastné kyseliny obsahují dvojnásobné vazby, jsou obsaženy v rostlinných krmivech a tělem jsou lépe využity. Nasycené mastné kyseliny obsahují jednoduché vazby a jsou obsaženy v živočišných tucích. PUFA jsou pro fungování organismu důležité, jelikož obsahují kyselinu linolovou, která je jedinou esenciální mastnou kyselinou a tvoří zásoby energie (Ravindran 2013; Zelenka 2014). Ve složení krmiv je vhodné sledovat poměr n-3 a n-6 PUFA, přičemž n-3 jsou pro tělo vhodnější. Palmový a slunečnicový olej mají vhodný poměr mastných kyselin (Zelenka 2014).

#### 3.2.4.3 Sacharidy

Sacharidy jsou důležitým zdrojem energie. Lze je rozdělit podle počtu cukerných jednotek na monosacharidy, disacharidy a polysacharidy. Monosacharidy jsou pro tělo lehce vstřebatelné. Polysacharidy jsou zásobní a strukturální látky. Je to škrob, celulóza a glykogen. Škrob je zásobní látkou rostlin, je degradován hydrolyzou na maltózu, která je štěpena na glukózu. Glykogen je zásobní látkou živočichů, je skladován v játrech a svalcích a po degradaci na glukózu slouží jako pohotovostní zdroj energie. Celulóza je strukturální sacharid rostlin. Stravitelná je jen mikroorganismy býložravých zvířat, kterými je přeměněna na těkavé mastné kyseliny (Reece 2011).

#### 3.2.4.4 Minerály

Minerály jsou anorganické látky katalyzující chemické reakce. Jsou potřebné pro tvorbu kosterního systému, pro celkové zdraví, jako součást metabolické aktivity a pro udržení acidobazické rovnováhy těla. Dle potřeby je lze dělit na makroprvky a mikroprvky. Makroprvky jsou požadované ve stravě v koncentracích vyšších než 100 mg/kg. Jejich vyvážený poměr je důležitý pro vysokou užitkovost. Patří mezi ně vápník, hořčík, sodík, draslík, chlór, fosfor a síra. Mikroprvky neboli stopové prvky jsou požadovány tělem pouze v malém množství. Fungují jako složky větších molekul a jako kofaktory enzymů v různých metabolických reakcích. Mezi ně jsou řazeny například kobalt, mangan, měď, molybden, selen, zinek, fluór a další (Reece 2011; Ravindran 2013).

Vápník a fosfor jsou nejdůležitějšími minerálními prvky v těle. Vápník a fosfor jsou nezbytné pro tvorbu a udržování struktury kostry a pro dobrou kvalitu vaječných skořápek. Fosfor je z 60 až 80 % v rostlinných krmivech ve formě fytátového fosforu. Ten je drůbeží za běžných podmínek špatně využitelný kvůli nedostatku endogenní fytázy v jejich trávicích enzymech. Proto jsou do krmiv přidávány fytázy. Obecně se předpokládá, že asi jedna třetina fosforu v rostlinných krmivech je nefytátová a je pro drůbež biologicky dostupná. Proto je potřeba fosforu pro drůbež vyjádřena jako nefytátový fosfor. V potravě rostoucích kuřat musí být zachován poměr 2:1 mezi vápníkem a nefytátovým fosforem, aby se optimalizovala absorpce těchto dvou minerálů. Poměr ve stravě nosnic je 13:1 z důvodu velmi vysoké potřeby vápníku pro dobrou kvalitu skořápek. Poměry sodíku, draslíku a chloridu určují acidobazickou

rovnováhu v těle pro udržení fyziologického pH. Pokud dojde k posunu směrem ke kyselým nebo zásaditým hodnotám, metabolické procesy se změní, aby se udrželo pH. Tyto procesy snižují užitečnost (Ravindran 2013; Zelenka 2014).

#### 3.2.4.5 Vitamíny

Vitamíny jsou organické látky, v těle jsou ve formě koenzymů a slouží jako katalyzátory (Reece 2011). Vitamíny se dělí na rozpustné v tucích (vitamíny A, D, E a K) a rozpustné ve vodě (vitamín B, C) (Ravindran 2013).

Všechny vitamíny, kromě vitamínu C, musí být dodávány ve stravě. Vitamín C není obecně klasifikován jako nezbytný v potravě, protože si ho drůbež zvládne syntetizovat sama. Avšak za nepříznivých okolností, jako je tepelný stres, může být suplementace vitamínu C prospěšná (Reece 2011; Ravindran 2013).

### 3.2.5 Krmiva

Krmné směsi pro drůbež jsou v České republice nejvíce vyráběné. Tvoří 70 % nákladů na chov kuřat. Kuřata je vhodné krmit granulovanými směsmi, aby nedocházelo k separaci krmiva. Kompletní krmná směs přímo ovlivňuje užitečnost kuřat (Zelenka 2014). Moderní krmné směsi jsou velmi kvalitní, protože obsahují více energie a bílkovin, navíc jsou vyváženy zvýšeným obsahem esenciálních aminokyselin. Z tohoto důvodu má rozvoj výživy markantní vliv na zvyšování produkce drůbeže a efektivnosti chovu (Ravindran 2013; Tallentire et al. 2016). Energetická hodnota krmiv je vyjádřena obsahem metabolizovatelné energie. Krmivo podávané kuřatům by mělo být čerstvé, bez prachu a škodlivých příměsí. Důležitým aspektem je dobrá skladovatelnost krmiv (Zelenka 2014).

#### 3.2.5.1 Základní komponenty krmných směsí

Obiloviny obsahují hodně škrobu, proto jsou považovány za sacharidové krmivo. Kukuřice je vysoce energetická a do krmných směsí je jí přidáváno až 70 %. Pšenice má poměrně velký rozsah obsahu dusíkatých látek, a to 10 až 18 % a tvoří až 25 % krmné dávky. Pokud by byla přidána jemně šrotovaná hrozí riziko vzniku deformací zobáku. Ječmenu obsahuje vyšší množství vlákniny a má poměrně vysoký obsah antinutričních látek. Triticale je křížencem pšenice a žita, nevýhodou je obsah inhibitoru trypsinu. Oves obsahuje hodně vlákniny a tuku, z toho důvodu je vhodný pro mladou drůbež. Luštěniny jako je hrách, lupina, sója a sójový extrahovaný šrot jsou výborným zdrojem dusíkatých látek, jejichž obsah je vyšší než 22 %. Dále se do krmných směsí přidává pšeničná krmná mouka, pšeničné otruby a klíčky, sladový květ, pekařské krmné zbytky a zbytky z výroby těstovin, kukuřičný gluten, lihovarské výpalky, glycerol, slunečnicový a sójový extrahovaný šrot, rybí a vojtěšková moučka a rostlinné oleje (Zelenka 2014). Pro zvýšení stravitelnosti krmiva jsou do krmných směsí přidávány enzymy (Aviagen 2009).

Hlavní úlohou složek krmiva je poskytovat živiny, které jsou kuřetem tráveny a využívány pro produkci. V současné době jsou k dispozici mnoho údajů o obsahu živin v daných surovinách. V každé surovině je však jejich obsah variabilní, a tím je vytvářen tlak

na šlechtění odrůd s přesným složením. Údaje o různých odrůdách krmiv jsou k dispozici v programech pro tvorbu krmných dávek (Ravindran 2013).

#### 3.2.5.2 Zpracování komponentů

Po smíchání všech složek je krmivo zpracováno širokou škálou tepelných úprav včetně extruze, expanze a peletování. Většina krmiv používaných při produkci masných kuřat je podávána v peletované nebo drcené formě, což zvyšuje ekonomiku výroby zlepšením konverze krmiva a růstové výkonnosti. Tato zlepšení jsou připisována sníženému plýtvání krmivem, vyšší hustotě živin, snížené separaci složek krmiva, snížení času a energie vynaložené na příjem krmiva, zničením patogenních organismů a tepelné modifikaci škrobu a bílkovin (Ravindran 2013; Zelenka 2014).

#### 3.2.5.3 Typy krmných směsí

Pro výkrm brojlerových kuřat se používá 4 až 5 krmných směsí, a to prestarter, starter, grower a finisher, případně při výkrmu kohoutků i směs s označením BR 4. Pro lepší růst brojlerových kuřat je vhodné krmení prestarteru a starteru ve formě granulované drti a další směsi krmit ve formě granulí (Aviagen 2009; Ravindran 2013; Zelenka 2014). Pro odchov kuřat se používají směsi označené K1 a K2, pro nosnice N, N1 a N2 a pro slepice v rodičovských hejnech směs s označením NP (Zelenka 2014).

Krmivo prestarter je používáno v prvních dnech. Vyznačuje vysokou stravitelností a výrobci jej často barví na zeleno, pro lepší příjem kuřaty. Prestarter napomáhá rychlejšímu zahájení růstu (Ravindran 2013; Zelenka 2014).

Starter (BR 1) je velmi kvalitní granulovaná drť na níž se nesmí šetřit, protože zahajuje maximální růst kuřat. Velikost částic krmiva je 1 až 2 milimetry. Krmí se do 10. dne věku. Jeho poměr živin je 54,8. Obsahuje 22 až 24 % dusíkatých látek a 12,5 až 13 MJ ME (Aviagen 2009; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Grower (BR 2) neboli růstová směs se používá od 11. do 24. dne. Podává se ve formě granulí. Růst kuřat je v tomto období dynamický, proto musí mít dostatečný příjem živin. Poměr živin této směsi je 63,3 a obsahuje 21 až 23 % dusíkatých látek (Aviagen 2009; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Finisher (BR 3) se používá od 25. dne do konce výkrmu a představuje hlavní část nákladů na výkrm brojlerových kuřat. Jeho poměr živin je 70,5 a obsahuje 19 až 21 % dusíkatých látek (Aviagen 2009; Stupka et al. 2013; Zelenka 2014).

Je možné použít ke krmení celou pšenici. Celozrnné krmení má několik výhod, jako je zvětšení svalnatého žaludku a nižší náklady na zpracování krmiva. Obvykle se pšenice přidává v množství 10 až 25 % hmotnosti krmiva (Ravindran 2013; Zelenka 2014).

### 3.3 Tekutá ochucovadla

Tekutá koření jsou vyráběna z rostlinných a živočišných materiálů. Základem pro výrobu těchto produktů jsou převážně sójové boby, dále je pro výrobu používána pšenice, kukuřice, fazole, hrách, ale i maso a ryby. Hlavní složkou tekutých ochucovadel jsou hydrolyzáty rostlinných a živočišných bílkovin (Kim & Lee 2007; Pánek et al. 2014; Hou et al. 2017; Sassi

et al. 2021; Xu et al. 2022). Ochucovadla se používají zejména pro zlepšení chuti a aroma pokrmů. Typická je pro ně chuť a vůně umami. V posledních letech se jejich spotřeba zvýšila po celém světě. Proto jim je věnováno značné množství studií, které prokázali mimo jiné i zdravotní přínosy tekutých ochucovadel (Pánek et al 2014; Sassi et al. 2021). Například v Číně je ročně vyrobeno 7,37 milionů tun sójové omáčky (Xu et al. 2022). Často se jedná o tmavě hnědou tekutinu, stálou při okolní teplotě, která nevyžaduje chlazení během skladování kvůli vysokému obsahu soli (Luh 1995).

### 3.3.1 Výroba tekutých ochucovadel

Tekutá ochucovadla se vyrábí fermentací nebo hydrolyzou. Před tímto procesem jsou základní suroviny vystaveny vysokým koncentracím soli. Během výrobního procesu dochází ke vzniku volných aminokyselin, peptidů a amoniaku. V důsledku vysokých koncentrací soli je řízen růst patogenních mikroorganismů. Sůl také dodává výslednému produktu požadovanou chuť a vůni (Kim & Lee 2007). Chuť a vůně je upravena enzymatickými a neenzymatickými reakcemi probíhajícími během výroby (Li et al. 2022). Maillardovou reakcí, ke které dochází působením vyšších teplot mezi aminokyselinami a redukujícími cukry, vzniká typická hnědá barva (Simon et al. 2020). Při výrobě ochucovadel vzniká velké množství zbytků. Přestože jsou považovány za odpad, vyznačují se bohatým obsahem bílkovin, olejů, isoflavonů a dalších užitečných látek (Xu et al. 2022).

Mikrobiální neboli enzymatická hydrolyza, kterou lze nazvat fermentací, probíhá dvoustupňovým procesem fermentace (Simon et al. 2020). Její původ lze nalézt v zemích Dálného východu jako je Vietnam, Korea, Thajsko, Čína nebo Japonsko (Molín et al. 2014). Při fermentaci jsou využívány startovací kultury mikroorganismů, které vylučují enzymy schopné štěpit proteiny, lipidy a škroby na volné aminokyseliny, peptidy, těkavé mastné kyseliny a sacharidy (Simon et al. 2020). První fermentace probíhá s plísní v kultivačním startéru, a vznikají zde proteolytické a amylolytické enzymy. Kultivace je prováděna plísněmi *Aspergillus oryzae*, *sojae* nebo *tamari*. Při tomto procesu vzniká specifické aroma a chuť. Dále je přimíchán chlorid sodný, obsah soli je zhruba 20 %, a jsou přidány kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a bakterie *Bacillus* a *Lactobacillus* (Luh 1995; Hou et al. 2017; Sassi et al. 2021). Nevýhodou fermentace jsou relativně vysoké náklady, délka výroby a také změny v mikrobiální aktivitě za různých podmínek (Hou et al. 2017).

Kyselá hydrolyza byla založena Juliusem Maggim na konci 19. století a používá se převážně v Evropě (Molín et al. 2014). Je prováděna pomocí koncentrovaného roztoku kyseliny chlorovodíkové, která funguje jako katalyzátor. Probíhá při teplotě nad 100 °C po dobu 24 hodin. Hydrolyzát je poté neutralizován hydroxidem nebo uhličitánem sodným. Následně je produkt uskladněn a podroben zrání. Poté jsou nečistoty odstraněny sedimentací a filtrací a poté je konečný produkt pasterizován. Kyselá hydrolyza je levnější a rychlejší, ale nevzniká při ní tak výrazná chuť a aroma jako při fermentaci (Luh 1995; Pánek et al. 2014; Hou et al. 2017; Simon et al. 2020). Dále při tomto procesu dochází k úplné destrukci tryptofanu, částečné ztrátě methioninu a cysteinu a přeměně glutaminu na kyselinu glutamovou a asparaginu na kyselinu asparágovou (Hou et al. 2017). Rizikem kyselá hydrolyzy je vznik toxických chlorhydrinů glycerolu (Pánek et al. 2014).



### 3.3.2 Zbytky z výroby tekutých ochucovadel

Zbytky z výroby tekutých ochucovadel obsahují velké množství živin. Lze v nich nalézt 20–30 % bílkoviny, 10 % sacharidů a 7–18 % lipidů (Chen et al. 2016). Dále obsahují nenasyčené mastné kyseliny, soli a vitamíny rozpustné v tucích (Yasuda et al. 2015). Vzhledem k vyššímu obsahu proteinů je lze považovat za levný zdroj proteinů (Xu et al. 2022), jehož využití je obtížnější kvůli vysokému obsahu chloridu sodného (Nagai et al. 2002). Odpad z výroby tekutých ochucovadel kyselou hydrolyzou je nazýván humin. Lze jej použít jako krmivo či hnojivo (Pánek et al. 2014).

Zbytky z výroby ochucovadel mohou způsobovat vyšší rychlost růstu, užitek a lepší konverzi krmiva u hospodářských zvířat. Lze předpokládat i pozitivní vliv na jejich zdraví a funkci střev (Hou et al. 2017). Dle Chen et al. (2016) tyto látky snižují riziko vzniku kardiologických onemocnění a fungují jako antioxidanty (Sadarman et al. 2022). Yasuda et al. (2015) ve své studii zjistili, že tento produkt ovlivňuje barvu masa a složení lipidů v těle. Dále lze od tohoto produktu očekávat antimikrobiální, antihypertenzní a imunomodulační aktivity, a to v důsledku obsahu bioaktivních peptidů (Hou et al. 2017). Sojový isoflavon, přírodní fenolová sloučenina obsažená ve zbytcích, by mohl zlepšit imunitní funkci, antioxidační schopnost a metabolismus vápníku v chovu dobytka a drůbeže (Xu et al. 2022). Xu et al. (2022) uvádí, že při krmení siláže obsahující huminy docházelo k lepší stravitelnosti bílkovin. Sassi et al. (2021) zjistili, že při zkrmování huminů dochází ke snížení hladiny cholesterolu v krvi.

## 3.4 Huminové látky

Huminové látky jsou přirozeně se vyskytující organické složky půdy, pocházející z rozložené organické hmoty (Wang et al. 2008; Omidwura et al. 2021; Weber 2020). Vznikají přirozeným rozkladem rostlinných a živočišných materiálů mikroorganismy (Kholif et al. 2021). Tento proces se nazývá humifikace a je zodpovědný také za vznik fosilního uhlí a ložisek ropy. Když mikroorganismy zahynou, jsou samy rozloženy a stávají se součástí organické hmoty. Vznikají tak komplexní a heterogenní směsi polydisperzních materiálů, které jsou hlavní složkou půdy (Weber 2020). Huminové látky jsou přirozenou složkou vody, půdy, rašeliny, uhlí a lignitu (Kurková et al. 2004; Islam et al. 2005). Patří tak mezi nejrozšířenější organické materiály na planetě (Sutton & Sposito 2005).

Huminové látky obsahují humus, huminové kyseliny, fulvokyseliny, ulmové kyseliny a stopové prvky (Kocabağlı et al. 2002; Jad'uttová et al. 2019). Jedná se tedy o komplexní směs alifatických řetězců nebo aromatických kruhů se specifickým obsahem funkčních skupin, ale koncentrace těchto látek se liší podle původu huminové látky (Domínguez-Negrete et al. 2019). Hlavními frakcemi jsou humus, huminové kyseliny a fulvokyseliny. Ty můžeme klasifikovat podle jejich rozpustnosti. Humus je nerozpustný, huminové kyseliny jsou rozpustné za alkalických podmínek, ale ne za kyselých podmínek a fulvokyseliny jsou rozpustné při jakékoli hodnotě pH (Sutton & Sposito 2005; Weber 2020). Hydrofobní sloučeniny jsou rozšířené hlavně v největší frakci, zatímco v nejmenší frakci jsou zachyceny hydrofilní složky (Piccolo 2002). Huminové kyseliny působí na buněčnou stěnu jako dilatátory,

tedy zvyšují její propustnost, zatímco fulvokyseliny působí jako chelátor a nesou minerály (Weber 2020).

Humus má největší molekulovou hmotnost, ta může být kolem 300 000 Daltonů. Obsah kyslíku v této látce je nejnižší a klesá v rozmezí 32–34 %, zatímco obsah dusíku kolem 4 %. Huminové kyseliny mají střední molekulovou velikost a jejich molekulová hmotnost se pohybuje od 5 000 do 100 000 Daltonů. V této látce je 33–36 % kyslíku a 4 % dusíku. Fulvokyseliny mají nejmenší molekulovou hmotnost, ta se pohybuje kolem 2000 Dalton. Obsahují 45–48 % kyslíku a pod 4 % dusíku (Islam et al. 2005).

Huminové látky jsou komplexní směsí polyaromatických a heterocyklických chemických látek s více postranními řetězci karboxylových kyselin (MacCarthy 2001). Obsahují tyto funkční skupiny: karboxylové, fenolové, ketonové, aromatické a alifatické (Steinberg et al. 2008). Dle Piccolo (2002) a Aeschbacher et al. (2012) lze považovat huminové látky za heterogenních soubory molekul. Skládají se z dlouhého řetězce molekul, které jsou spojeny uhlíkovou vazbou (Islam et al. 2005). Reagují s draslíkem, hořčíkem, hliníkem a železem a vytváří organominerální můstky (Kucukersan et al. 2005). Huminové kyseliny mají kationtová a aniontová výměnná místa (Kocabagli et al. 2002). Proto se mohou slučovat s kovovými ionty, oxidy a jílovými minerály za vzniku ve vodě rozpustných nebo nerozpustných komplexů a mohou interagovat s organickými sloučeninami, jako jsou alkeny, mastné kyseliny a pesticidy (Islam et al. 2005).

Prvně se začaly huminové látky využívat jako hnojiva pro rostliny (Esenbuga et al. 2008; Jađuttová et al. 2019). Jejich důležitou funkcí je regulace koloběhu uhlíku a dusíku v půdě (Canellas et al. 2015). Dnes se používají i jako doplňkové krmivo pro zvířata (Esenbuga et al. 2008; Jađuttová et al. 2019). Slouží jako součást substituční terapie při poruchách trávicího systému zvířat a prokázáno bylo i zlepšení rovnováhy elektrolytů a imunitní funkce (Esenbuga et al. 2008). Doplňky s humáty pomáhají snižovat negativní dopad některých nepříznivých faktorů životního prostředí (Bezuglova & Klímenko 2022).

Huminové látky působí na organismy specifickými a nespecifickými účinky. Mezi specifické účinky patří snížení produkce fotosyntetického kyslíku, estrogeničnost nebo chemická přitažlivost. Nespecifickými účinky jsou fyzikální a chemické dráždění membrán, indukce a modulace biotransformačních enzymů a indukce stresových obranných proteinů nebo obrany proti oxidativnímu stresu. Mohou být také vyvolány reakce programované buněčné smrti (Steinberg et al. 2008). Velmi důležitou funkcí huminových látek je silná afinita. Váží na sebe například těžké kovy, herbicidy, mutageny, aromatické sloučeniny, minerály nebo bakterie (Arafat et al. 2017).

### **3.4.1 Vlastnosti huminových látek**

Huminové látky jsou testovány v různých odvětvích jako je chov skotu, prasat, drůbeže, ryb a kožešinových zvířat. V současné době dochází ke zvyšování produktivity zemědělství a zejména užitkovosti hospodářských zvířat. Z toho důvodu se používají biologicky aktivní látky, včetně huminových přípravků, které aktivují trávicí a metabolické procesy v těle zvířete, podporují přeměnu živin krmiva, zvyšují produkci a přírůstky hmotnosti. Dále se vyznačují stimulačními a adaptogenními účinky na buněčné a subcelulární úrovni (Bezuglova & Klímenko 2022).

Huminové látky mají protizánětlivé, absorpční, antibakteriální (Bezuglova & Klimenko 2022), antidiabetické (Stepchenko et al. 2021), detoxikační (Arafat et al. 2017) a redoxní vlastnosti (Aeschbacher et al. 2012). Zlepšují imunitu, střevní mikrobiom a krevní parametry, podporují růst střevních klků a hloubku jejich krypt (Arif et al. 2019). Ve veterinární medicíně se používají pro své protiprůjmové, analgetické, imunostimulační a antimikrobiální účinky (Celik et al. 2008; Domínguez-Negrete et al. 2019). V některých výzkumech nedocházelo ke shodám v účincích huminových látek. To mohlo být způsobeno různým původem huminových látek, druhů drůbeže a technologií chovu zvířat v různých oblastech světa s odlišným se klimatem (Islam et al. 2005; Arafat et al. 2017).

Velkou výhodou huminových látek je, že jsou netoxické, neteratogenní a nejsou při jejich použití nutné ochranné lhůty (Rath et al. 2006; Ozturk et al. 2011). Z tohoto důvodu se často využívají jako alternativa k antibiotikům a růstovým stimulátorům ve výkrmu hospodářských zvířat (Islam et al. 2005; Nagaraju et al. 2014; Jađuttová et al. 2019; Mohammadsadeghi et al. 2019). Tyto látky totiž na zvíře působí komplexně, tím pádem dochází ke zvýšení jak obranyschopnosti, tak růstové výkonnosti (Jađuttová et al. 2019). Huminové látky se zvířatům podávají přimíchané ve vodě nebo v krmivu (Ozturk et al. 2011; De Lourdes Angeles et al. 2022).

#### 3.4.1.1 Vliv na růst a produkci

Huminové látky mají vysokou fyziologickou aktivitu, která se projevuje stimulací růstu a vývoje zvířat (Bezuglova & Klimenko 2022). Na zlepšení rychlosti růstu vlivem zlepšením konverze krmiva (Esenbuga et al. 2008) se ovšem neshodují všichni autoři. Například Kaya & Tuncer (2009) uvedli, že se konverze krmiva nemění a Ozturk et al. (2011) uvedli nižší konverzi krmiva při podání huminové látky ve vodě.

Huminové kyseliny zlepšují užítkovost a zdraví drůbeže (Arif et al. 2019). Především zlepšením stravitelnosti živin a udržováním správného složení střevního mikrobiomu je ovlivněna produktivita a růst zvířat (Arafat et al. 2017; Arif et al. 2019). Huminové kyseliny tedy stabilizují střevní mikrobiom a tím zajišťují lepší využití živin v krmivu, čímž zvyšují živou hmotnost zvířat bez zvýšení množství potravy přijaté zvířaty (Nagaraju et al. 2014). Také dochází ke zlepšení konverze krmiva (Arif et al. 2019).

#### 3.4.1.2 Vliv na střevní mikrobiom a klky

Huminové látky ovlivňují metabolismus sacharidů a bílkovin mikrobů a zároveň ničí patogenní viry a bakterie, což vede ke zlepšení růstové výkonnosti (Wang et al. 2008). Zároveň ovlivňují jen mikrobiální složení střev, ale také bachoru (AbuHafsa et al. 2021).

Huminové kyseliny hrají zásadní roli v ochraně střeva před infekcemi a příznivě ovlivňují jeho funkce (Kucukersan et al. 2005; Arif et al. 2019). Zvyšují počty prospěšných bakterií (Islam et al. 2005; Arif et al. 2019) a inhibují růst patogenních a zoonotických bakterií, jako je například *Escherichia coli* nebo *Salmonella* (Omidiwura et al. 2021). Zároveň tím dochází ke snížení množství toxických bakteriálních metabolitů jako je například amoniak a aminy (Celik et al. 2008). Dle Rath et al. 2006 je inhibice bakterií způsobena pufrací kapacitou huminové kyseliny ve střevě, čímž dochází k modulaci pH střeva. Důsledkem stabilizovaného

mikrobiomu je lepší využití živin krmiva a vyšší přírůstek, aniž by se zvýšilo množství krmiva (Islam et al. 2005; Celik et al. 2008; Arif et al. 2016).

Huminové kyseliny ovlivňují výšku klků a hloubku jejich ve střevě (Arafat et al. 2017). Růst klků závisí na toxických látkách, pH a mikrobiomu ve střevě. Tyto faktory jsou pozitivně ovlivněny huminovými kyselinami (Taklimi et al. 2012). Vyšší klky pak poskytují větší plochu pro absorpci živin (Omidiwura et al. 2021). Huminové kyseliny také pomáhají omezit nadměrné ztráty vody ve střevě (Arif et al. 2016).

#### 3.4.1.3 Vliv na stravitelnost

Stepchenko et al. (2021) prokázal, že huminové látky stimulují metabolické procesy a stravitelnost živin. Podporují zvýšené ukládání dusíku a aktivují vstřebávání vápníku, fosforu a některých dalších minerálních prvků. A to z toho důvodu, že huminové látky zlepšují průchod anorganických iontů střevní stěnou (Bezuglova & Klimenko 2022). Při přidání huminových látek se zvyšuje vstřebávání živin díky aktivaci trávicích enzymů ve všech místech trávicího kanálu (Stepchenko et al. 2021).

Podání huminové kyseliny zlepšuje stravitelnost bílkovin a vstřebávání aminokyselin. Zlepšení využití krmiva je způsobeno zvýšením hmoty střevních epitelárních buněk (Arif et al. 2016).

#### 3.4.1.4 Chelatační vlastnosti

Huminové látky mají vysokou chelatační schopnost (Bezuglova & Klimenko 2022). Zároveň zvyšují propustnost membrán, což umožňuje snadnější přenos minerálů z krve do kosti a buněk (Weber 2020). Schopnost chelatace je dána velkým počtem postranních řetězců karboxylových kyselin (Rath et al. 2006). Váží se na toxiny, včetně těžkých kovů, pesticidů, organofosfátů, insekticidů, radioaktivních částic a environmentálních karcinogenů, a odstraňují toxiny z těla, hlavně z jater a trávicího traktu (Kucukersan et al. 2005; Bezuglova & Klimenko 2022). Výsledkem je, že po podání klesají zbytky toxinů ve tkáních zvířat (AbuHafsa et al. 2021).

Huminové kyseliny jsou organické sloučeniny, které mohou vázat kationty kovů. Některé z funkčních skupin přítomných v huminových kyselinách mohou působit jako ligandy. S kovy tak tvoří velké množství komplexů. Do těchto vazeb může vstupovat nejen zinek, měď a další stopové prvky, ale také těžké kovy jako kadmium nebo olovo (Herzig et al. 2009). Ve své studii Herzig et al. (2009) uvedl, že po podání huminových kyselin došlo ke zvýšení koncentrace zinku ve tkáních. To je dle Skalická et al. (2021) způsobeno tím, že huminy chelatují extracelulární ionty některých prvků a předávají je buňkám. Dále může dojít ke zvýšení příjmu dusíku, fosforu a dalších živin díky svým chelatačním vlastnostem (Arafat et al. 2017). Také je ovlivněna koncentrace fosforu a vápníku v krvi (Rath et al. 2006).

#### 3.4.1.5 Redoxní vlastnosti

Huminové kyseliny mají silnou antioxidační aktivitu a chrání buňky před oxidačním poškozením a stresem indukci celkové antioxidační, katalázové a glutathionreduktázové aktivity (Arif et al. 2019). Antioxidační ochrana zahrnuje tři obranné linie. Antioxidační

enzymy patří do první řady. Je to superoxiddismutáza, glutathionperoxidáza, kataláza, metaloproteiny. Druhou řadu tvoří nízkomolekulární antioxidanty jako je glutathion, kyselina askorbová, tokoferol, karoteny. Třetí řada zahrnuje speciální DNA reparační enzymy, chaperonové proteiny, sirtuiny, fosfolipázy. Obráným procesem je také apoptóza, což je komplexní proces, který začíná v buňce s nevratným poškozením (Stepchenko et al. 2021).

Fenolové skupiny v huminových látkách, mají antioxidační vlastnosti. Zhášením reaktivních oxidantů mohou fenolové části chránit další funkční skupiny v huminových látkách před oxidací, a proto hrají důležitou roli ve stabilitě huminů v prostředí (Aeschbacher et al. 2012). Z tohoto důvodu lze přidávat huminové látky do krmiva, které pak bude lépe chráněno před oxidací (Celik et al. 2008).

#### 3.4.1.6 Vliv na imunitu

Huminové látky napomáhají rozvoji lymfocytů, které jsou nedílnou součástí obranyschopnosti organismu. Také zvyšují fagocytární aktivitu (Wang et al. 2008) a přispívají k léčbě rakoviny a prionových chorob (Weber 2020). Mechanismus účinku je takový, že tvoří komplexy se sacharidy, které umožňují tvorbu glykoproteinů. Ty mají schopnost se vázat na NK buňky a T lymfocyty. Tím je zprostředkována lepší mezibuněčná komunikace (Mudrňová et al. 2020).

Imunostimulační vlastnosti huminových kyselin byly zkoumány za účelem zvýšení imunity a následně zdravotního stavu zvířat (Arif et al. 2019). Působí protizánětlivě, například u přecitlivělosti na určitou látku potlačují nadměrnou imunitní odpověď (Islam et al. 2005). Byly zaznamenány také antivirové účinky, zejména proti rhinoviru (Nagaraju et al. 2014) a antimikrobiální účinky (Arif et al. 2019). Dále vykazují ochranné účinky proti poškození jater a podporují jejich funkci (Islam et al. 2005; Arif et al. 2019). Vlivem dostatečného množství kyslíku dochází u zvířat suplementovaných huminovými kyselinami k rychlejšímu hojení ran. Dochází také k nižší mortalitě (Islam et al. 2005). Vykazují také antimutagenní potenciál (Omidwura et al. 2021).

Huminové kyseliny snižují produkci stresových hormonů (Islam et al. 2005). Tím napomáhají zvyšovat adaptační schopnosti, čímž zlepšují imunitu zvířete (Arif et al. 2019; AbuHafsa et al. 2021).

#### 3.4.1.7 Vliv na krevní parametry

Suplementace huminových látek ovlivňuje počet bílých a červených krvinek, monocytů, lymfocytů a hodnoty hematokritu. Zlepšuje krevní parametry (Arafat et al. 2017). Zvyšují počty lymfocytů (Wang et al. 2008) a také červených krvinek (Arafat et al. 2017). Dále dochází ke zvýšení hladiny hemoglobinu, plazmatické koncentrace fosforu a stimulaci aktivity neutrofilů (Islam et al. 2005; Ozturk et al. 2011). Také se snížil cholesterol a LDL v séru (Ozturk et al. 2011; Arif et al. 2019).

#### 3.4.1.8 Další účinky

Přidáním huminových látek dochází ke snížení emisí a zápachu výkalů. Snižují vylučování dusíku, dusičnanů a amoniaku ve výkalech (AbuHafsa et al. 2021).

Suplementace huminových látek ovlivňuje barvu masa (Wang et al. 2008) a snižují obsah tuku v těle (Ozturk et al. 2011). A to tím, že ovlivňují distribuci proteinů a lipidů v těle (Wang et al. 2008). Snížený obsah intramuskulárního tuku může být způsoben zvýšeným metabolismem tuků v játrech (Lacková et al. 2022).

Huminové kyseliny inhibují růst plísní a tím snižují hladinu toxinů v těle. Díky makrokolidní struktuře huminových látek je sliznice střeva a žaludku chráněna a tím je snížena absorpce toxinů (Arif et al. 2019). Dochází tedy ke snížení inhibičních účinků aflatoxinu na růst. Zároveň chrání játra před jejich účinky a minimalizují zbytky aflatoxinů v játrech (Arafat et al. 2017).

### **3.4.2 Využití ve výživě zvířat**

#### **3.4.2.1 Drůbež**

Mezi vědci jsou značné rozpory v tom, jak působí huminové látky na kuřata. Islam et al. (2005) tvrdí, že je to způsobeno rozdílnými klimatickými podmínkami v místech pokusu, ale také různým původem huminových látek a kyselin.

Zlepšení přírůstku po přidání huminových látek do krmiva by dle Yörük et al. (2004) mělo být způsobeno jejich podpůrnými účinky na metabolické procesy trávení a využití živin. Se zlepšením přírůstku po suplementaci huminových látek nebo kyselin souhlasí také Kucukersan et al. (2005), Celik et al. (2008), Wang et al. (2008), Ozturk et al. (2011), Salah et al. (2015), Arif et al. (2016), Arafat et al. (2017), Jařuttová et al. (2019), Omidwura et al. (2021). Ti také tvrdí, že lze využít jako alternativu k růstovým stimulátorům. Omidwura et al. (2021) a Kocabagli et al. (2002) se shodují na tom, že zvýšený přírůstek hmotnosti podáním huminové kyseliny lze očekávat při suplementaci od 22. do 42. dne. Při suplementaci do 21. dne nedošlo ke zvýšení tělesné hmotnosti. V rozporu s předešlými autory jsou Karaoglu et al. (2004) a Kaya & Tuncer (2009), kteří uvedli, že přidání huminových látek do stravy brojlerových kuřat neovlivnilo jejich tělesnou hmotnost ani přírůstek hmotnosti. Ve výzkumech Rath et al. (2006) a Esenbuga et al. (2008) došlo i ke snížení hmotnosti.

Suplementací huminových látek se zlepšila konverze krmiva (Kocabagli a kol. 2002; Yörük et al. 2004; Rath et al. 2006; Nagaraju et al. 2014; Jařuttová et al. 2019). V experimentu Kucukerasan et al. (2005) dokonce došlo k poklesu spotřeby krmiva. Esenbuga et al. (2008) a Kaya & Tuncer (2009) došli ve svých výzkumech k závěru, že přidání huminové látky neovlivňuje konverzi krmiva. Nagaraju et al. (2014) uvádí, že spotřeba krmiva nebyla ovlivněna suplementací huminových kyselin, což je pozitivní, protože nedochází k ovlivnění chuti krmiva těmito látkami.

Omidwura et al. (2021) zjistili u suplementovaných kuřat vyšší a širší klky a širší krypty klků ve střevech. Mudrňová et al. (2020) ve svém výzkumu zjistili, že došlo ke snížení počtu Enterobacteriaceae a prokázali pozitivní vliv na střevní mikrobiotu.

Ve studiích Arif et al. (2016), Jařuttová et al. (2019) a Ozturk et al. (2011) bylo zjištěno, že se snížily hladiny celkového cholesterolu a LDL v krvi. Kaya & Tuncer (2009) nezjistili statisticky významný rozdíl v hladinách cholesterolu. Dále došlo ke snížení sérových koncentrací vápníku, hořčíku, železa a fosforu, což je způsobeno chelatačními účinky (Rath et al. 2006). Ve výzkumu Salah et al. (2015) bylo u kuřat pozorováno významné zvýšení

denních přírůstků hmotnosti, počtu leukocytů, lymfocytů, monocytů, fagocytózy, fagocytární index, celkových proteinů,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - globulinů.

Zlepšení imunitního vývoje brojlerů, může být způsobeno zlepšeným růstem imunitních orgánů, zejména brzlíku a Fabriciovy burzy, v důsledku suplementace huminových kyselin (Rath et al. 2006; Arif et al. 2019).

Snížená mortalita kuřat po podání huminových látek byla prokázána ve výzkumech (Karaoglu et al. 2004; Yörük et al. 2004). Dle Ozturk et al. 2011 neměla suplementace na mortalitu vliv.

Přidání huminových látek do stravy brojlerů zlepšilo parametry jatečně upraveného těla. Zvýšil se celkový výnos z jatečně upraveného těla a výtěžnost prsní i stehenní svaloviny (Esenbuga et al. 2008; Ozturk et al. 2011; Jaďuttová et al. 2019; Domínguez-Negrete et al. 2019). Ve výzkumech Kocabagli et al. (2002), Kaya & Tuncer (2009), Nagaraju et al. (2014) a Arif et al. (2016) nebyl po suplementaci zjištěn žádný rozdíl ve výtěžnosti masa u brojlerů. Ve výzkum Ozturk et al. (2011) došlo nárůstem hemových barviv ve svalech ke ztmavnutí stehenních svalů. Tento nárůst byl způsoben zvýšeným obsahem železa v důsledku podání huminových látek. Také došlo ke zvýšení obsahu vápníku a hořčíku v prsních a stehenních svalech (Skalická et al. 2021).

Jaďuttová et al. (2019) pozorovali při suplementaci huminovými látkami zvýšení vápníku a snížení fosforu v kostech brojlerů.

Vliv suplementace huminových látek na nosnice studovali Yörük et al. (2004) a Kucukerasan et al. (2005). V obou studiích byla zjištěna vyšší produkce vajec po suplementaci. Ta neměla vliv na kvalitu ani hmotnost vajec. Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v tloušťce skořápky, pevnosti skořápky, indexu žloutku ani indexu bílku.

#### 3.4.2.2 Skot

Bezuglova & Klimenko (2022) uvádí, že po přidání huminových látek do krmiva krav se zvýšila hladina hemoglobinu a erytrocytů. Vyšší byla i hladina albuminů a gamaglobulinů, což zlepšilo imunitní reakce organismu. Zvýšila se i alkalická rezerva, což umožnilo zjistit, že dochází k aktivaci metabolických procesů v tělech krav. Celková bílkovina v krevním séru, která odráží zásobení živinami a makroživinami také vzrostla. Experiment tedy prokázal zvýšení denní dojivosti. Jako jejich další účinek je uváděna rychlejší obnova reprodukčního systému po porodu a tím zvýšená míra zabřezávání. Huminové kyseliny také váží dusík, čímž snižují emise amoniaku z výkrmů skotu (AbuHafsa et al. 2021).

V experimentu Kholif et al. (2021) bylo zjištěno, že při obohacení krmiva laktujících krav o huminové látky došlo k lepšímu využití živin krmiva a dojivosti, ke změně bacherové fermentace a zlepšil se i profil mastných kyselin v bacheru. Ačkoliv nebyl ovlivněn příjem krmiva, došlo ke zlepšení stravitelnosti sušiny, organické hmoty, nestrukturálních sacharidů a neutrální detergentní vlákniny. Zvýšila se také hladiny octové kyseliny v bacheru, snížilo se pH a změnilo se mikrobiální osazení bacheru. Došlo také ke snížení močoviny a cholesterolu v krevním séru. Huminové látky tak mají pozitivní vliv na využití krmiva, laktaci i nutriční hodnotu mléka (zvyšují obsah tuku) a zároveň neovlivňují negativně dojnice.

Islam et al. (2005) ve své práci zmiňují zvýšení hmotnosti telat narozených dojnícím, kterým byl podáván přípravek s huminovými kyselinami. Dále také Gerlach et al. (2014) zjistili, že huminové kyseliny neutralizují neurotoxiny u chronického botulismu.

#### 3.4.2.3 Prasata

Suplementace stravy huminovými látkami může zlepšit růstovou výkonnost, koncentraci lymfocytů a kvalitu masa u výkrmových prasat (Wang et al. 2008). Dle McGlone et al. (2006) přispívá ke snížení vylučování čpavku z hnoje.

#### 3.4.2.4 Králíci

Ve studii AbuHafsa et al. (2021) byl při suplementaci 10 g/kg krmiva zaznamenán vliv na trávení, růstovou výkonnost, koncentraci cholesterolu v krvi a fermentační aktivitu ve slepém střevě. Konečná hmotnost a denní přírůstek byli u suplementovaných králíků výrazně vyšší než u králíků, kteří nebyli krmeni huminovými látkami. Dále byla zaznamenána lepší konverze a nižší příjem krmiva. Zvýšila se jak konečná hmotnost králíků, tak i kvalita jatečně upraveného těla. Po podání huminové kyseliny došlo ke snížení pH slepého střeva a snížila se i produkce amoniaku. Dále došlo ke snížení obsahu cholesterolu v krevním séru. Zároveň bylo prokázáno, že nedošlo k negativnímu ovlivnění zdraví. V experimentu Lacková et al. (2022) došlo ke shodě s výsledky AbuHafsa et al. (2021). Dále také Lacková et al. (2022) zjistili snížení intramuskulárního tuku v těle králíků a zvýšené hodnoty vápníku a fosforu v krevním séru. Dalším závěrem bylo, že huminové látky jsou účinnější, pokud jsou podávány s rostlinnými tuky.

#### 3.4.2.5 Ryby

Humát se doporučuje i jako doplněk krmiva pro ryby. Napomáhá zvýšení přírůstku hmotnosti a snížení morbidity. Po přidání humátu do oplodňovacího média došlo ke zvýšení procenta oplodnění (Bezuglova & Klimenko 2022).



## 4 Metodika

### 4.1 Analyzovaný materiál

V experimentu byly analyzovány vzorky považované za odpad pocházející z výroby tekutých ochucovadel. Tyto vzorky byly vyrobeny kyselou hydrolyzou rostlinných materiálů, ke které byla použita kyselina chlorovodíková. Kyselé pH roztoku bylo neutralizováno přidáním uhličitanu sodného. Následně byl materiál přefiltrován a došlo k oddělení neutralizovaného produktu od hydrolyzovaného.

V pokusu byl stanoven obsah sušiny, hrubého proteinu, aminokyselin, chloridů, huminových kyselin a fulvokyselin. Dále byl stanoven obsah popelovin v huminových kyselinách a fulvokyselinách. Analýzy byly prováděny u každého vzorku dvakrát, z důvodu zamezení vzniku nesprávných výsledků. Výsledkem analýzy se pak stal aritmetický průměr zjištěných hodnot z obou analýz.

#### 4.1.1 Stanovení sušiny

Sušina byla stanovena vysušením předem zváženého vzorku tekutého ochucovadla. Vzorek vážící 5 gramů byl umístěn do hliníkové misky, ta byla předem zvážena a její hmotnost byla zaznamenána. Vážení bylo provedeno na analytických vahách s přesností na 0,0001 gramu. Miska se vzorkem byla vložena do vysoušecí pece, jejíž teplota byla nastavena na 103 °C. Vysoušení probíhalo 6 hodin. Poté byla miska umístěna do exikátoru, kde vychladla. Dalším krokem bylo vážení misky se vzorkem. Sušina pak byla stanovena pomocí níže uvedeného vzorce a její obsah byl zaznamenán v procentech.

$$\text{Obsah sušiny (\%)} = \frac{\text{hmotnost misky se vzorkem po vysušení (g)} - \text{hmotnost prázdné misky (g)}}{\text{hmotnost navážky (g)}} \times 100$$

#### 4.1.2 Stanovení hrubého proteinu

Hrubý protein byl stanoven dle metody Kjeldahla, která byla provedena ve třech krocích, kterými byly mineralizace, destilace a titrace. Byly provedeny tři kroky, a to navážení materiálu, mineralizace a analýza. V předem zvážené navažovací lodičce byl navážen vzorek o hmotnosti 0,5 g na analytických vahách. Vzorek byl umístěn do mineralizační tuby a smíchán s 10 ml 33% roztoku peroxidu vodíku a 10 ml 96% roztoku kyseliny sírové a byla přidána mineralizační tableta Kjeltabs. Vzorek se poté po dobu 45 minut mineralizoval při teplotě 420 °C. Dusík ze vzorku se přeměnil na síran amonný. Následně byla provedena destilace. Na přístroji Kjeltec 2400 (Foss) byla provedena analýza formou titrace, kterou byl síran amonný přeměněn na amoniak, kvůli čemuž bylo možné stanovit obsah dusíkatých látek, který byl na přístroji uváděn v procentech.

#### 4.1.3 Stanovení aminokyselin

Stanovení aminokyselin bylo provedeno pomocí kyselé hydrolyzy a následně byly analyzovány na přístroji AAA 400 (Ingos). Filtrace byla provedena pomocí filtračního papíru se střední rychlostí průtoku do odparné baňky o objemu 1000 ml. Stěny původní nádoby byly

několikrát vymyty destilovanou vodou pro odstranění případných zbytků a došlo k druhé filtraci. Výsledný vzorek z obou filtrací byl odpařen ve vakuové odparce při 60 °C za vzniku roztoku sirupovité konzistence. Roztok byl naředěn 50 ml ředícího pufru a pro vychladnutí byl umístěn do lednice. Následně bylo možné v analyzátoru změřit aminokyselinové složení vzorku. Přístroj AAA 400 oddělil aminokyseliny pomocí katexové chromatografie a po derivatizaci ninhydrinem byly stanoveny jednotlivé aminokyseliny fotometrickou detekcí při vlnové délce 570 nm.

Obsah sirných aminokyselin byl detekován pouze v programu a metodě vyhodnocení kyselé hydrolyzy. Důvodem je fakt, že v průběhu kyselé hydrolyzy, a tedy i výroby ochucovadel, se obsah sirných aminokyselin výrazně snižuje a degraduje, a proto bylo stanovení pro oxidační hydrolyzu považováno za bezpředmětné.

#### 4.1.4 Stanovení chloridů a sodíku

Pro stanovení chloridů a sodíku byl navážen vzorek o hmotnosti 0,5 g do předem zvážené misky. Následně byl smíchán s 40 ml destilované vody za pomoci orbitální třepačky, byl promícháván 10 minut. Poté byl vzorek odstředěn při 5500 rpm. Získaný supernatant byl přelit do titrační baňky a jeho pH bylo upraveno na hodnotu 8-8,5 pomocí 0,1M hydroxidu sodného nebo 0,1M kyseliny sírové. Poté byl supernatant smíchán s 1 ml 5% roztoku chromanu draselného. Tento roztok byl titrován do vzniku červenohnědé sraženiny. Obdobný proces byl znovu proveden se slepým vzorkem tvořeným 40 ml destilované vody.

Procentuální obsah chloridů byl zjištěn pomocí níže uvedeného vzorce, kde hodnota VE představuje množství roztoku chromanu draselného potřebného pro titraci a hodnota VS představuje spotřebované množství chromanu draselného při slepém stanovení. Hodnota m je hmotnost vzorku.

$$\text{Obsah chloridů (\%)} = \frac{(VE - VS) \times c \times 35,45 \times 0,1}{m}$$

Obsah sodíku ve vzorcích byl odvozen výpočtem z výsledku předchozího vzorce, jelikož se předpokládalo, že je sodík vázaný na chlor v podobě chloridu sodného. Výsledkem se tedy stal součin obsahu chloridů a hodnoty 0,6485.

#### 4.1.5 Stanovení huminových frakcí

Na začátku stanovení huminových frakcí byl na analytické váze na předem zvážené lodičce navážen vzorek o hmotnosti 1 gram. Ten byl následně umístěn do falkonky o objemu 50 ml. Ke každému vzorku bylo přidáno 25 ml demineralizované vody. Poté byly falkonky se vzorky umístěny na 15 minut do rotační míchačky. Následně byly falkonky s roztokem umístěny do centrifugy, kde byly odstředovány při 3500 rpm po dobu 15 minut. Roztok ve falkonkách byl při odstředění oddělen na pelet a supernatant. Supernatant byl odstraněn a k peletu bylo přidáno 25 ml 0,1M hydroxidu sodného. Vzniklý roztok byl promícháván v orbitální třepačce po dobu 24 hodin při 250 otáčkách za pokojových podmínek.

Roztok byl odstředěn v centrifuze po dobu 15 minut při 3500 rpm. Supernatant se přelil do další falkonky a pelet byl naředěn 25 ml hydroxidu sodného a opět se nechal třepat 24 hodin při 250 otáčkách. Dále byl odstředěn a supernatant se sloučil s předchozím. Supernatant byl

okyselen pomocí 37% kyseliny chlorovodíkové na hodnotu pH 1,6. Původní pH supernatantu se pohybovalo kolem hodnoty 12. Měření pH se provádělo pH metrem. Vzniklý roztok se nechal stát po dobu dvou dní v lednici. V roztoku došlo k oddělení 2 frakcí, a to huminové kyseliny a fulvokyseliny. V horní části byly fulvokyseliny, které měly žlutou barvu a ve spodní části se nacházely huminové kyseliny ve formě tmavé gelovité hmoty.

Huminové kyseliny byly ze vzorku odsáty pomocí pipety a následně byl roztok umístěn do předem zváženého keramického kelímku. Do kelímků byly přelity i fulvokyseliny. Kelímky byly následně umístěny do vysoušecí pece, kde probíhalo vysoušení po dobu 8 hodin při teplotě 70 °C a poté po dobu 4 hodin při teplotě 103 °C. Po vysušení byl kelímek přemístěn do exikátoru, kde zchladl a následně byl zvážen. Obsah huminových kyseliny a fulvokyselin v procentech byl zjištěn podle níže uvedeného vzorce.

$$\text{Obsah fulvokyselin (\%)} = (\text{hmotnost po vysušení (g)} - \text{hmotnost po spálení (g)}) \times 100$$

Posledním krokem bylo spálení vzorku v muflové peci, kde byl při 550 °C ponechán po dobu 4 hodin. Po spálení byl opět umístěn do exikátoru a následně byl zvážen. Obsah popelovin v procentech byl stanoven jako rozdíl hmotností vzorku po vysušení a po spálení vynásobený stem.

## 4.2 Statistické vyhodnocení

Výsledky pokusu byly statisticky zhodnoceny pomocí programu Statistica 12 (Statsoft). Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí základních popisných statistických metod, kdy byl zjišťován průměr, směrodatná odchylka a variační koeficient. Dále byla použita analýza rozptylu ANOVA a následně post-hoc test Tukeyovou metodou. Byla použita standardní hladina průkaznosti pro biologické vědy, to je 0,05. Pro grafickou vizualizaci výsledků byly použity boxploty.

## 5 Výsledky

Po rozboru zbytků z výroby tekutých ochucovadel byly provedeny statistické analýzy 32 vzorků. Složení zbytků bylo zaznamenáno do tabulek a grafů. Podrobné složení zbytků z výroby tekutých ochucovadel je popisuje Tabulka 1 a Tabulka 2.

Nejvíce testovaných vzorků obsahovala skupina TRKH. Nejméně vzorků bylo ve skupině TLHB a TRH.

Tabulka 1 Průměrný, minimální a maximální obsah složek ve zbytcích tekutých ochucovadel, jejich variační koeficient a směrodatná odchylka

Obsah v (%)	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
HK v sušině 100%	12,49	4,54	22,27	4,46	35,69
FK v sušině 100%	9,14	4,8	14,53	2,49	27,21
Hrubý protein	29,93	19,04	37,04	5,56	18,57
Popeloviny HK	11,97	4,34	22,91	4,33	36,16
Popeloviny FK	5,38	2,71	7,38	0,83	15,4
chloridy	11,38	6,38	17,53	2,54	22,31

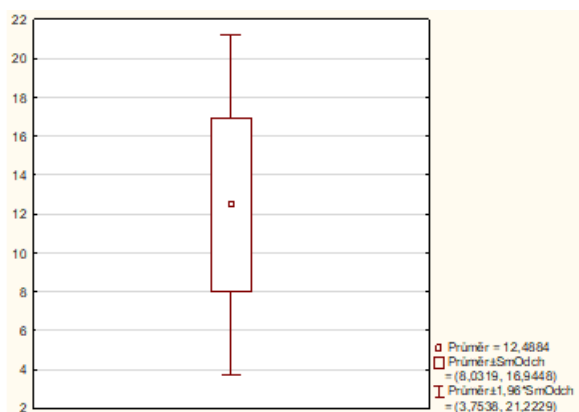
Tabulka 2 Průměrný obsah složek v jednotlivých skupinách tekutých ochucovadel;  $p = ,00000$ ; žlutě byly vyznačeny nejvyšší obsahy a modře obsahy nejnižší

Skupina	N	obsah HK v sušině (%)	obsah FK v sušině (%)	Hrubý protein (%)	Popeloviny HK (%)	Popeloviny FK (%)	chloridy (%)
TKHB	4	19,45	12,46	31,69	18,91	5,19	11,12
TSHB	5	9,15	7,21	22,47	8,58	4,88	10,07
TLHB	2	17,39	12,62	26,59	16,11	6,07	14,95
TSLK	3	14,82	10,45	32,91	14,06	6,11	13,98
TSH	5	7,81	6,67	28,49	7,53	5,31	12,02
TRKH	11	13,33	9,63	35,06	12,88	5,43	10,87
TRH	2	5,57	5,35	19,34	5,37	5,08	8,84

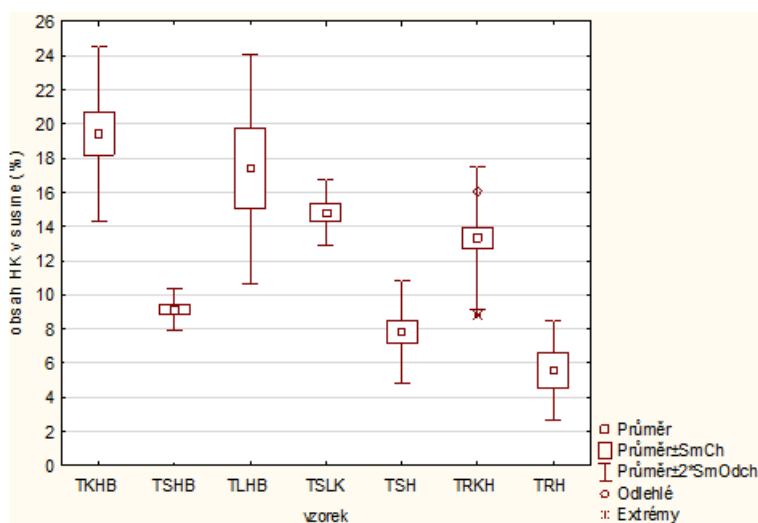
Nejnižší průměrné hodnoty byly ve všech analýzách zjištěny u skupiny zbytků tekutých ochucovadel TRH s výjimkou obsahu popelovin ve fulvokyselinách. Jejich nejnižší průměrné hodnoty byly detekovány ve vzorku TSHB.

### 5.1 Stanovení obsahu huminových kyselin

Průměrně obsahovaly skupiny zbytků z výroby tekutých ochucovadel 12,49 % huminových látek, to lze vidět v Grafu 1. Nejvyšší obsah huminových kyselin (19,45 %) byl zjištěn ve skupině zbytků tekutých ochucovadel TKHB. Nadprůměrné hodnoty huminových kyselin byly rovněž zjištěny ve skupinách TLHB, TSLK a TRKH. Nejnižší obsah byl zaznamenán u skupiny TRH (5,57 %). Průměrné obsahy huminových kyselin v jednotlivých zbytcích jsou graficky znázorněny v Grafu 2, přičemž statisticky významné rozdíly v jejich obsahu zobrazuje Tabulka 3.



Graf 1 Obsah huminových kyselin ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %



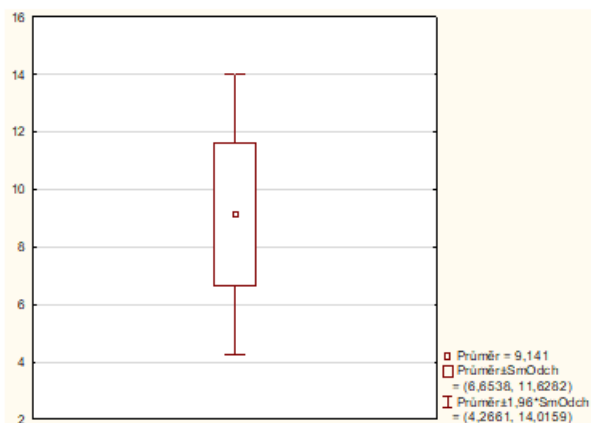
Graf 2 Obsah huminových kyselin v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100 %

Tabulka 3 Statistické vyhodnocení rozdílů mezi obsahy huminových kyselin v jednotlivých skupinách zbytků; Tukeyův HSDtest; proměnnou byl obsah huminových kyselin v %;  $P_C = 3,5566$ ;  $\alpha = 0,05$ ; červené hodnoty jsou statisticky významné

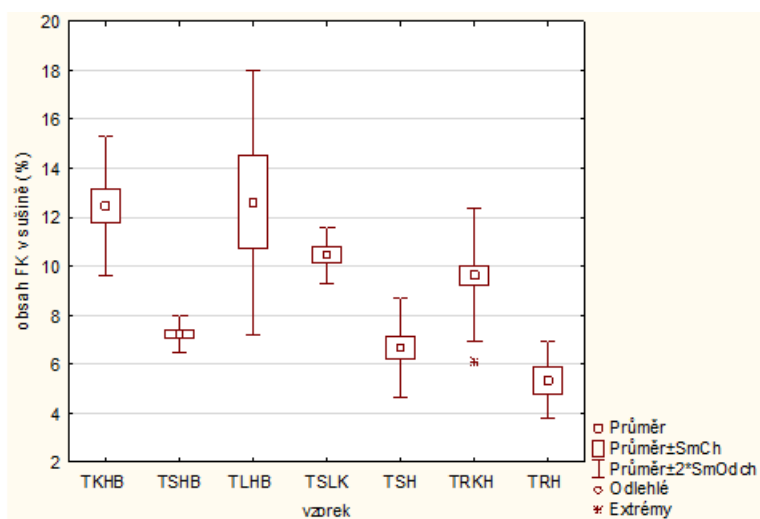
vzorek	(1) 19,447	(2) 9,1458	(3) 17,390	(4) 14,818	(5) 7,8116	(6) 13,333	(7) 5,5744
TKHB		0,000142	0,863504	0,048656	0,000142	0,000283	0,000142
TSHB	0,000142		0,000502	0,005961	0,916417	0,005990	0,299820
TLHB	0,863504	0,000502		0,745712	0,000176	0,115482	0,000161
TSLK	0,048656	0,005961	0,745712		0,000649	0,884121	0,000378
TSH	0,000142	0,916417	0,000176	0,000649		0,000345	0,787368
TRKH	0,000283	0,005990	0,115482	0,884121	0,000345		0,000389
TRH	0,000142	0,299820	0,000161	0,000378	0,787368	0,000389	

## 5.2 Stanovení obsahu fulvokyselin

Nejvyšší průměrný obsah fulvokyselin (12,62 %) byl zaznamenán ve skupině zbytků tekutých ochucovadel TLHB. Vysoké hodnoty byly i u skupin TKHB, TSLK a TRKH. Naopak velmi nízké průměrné hodnoty byly zaznamenány u vzorku TRH (5,35 %). Průměrně byl ve skupinách naměřen obsah 9,14 %, jak je zobrazeno v Grafu 3. Obsah fulvokyselin v jednotlivých skupinách vzorků znázorňuje Graf 4. Statisticky významné rozdíly v jejich obsazích lze vyčíst z Tabulky 4.



Graf 3 Obsah fulvokyselin ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %



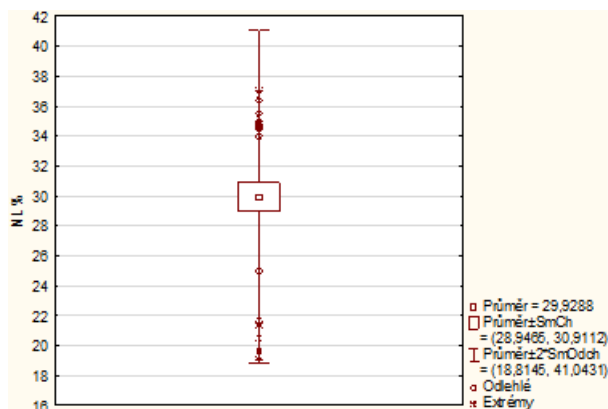
Graf 4 Obsah fulvokyselin v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100%

Tabulka 4 Statistické vyhodnocení rozdílů mezi obsahy fulvokyselin v jednotlivých skupinách zbytků; Tukeyův HSD test; proměnnou byl obsah fulvokyselin v %;  $PC\check{=} 1,5044$ ;  $\alpha = 0,05$ ; červené hodnoty jsou statisticky významné

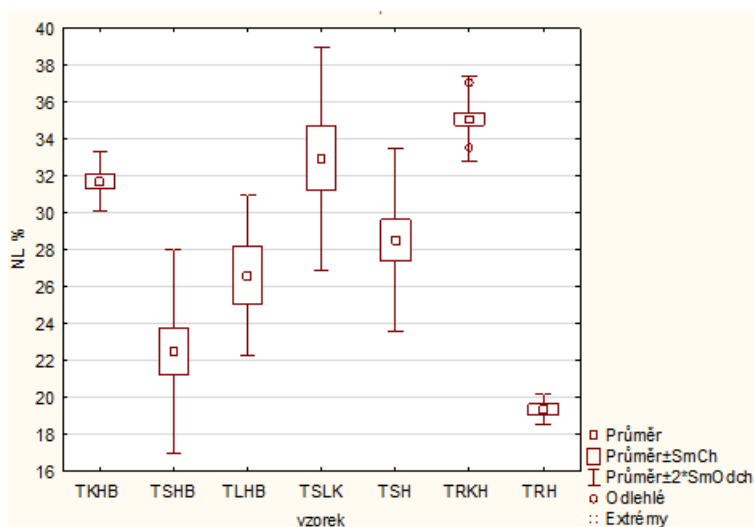
vzorek	(1) 12,464	(2) 7,2133	(3) 12,623	(4) 10,452	(5) 6,6681	(6) 9,6321	(7) 5,3475
TKHB		0,000156	0,999999	0,357117	0,000144	0,008831	0,000147
TSHB	0,000156		0,000458	0,019662	0,991255	0,017859	0,548876
TLHB	0,999999	0,000458		0,475034	0,000213	0,053246	0,000192
TSLK	0,357117	0,019662	0,475034		0,004622	0,943057	0,002085
TSH	0,000144	0,991255	0,000213	0,004622		0,002505	0,851474
TRKH	0,008831	0,017859	0,053246	0,943057	0,002505		0,002156
TRH	0,000147	0,548876	0,000192	0,002085	0,851474	0,002156	

### 5.3 Stanovení obsahu hrubého proteinu

Hrubého proteinu obsahovala průměrně nejvíce skupina TRKH (35,1 %). Průměrný obsah hrubého proteinu byl 29,93 %. Rozsah obsahu hrubého proteinu zobrazuje Graf 5. Vyšší hodnoty hrubého proteinu byly dále zaznamenány u skupin TSLK a TKHB. Ve skupině TRH byly zaznamenány nejnižší průměrné hodnoty hrubého proteinu, a to 19,34 %. Obsah hrubého proteinu ve všech skupinách vzorků byl znázorněn v Grafu 6.



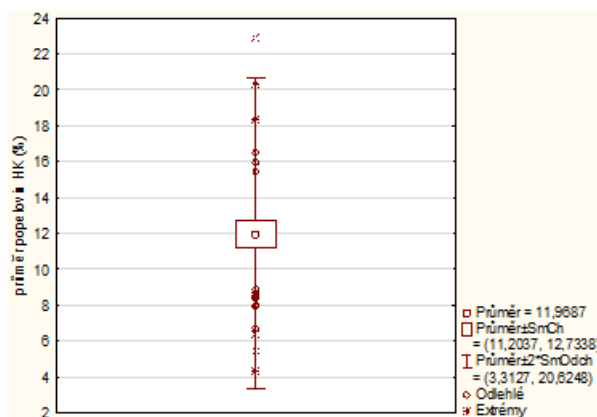
Graf 5 Obsah hrubého proteinu ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %



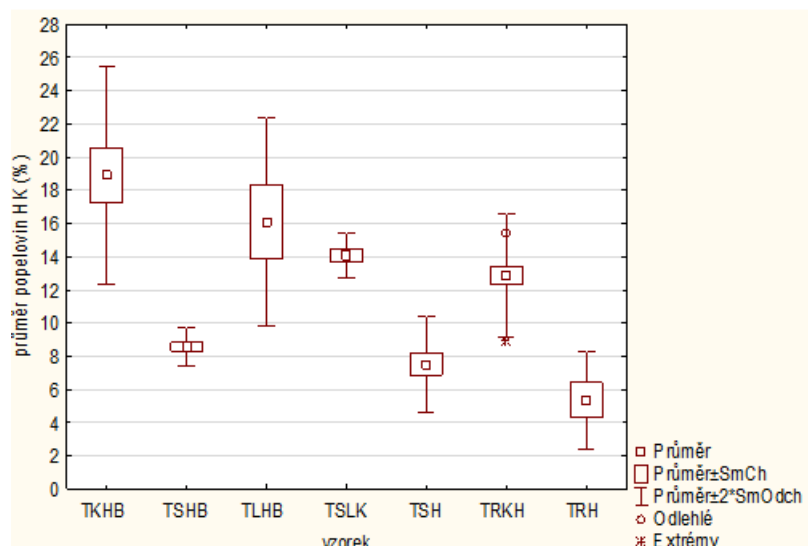
Graf 6 Obsah hrubého proteinu v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100 %

## 5.4 Stanovení obsahu popelovin

Nejvyšší průměrný obsah popelovin ve vzorku huminových kyselin (18,91 %) byl detekován ve skupině TKHB. Rovněž byly zjištěny vysoké hodnoty popelovin u vzorku TLHB, TSLK a TRKH. Průměrná hodnota obsahu popelovin byla 11,97 %, viz Graf 7. Nejnižší průměrný obsah popelovin v huminových kyselinách (5,37 %) byl zaznamenán ve skupině TRH. Obsahy popelovin huminových kyselin vizualizuje Graf 8.

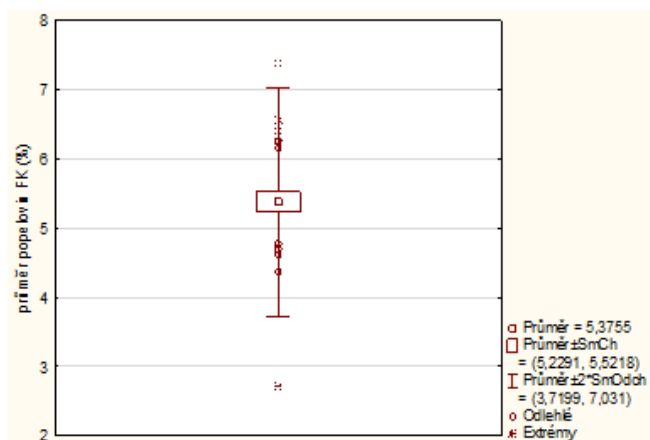


Graf 7 Obsah popelovin v huminových kyselinách ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %



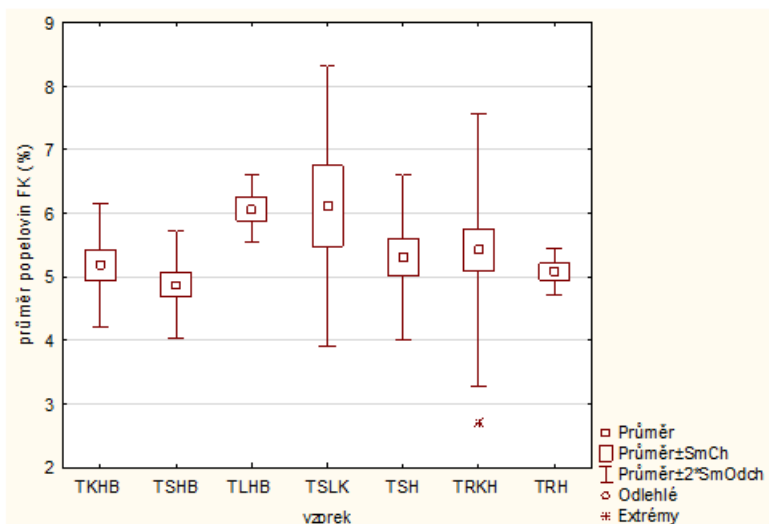
Obrázek 8 Grafické znázornění obsahu popelovin v huminových kyselinách v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100 %

Průměrný obsah popelovin ve vzorku fulvokyselin (6,11 %) byl nejvyšší ve skupině TSLK. Hodnoty přesahující průměrný obsah byly zaznamenány ve skupinách TLHB a TRKH. Naopak nejnižší průměrná hodnota (4,88 %) byla detekována ve skupině TSHB. Průměrný obsah byl 5,38 %, to je pomocí boxplotu znázorněno v Grafu 9. Popeloviny fulvokyselin obsažené v jednotlivých skupinách vzorků jsou zobrazeny v Grafu 10.



Graf 9 Obsah popelovin ve fulvokyselinách ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %

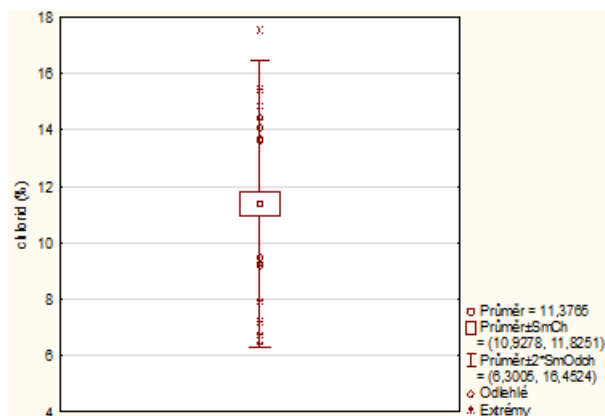




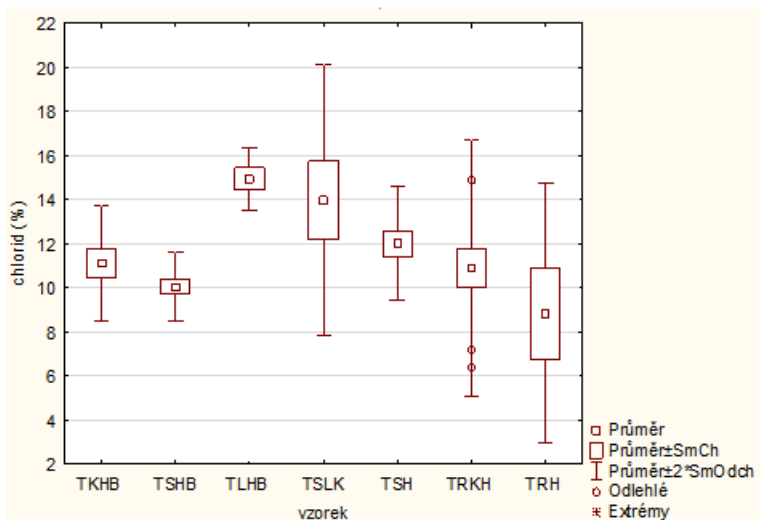
Graf 10 Obsah popelovin ve fulvokyselinách v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100 %

## 5.5 Stanovení obsahu chloridů

Nejvyšší průměrný obsah chloridů (14,95 %) byl zaznamenán ve skupině TLHB. Průměr přesahoval obsah chloridů ve skupinách TSLK a TSH. Ve skupině TRH byl naměřen nejnižší průměrný obsah, který měl hodnotu 8,84 %. Nízký obsah chloridů je pro použití ve výkrmu kuřat důležitý z důvodu možné otravy vysokým množstvím chloru. Obsah chloridů všech vzorců a v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel vizualizují boxploty v Grafu 11 a v Grafu 12.



Graf 11 Obsah chloridů ve všech vzorcích tekutých ochucovadel při sušině 100 %



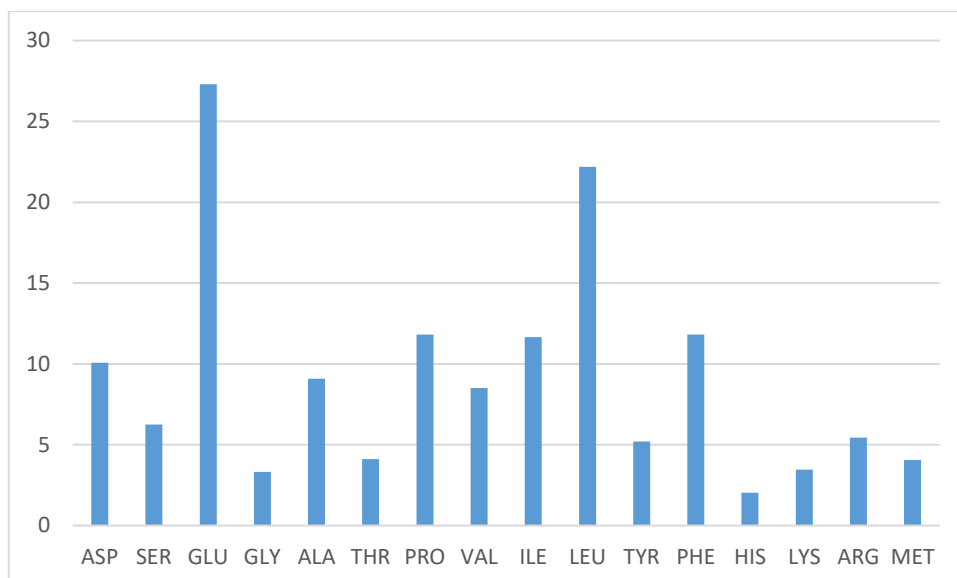
Graf 12 Obsah chloridů v jednotlivých skupinách vzorků tekutých ochucovadel při sušině 100 %

## 5.6 Stanovení obsahů aminokyselin

Průměrné obsahy jednotlivých aminokyselin v g/kg vzorku zbytků z výroby tekutých ochucovadel zobrazuje Tabulka 5 a graficky je znázorňuje Graf 13. Při kyselé hydrolyze byly zničeny aminokyseliny tryptofan a cystein, zároveň došlo k výraznému snížení obsahu metioninu. Nejvyšší průměrný obsah měla aminokyselina glutamin (27,29 g/kg) a nejnižší průměrný obsah měla aminokyselina glycin (3,32 g/kg).

Tabulka 5 Základní statistické údaje o obsahu jednotlivých aminokyselin ve všech vzorcích tekutých ochucovadel v g/kg; žlutě byly znázorněny nejvyšší obsahy; modře byly znázorněny nejnižší obsahy

Aminokyselina	Průměr	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
Asparagin	10,08	3,19	19,7	3,28	32,42
Serin	6,26	1,52	14,37	2,69	42,96
Glutamin	27,29	7,42	88,13	16,43	60,2
Glycin	3,32	0,7	9,56	1,84	55,36
Alanin	9,08	1,83	18,26	4,93	54,33
Treonin	4,1	1,52	7,12	1,29	31,39
Prolin	11,81	3,53	37,38	7,94	67,22
Valin	8,51	2,38	13,67	3,55	41,7
Izoleucin	11,66	2,34	19,53	5,86	50,28
Leucin	22,18	4,74	40,8	10,75	48,45
Tyrosin	5,2	1,56	9,56	1,82	35,12
Fenylalanin	11,81	3,76	19,81	4,29	36,33
Histidin	2,02	0,82	5,12	0,98	48,19
Lysin	3,46	1,27	8,01	1,42	40,85
Arginin	5,45	1,78	11,11	2,24	41,07
Metionin	4,05	0,2	8,4	2,43	59,92



Graf 13 Obsah jednotlivých aminokyselin ve všech vzorcích zbytků z výroby tekutých ochucovadel

Průměrný obsah vybraných aminokyselin důležitých ve výkrmu brojlerových kuřat zobrazuje Tabulka 6 s výjimkou metioninu jehož průměrný obsah v jednotlivých skupinách zobrazuje Tabulka 7, protože byl po kyselé hydrolyze zachován pouze ve 22 vzorcích. Jejich obsahy byly vizualizovány pomocí krabicových grafů v Grafu 14. Obsahy v jednotlivých skupinách vzorků byly znázorněny Grafem 15.

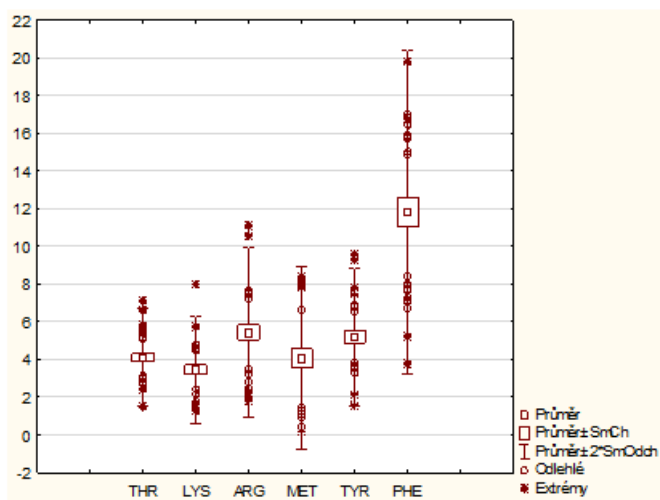
Nejvyšší obsah treoninu, tyrosinu a fenylalaninu byly detekovány ve skupině vzorků TLHB (6,16 g/kg; 8,68 g/kg; 17,78 g/kg). Nadprůměrné obsahy byly odhaleny i ve skupinách TKHB, TSLK a TRKH. Naopak nejnižší obsahy byly ve skupině TSHB (3 g/kg; 3,71 g/kg; 7,32 g/kg). Nejvyšší obsah lysinu (4,94 g/kg) byl zaznamenán ve skupině TSH a jeho nejnižší obsah (1,66 g/kg) byl detekován ve skupině TKHB. Vysoké obsahy byly rovněž ve skupinách TLHB, TSLK a TSH. Arginin měl nejvyšší obsah (8,89 g/kg) ve skupině TLHB. Dále ho bylo vysoké množství ve skupinách TSHB, TSLK a TSH. Nejméně (2,62 g/kg) ho bylo obsaženo ve skupině TKHB. Nejvyšší množství metioninu bylo detekováno ve skupině TKHB (7,73 g/kg), nadprůměrné hodnoty byly zaznamenány i ve skupině TRKH. Nejméně metioninu (0,44 g/kg) bylo ve skupině TSH.

Tabulka 6 Průměrný obsah vybraných aminokyselin v jednotlivých vzorcích zbytků z výroby tekutých ochucovadel; žlutě byly znázorněny nejvyšší obsahy; modře byly znázorněny nejnižší obsahy

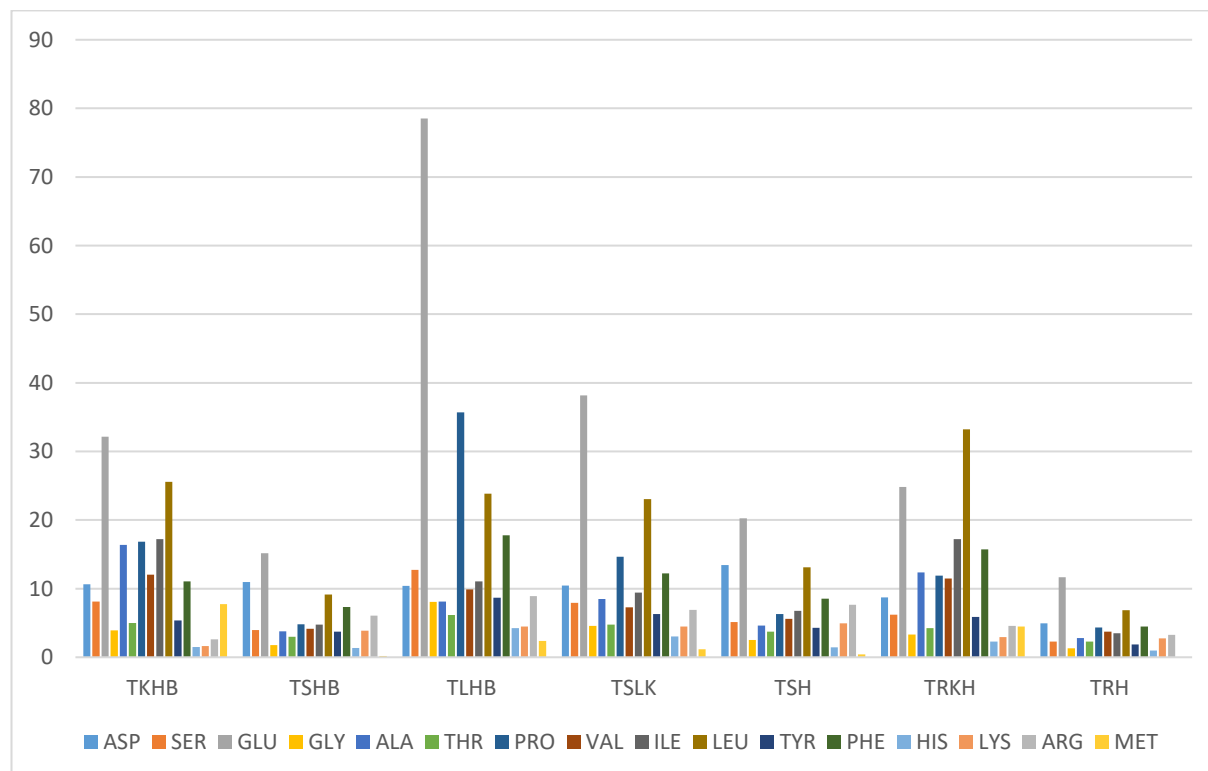
Vzorek	počet	Treonin	Tyrosin	Fenylalanin	Lysin	Arginin
TKHB	4	4,99	5,37	11,06	1,66	2,62
TSHB	5	3	3,71	7,32	3,86	6,07
TLHB	2	6,16	8,68	17,78	4,47	8,89
TSLK	3	4,74	6,32	12,22	4,48	6,91
TSH	5	3,72	4,28	8,56	4,94	7,64
TRKH	11	4,24	5,89	15,72	2,94	4,56

Tabulka 7 Průměrný obsah metioninu v jednotlivých vzorcích zbytků z výroby tekutých ochucovadel; žlutě byl znázorněn nejvyšší obsah; modře byl znázorněn nejnižší obsah

Vzorek	počet	Metionin
TKHB	4	7,73
TSHB	1	0,2
TLHB	2	2,38
TSLK	3	1,19
TSH	1	0,44
TRKH	11	4,47



Graf 14 Obsah vybraných aminokyselin ve všech vzorcích tekutých ochucovadel



Graf 15 Obsah vybraných aminokyselin v jednotlivých vzorcích zbytků z výroby tekutých ochucovadel

## 6 Diskuze

V diplomové práci byly zkoumány obsahy huminových kyselin, fulvokyselin, proteinu, popelovin, chloridů a aminokyselin ve zbytcích z výroby tekutých ochucovadel, které byly rostlinného původu. K rozboru bylo využito 32 vzorků neznámého složení. Rozdělení bylo provedeno dle skupin uvedených výrobcem.

### 6.1 Obsah huminových kyselin a fulvokyselin

Zbytky z výroby tekutých ochucovadel jsou používány pro svůj vysoký obsah huminových kyselin a fulvokyselin, které mají blahodárné účinky na zdraví a produkci zvířat. Z hlediska obsahu huminových kyselin a fulvokyselin by byla nejlepší volbou skupina TKHB, která jich obsahovala 19,45 % a 12,46 % (Tabulka 1). Dále byly jejich vysoké obsahy zaznamenány u skupiny TLHB a TSLK. Proto by pro výkrm bylo nejvhodnější použít skupiny TLHB, TSLK a TKHB, které byly se svým obsahem huminových kyselin a fulvokyselin výrazně nad průměrem (Tabulka 2).

### 6.2 Obsah hrubého proteinu

Zbytky z výroby tekutých ochucovadel obsahují velké množství živin a mají velmi prospěšné účinky na zdraví a produkci, proto je lze použít jako kvalitní doplněk do krmné dávky hospodářských zvířat. Chen et al. (2016) uvádí, že ve zbytcích z výroby tekutých ochucovadel lze nalézt 20–30 % bílkoviny, 10 % sacharidů a 7–18 % lipidů, což koresponduje s výsledky našeho rozboru. Průměrný obsah hrubého proteinu byl 29,93 % (Tabulka 1), přičemž nejnižší obsah byl zaznamenán ve skupině TRH (19,34 %) a nejvyšší ve skupině TRKH (35,06 %). Z hlediska obsahu hrubého proteinu by se jako nejlepší pro zlepšení přírůstku a produkce jevíly skupiny TRKH, TSLK a TKHB, které obsahovaly průměrně nad 30 % hrubého proteinu (Tabulka 2). Vzhledem k vyššímu obsahu proteinů je tedy možné považovat zbytky z výroby tekutých ochucovadel za levný zdroj proteinů (Xu et al. 2022).

### 6.3 Obsah aminokyselin

Tekutá ochucovadla jsou nejčastěji vyráběna kyselou hydrolyzou, jelikož je to nejlevnější způsob výroby. Při tomto procesu však dochází k úplné destrukci tryptofanu a částečné ztrátě methioninu a cystinu (Hou et al. 2017). Tyto výsledky z výzkumu Hou et al. (2017) byly zjištěny i v našich analýzách, ve kterých zároveň došlo s výjimkou jednoho vzorku k úplné destrukci cysteinu. Výhodou kyselé hydrolyzy je, že jsou ve zbytcích k dispozici ne celé proteiny, které by musely být dále štěpeny, ale již hydrolyzované aminokyseliny. Ty jsou pak zvířetem mnohem lépe stráveny a dochází k nižším ztrátám a vyšší využitelnosti (Selle et al. 2022).

Průměrný obsah jednotlivých aminokyselin ve všech vzorcích v g/kg uvádí Tabulka 5. Nejvyšší obsah měl glutamin, 27,29 g/kg. Vysoký obsah byl zaznamenán i u leucinu, 22,18 g/kg. Obsah nad 10 g/kg byl zaznamenán i u asparaginu, prolinu, izoleucinu a fenylalaninu. To lze vyčíst z Tabulky 6.

Obsah limitující aminokyseliny lysinu byl pouze 3,46 g/kg. Jeho nejvyšší obsah byl zaznamenán u skupiny TSH (4,94 g/kg) a dále pak u skupin TSLK a TLHB. Lysin je hojně zastoupen v prsní svalovině kuřat (7 %) a s jeho nedostatkem klesá jatečná výtěžnost kuřat (Dozier et al. 2008). Limitující aminokyselina methionin byla kvůli částečné degradaci při kyselé hydrolyze zastoupena pouze ve 22 vzorcích z 32 a její průměrný obsah byl 4,05 g/kg, přičemž nejvyšší obsah byl ve skupině TKHB (7,73 g/kg) a vyšší obsah byl zaznamenán i ve skupině TRKH (4,47 g/kg). To lze považovat za poměrně pozitivní výsledek, jelikož v bílkovinných krmivech bývá obvyklý obsah methioninu 6 g/kg. Bylo by tak možné zbytky tekutých ochucovadel jeho množství v krmivech výrazně doplnit.

Dle Wu (2009) je arginin významnou anabolickou kyselinou a jeho působením dochází k produkci oxidu dusného a detoxikaci amoniaku. V analýze byl zjištěn jeho průměrný obsah 5,45 g/kg. Nejvíce byl zastoupen ve skupině TLHB, kde měl průměrný obsah 8,89 g/kg. Vyšší obsahy byly detekovány také ve skupinách TSHB, TSLK a TSH.

Fenylalanin měl průměrný obsah ve všech skupinách 11,81 g/kg. Přičemž nejvíce ho obsahovala skupina TLHB (17,78 g/kg) a dále skupiny TRKH, TSLK a TKHB. Tyrosin, jehož syntéza v těle je podporována fenylalaninem (Wu 2009) byl nejvíce zastoupen ve skupině TLHB (8,68 g/kg). Vyšší obsahy byly detekovány i ve skupinách TSLK, TRKH a TKHB. Průměrný obsah pak byl 5,2 g/kg.

Průměrný obsah treoninu ve všech skupinách byl 4,1 g/kg a nejvyšší obsah měl ve skupině TLHB (6,16 g/kg). Ve vyšším množství byl zastoupen i ve skupinách TSLK, TRKH a TKHB. Dle Dozier et al. (2008) bylo prokázáno, že treonin, methionin a lysin spolu interagují a způsobují zvýšenou syntézu proteinů a optimalizaci přírůstku svaloviny. Proto, ačkoliv jsou jejich jednotlivé obsahy nižší, lze předpokládat, že při spolupůsobení již nebudou množství zanedbatelná. Například jednoduchým výpočtem pomocí trojčlenky lze zjistit, že při obvyklém dávkování od 0,5 po 10 g zbytků z výroby tekutých ochucovadel na 1 kg krmné směsi, které obsahují průměrné 3,46 g lysinu, by kuřata získala ze zbytků zhruba 0,00173–0,0346 g lysinu v 1 kg krmné směsi.

Z výsledků analýz vyplývá, že co se obsahů aminokyselin týče, by bylo nejvhodnější použít skupinu zbytků z výroby tekutých ochucovadel TLHB nebo skupinu TSLK.

## 6.4 Obsah chloridů

Nagai et al. (2002) uvádí, že limitem pro využití zbytků z výroby tekutých ochucovadel je chlorid sodný, kterého je ve zbytcích z výroby tekutých ochucovadel zhruba 20 % (Hou et al. 2017). Respektive limitem při použití je obsah chloridů. Během naší analýzy byl zjištěn průměrný obsah chloridů 11,38 % (Tabulka 1). Nejvyšší obsah chloridů byl zaznamenán ve skupině TLHB (14,95 %). Nejnižší obsah byl detekován ve skupině TRH (8,84 %), dále pak ve skupině TRKH a TSHB (Tabulka 2). Chlorid sodný vzniká při kyselé hydrolyze, která je prováděna pomocí kyseliny chlorovodíkové a následně je hydrolyzát neutralizován pomocí hydroxidu sodného. Kyselinou chlorovodíkovou je do zbytku vnesen chlor a hydroxidem sodným, nebo uhličitánem sodným, sodík (Luh 1995; Pánek et al. 2014; Hou et al. 2017; Simon et al. 2020). Z hlediska nízkého obsahu chloridů by bylo nejvhodnější použít skupinu TRH.

Jelikož je dávkování zbytků limitováno obsahem chloridů, bylo by vhodné se zamyslet nad možným dávkováním. Průměrně obsahují zbytky z našich analýz 11,38 % chloridů, což je 113,8 g v 1 kg zbytků. Dle Zelenka et al. (2007) je možné kuřeti dávkovat, nezávisle na věku, 1,6–2,2 g chloridu. Pokud se toto vezme v úvahu tak by bylo možné dávkovat 14,06–19,33 g zbytků do 1 kg krmné směsi. Zde není vzat v úvahu obsah chloridu v krmné směsi pro kuřata, ale lze říct, že by bylo možné dávkování dle studií uvedených níže.

## 6.5 Příjem zbytků

Barva a chuť materiálu jsou způsobeny převážně Maillardovou reakcí (Pánek et al. 2014). Chutnost tekutých ochucovadel je ovlivněna hlavně přítomností proteinových hydrolyzátů vzniklých při kyselé hydrolýze, ty fungují jako zvýrazňovače chuti. Takovou funkci plní především kyselina glutamová a její soli (Hou et al. 2017). Proto lze předpokládat, že ačkoliv mají zbytky z výroby tekutých ochucovadel hnědou barvu, jsou pro zvířata, především savce, díky své chuti atraktivním krmivem. Otázkou zůstává, jak velký vliv má chuť na příjem krmiva u drůbeže, když je kuřaty krmivo vybíráno převážně podle barvy.

## 6.6 Vliv huminových látek

Rozdíly ve výsledcích jednotlivých studií mohou být dány formou huminové látky, která je pro zvířata použita. Ve studiích pro výkrm brojlerových kuřat bylo do směsi používáno 0,5–10 g huminových látek na 1 kg směsi. Jaduttová et al. (2019) používali 8 a 10 g/kg, přičemž pozitivní výsledek na růstové parametry byl zaznamenán u přídávku 10 g. Vyššího přírůstku hmotnosti při použití nižšího dávkování, a to do 3 g, bylo dosaženo ve studiích Ozturk et al. (2011), Domínguez-Negrete et al. (2019) a Nagaraju et al. (2014). Stejněho výsledku také dosáhli Arif et al. (2016) a Omidiwura et al. (2021), kteří podávali huminové kyseliny. Kocabagli et al. (2002) zjistili vyšší přírůstek kuřat po podání 2,5 g huminových látek ve věku 22 až 42 dní. V neshodě s předchozími výsledky byla studie Rath et al. (2006), kteří zjistili, že přírůstek huminových kyselin zpomaluje růst. Podobných výsledků dosáhli i Esenbuga et al. (2008), kteří při přídávku huminových látek 1 až 3 g/kg nepřišli na žádné ovlivnění hmotnosti a výtěžnosti.

Mudrňová et al. (2020) zjistili nejlepší imunologické odpovědi u přídávku 8 g huminových látek do 1 kg směsi. Další pozitivní účinek na zdraví zvířete, a to zlepšením morfologie střeva, byl po podání 2,5 g/kg zjištěn ve studii Mohammadsadeghi et al. (2019). Zaznamenány byly i ochranné účinky organismu před volnými radikály při aplikaci 1 % ve studii Stepchenko et al. (2021). Lze předpokládat, že jejich potvrzení pozitivních výsledků až při vyšším dávkování mohlo být způsobeno aplikací huminových látek do vody, kdy nedochází k rozpuštění všech frakcí, které tak zvíře nemusí přijmout.

Pozitivní efekt huminových látek byl zaznamenán i u dalších kategorií hospodářských zvířat. Kucukersan et al. (2007) přidávali 0,3 a 0,6 g huminových kyselin do krmiva nosnic, čímž došlo ke zvýšení produkce vajec. Stejněho výsledku dosáhli Yörük et al. (2004) při přídávku 1 a 2 g. Wang et al. (2008) přidávali do krmiva prasat 5 až 10 % huminových látek. Přičemž tloušťka hřbetního tuku byla snížena u obou dávkování a přírůstek a mramorování masa byly zvýšeny při přídávku 10 %. AbuHafsa et al. (2021) využívali ve výkrmu králíků

5 a 10 g huminových kyselin na 1 kg krmné směsi po dobu 70 dnů. Výsledkem byla vyšší hmotnost na konci výkrmu i denní přírůstek a lepší konverze krmiva. Kholif et al. (2021) přidávali do krmiva pro každou dojnici 20 nebo 40 g huminových látek. Suplementací byla lineárně zvýšena produkce mléka a obsah tuku a energie.

## 6.7 Zhodnocení výsledků

Z výsledků lze předpokládat, že pozitivní účinky zbytků z výroby tekutých ochucovadel jsou způsobeny huminovými kyselinami, fulvokyselinami, ale i vysokým obsahem dusíkatých látek a volných aminokyselin. Proto je možné potvrdit hypotézu, která uvádí, že zbytky z výroby tekutých ochucovadel mohou doplnit a zlepšit nutriční hodnotu krmiv a tím zajistit vyšší užitkovost.

Ačkoliv v některých studiích byly použity pouze huminové kyseliny, domnívám se, že kvůli synergistickým účinkům huminových kyselin a fulvokyselin je lepší použít jejich směs. Ideální by však bylo použít zbytky z výroby tekutých ochucovadel, protože kromě těchto látek obsahují i vyšší množství proteinů. Zároveň by se jejich využitím spotřebovaly odpady z výroby, což by bylo pozitivní jak z ekonomického, tak z ekologického hlediska.

Dle mého názoru lze z výsledků obsahů huminových kyselin, fulvokyselin, hrubého proteinu, jednotlivých aminokyselin a chloridů předpokládat, že nejvyšších účinků by bylo dosaženo se skupinou zbytků z výroby tekutých ochucovadel TSLK. Její využití by však bylo více limitováno vyšším obsahem chloridů. Vhodná by tak byla i skupina TRKH, u které byl obsah chloridů nižší, a tak by její nižší obsahy mohly být kompenzovány vyšším dávkováním. Problémem ovšem je vysoká variabilita obsahů živin v jednotlivých skupinách zbytků z výroby tekutých ochucovadel. Proto by při komerčním použití bylo více než vhodné upravit zbytky na jednotnou hodnotu obsahu deklarovaných živin, především chloridů, lysinu a methioninu.



## 7 Závěr

- V této diplomové práci, která se zabývala možnostmi využití zbytků z výroby tekutých ochucovadel jako krmného aditiva pro hospodářská zvířata a jejich nutričním složením byla potvrzena stanovená hypotéza. Zbytky mohou být významným zdrojem živin, který doplní složení krmné směsi. Obsahují vyšší množství prospěšných látek jako jsou huminové kyseliny a fulvokyseliny a zároveň i dostatek hydrolyzovaných proteinů a volných aminokyselin. Dalším důvodem využívání zbytků je stoupající tlak na využití druhotných produktů potravinářské výroby při krmení zvířat a tím lze zmírnit zátěž životního prostředí.
- Analyzované zbytky byly rostlinného původu a byly rozděleny do sedmi skupin dle původu. Z výsledků analýz obsahů huminových kyselin, fulvokyselin, hrubého proteinu, jednotlivých aminokyselin a chloridů lze předpokládat, že průměrné nejlepší složení měla skupina zbytků z výroby tekutých ochucovadel TSLK, dále pak skupina TRKH, která obsahovala nižší procento chloridů, ale i ostatních živin. V obsazích živin byly mezi jednotlivými skupinami statisticky významné rozdíly. To by mohl být problém při komerčním použití, kdy by muselo dojít k úpravě na jednotnou hodnotu obsahu chloru, lysinu a methioninu.
- Limitujícím faktorem pro použití zbytků ve výkrmu kuřat je obsah chloridů, které kuřata mohou přijmout jen v omezeném množství, aby nedošlo k intoxikaci. Tento faktor by ovšem nelimitoval množství přídatku zbytků pro jiná hospodářská zvířata.
- Lepší příjem krmiva by mohl být způsoben vysokým obsahem kyseliny glutamové a jejích solí ve zbytcích. Tento faktor ovšem usnadní příjem u jiných druhů hospodářských zvířat, jelikož kuřata vybírají krmivo především podle optického vjemu. Z tohoto důvodu by bylo vhodné provést experiment zabývající se chuťovými preferencemi ostatních hospodářských zvířat.
- V dalších výzkumech byl často potvrzen pozitivní vliv huminových látek, které jsou obsaženy ve zbytcích. Přispívají k vyšším přírůstkům, lepší konverzi krmiva, nižšímu obsahu cholesterolu v krevním séru, nižší mortalitě mláďat a vyšší konečné hmotnosti.

## 8 Literatura

- AbuHafsa SH, Hassan AA, Sabek A, Elghandour MMY, Barbabosa-Pliego A, Alqaisi O, Salem AZM. 2021. Extracted and Characterized Humic Substances as Feed Supplement in Rabbit Feeding: Effects on Performance, Blood Metabolites and Caecal Fermentation Activity. *Waste and Biomass Valorization* **12**:5471-5479.
- Aeschbacher M, Graf C, Schwarzenbach RP, Sander M. 2012. Antioxidant Properties of Humic Substances. *Environmental Science & Technology* **46**:4916-4925.
- Aggrey SE, Karnuah AB, Sebastian B, Anthony NB. 2010. Genetic properties of feed efficiency parameters in meat-type chickens. *Genetics Selection Evolution* **42**: 25 DOI:10.1186/1297-9686-42-25.
- Almquist HJ. 1954. Utilization of Amino Acids by Chicks. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **52**:197-202.
- Applegate J, Angel R. 2014. Nutrient requirements of poultry publication: History and need for an update. *Journal of Applied Poultry Research* **23**:567-575.
- Arafat RY, Khan SH, Naveed S. 2017. Evaluation of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Annals of Animal Science* **17**:241-255.
- Arif M, Alagawany M, Abd El-Hack ME, Saeed M, Arain MA, Elnesr SS. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. *Iranian Journal of Veterinary Research* **20**:167-172.
- Arif M, Rehman A, Saeed M, El-Hack MEA, Arain MA, Haseebarshad M, Zakria HM, Abbasi IH. 2016. Impacts of dietary humic acid supplementation on growth performance, some blood metabolites and carcass traits of broiler chicks. *Indian Journal of Animal Sciences* **86**:1073-1078.
- Aviagen. 2009. Technologický postup pro výkrm brojlerů Ross. Available from [http://en.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Czech\\_TechDocs/CZECH-Broiler-for-CDsmall.pdf](http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Czech_TechDocs/CZECH-Broiler-for-CDsmall.pdf) (accessed November 2022).
- Baker DH. 2008. Advances in protein–amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids* **37**:29-41.
- Bezuglova O, Klimenko A. 2022. Application of Humic Substances in Agricultural Industry. *Agronomy* (584) DOI: 10.3390/agronomy12030584.
- Boekholt HA, VanDer Grinten P, Schreurs VV, Los MJ, Leffering CP. 1994. Effect of dietary energy restriction on retention of protein, fat and energy in broiler chickens. *Br Poult Sci* **35**:603–614. DOI: 10.1080/00071669408417725.
- Canellas LP, Olivares FL, Aguiar NO, Jones DL, Nebbiosoc A, Mazzei P, Piccolo A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**:15-27.
- Celik K, Uzatici A, Akin AE. 2008. Effects of Dietary Humic Acid and *Saccharomyces cerevisiae* on Performance and Biochemical Parameters of Broiler Chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* **3**:344-350.

- Cibulka J, Fučíková A, Härtlová H, Jílek F, Lánská V, Sedmíková M. 2004. Základy fyziologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Cremades A, Ruzafa C, Monserrat F, López-Contreras AJ, Peñafiel R. 2004. Influence of dietary arginine on the anabolic effects of androgens. *Journal of Endocrinology* **183**:343-351.
- Česká národní rada. 2008. Zákona na ochranu zvířat proti týrání 246/1992 Sb. Page 6614 in *Sbírka zákonů České republiky, 2008, částka 133, Česká republika*.
- De Lourdes Angeles M, Gómez-Rosales S, Téllez-Isaias G. 2022. Mechanisms of Action of Humic Substances as Growth Promoters in Animals. Pages 1-24 in Abdelhadi M, editor. *Humus and Humic Substances – Recent Advances*. IntechOpen, London. DOI:10.5772/intechopen.105956
- Domínguez-Negrete A, Gómez-Rosales S, Lourdes Angeles M, López-Hernández LH, Reis-de Souza TC, López-García Y, Zavala-Franco A, Téllez-Isaias G. 2019. Effect of the Addition of Humic Substances as Growth Promoter in Broiler Chickens Under Two Feeding Regimens. *Animals* **9** (1101) DOI: 10.3390/ani9121101.
- Dozier WA, Kidd MT, Corzo A. 2008. Dietary Amino Acid Responses of Broiler Chickens. *Journal of Applied Poultry Research* **17**:157-167.
- Esenbuga N, Macit M, Karaoglu M, Aksu MI, Bilgin OC. 2008. Effects of dietary humate supplementation to broilers on performance, slaughter, carcass and meat colour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **88**:1201-1207.
- Eugenio FA, VanMilgen J, Duperray J, Sergheraert R, LeFloc'h N. 2022. Feeding intact proteins, peptides, or free amino acids to monogastric farm animals. *Amino Acids* **54**: 157–168.
- Fancher BI. 2014. What is the Upper Limit to Commercially Relevant Body Weight in Modern Broilers? Aviagen, Huntsville. Available from [https://aviagenadmin.com/Top\\_Five/hosted/What\\_is\\_the\\_Upper\\_Limit\\_to\\_Commercially\\_Relevant\\_Body\\_Weight\\_in\\_Modern\\_Broilers\\_B\\_Fancher\\_01282014.pdf](https://aviagenadmin.com/Top_Five/hosted/What_is_the_Upper_Limit_to_Commercially_Relevant_Body_Weight_in_Modern_Broilers_B_Fancher_01282014.pdf) (accessed October 2022).
- Fleming EC, Fisher C, McAdam J. 2007. Genetic progress in broiler traits – implications for body composition. Aviagen, United Kingdom. *Proceedings of the British Society of Animal Science* 67. DOI: 10.1017/S1752756200019700.
- Gerlach H, Gerlach A, Schrödl W, Schottdorf B, Haufe S. 2014. Oral application of charcoal and humic acids to dairy cows influences clostridium botulinum blood serum antibody level and glyphosate excretion in urine. *Journal of Clinical Toxicology* **4**: 186. DOI: 10.4172/2161-0495.186.
- Glatz P, Pym R. 2013. Poultry housing and management in developing countries. *Poultry Development Review* 24-28 (i3531e) <https://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf>.
- Glatz P. 2013. Housing and management of broilers. *Poultry Development Review* 37-38 (i3531e) <https://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf>.

- Glatz P. 2013. Incubation and hatching. *Poultry Development Review* 29-31 (i3531e) <https://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf>.
- Herzig I, Navrátilová M, Totušek J, Suchý P, Večerek V, Blahová J, Zralý Z. 2009. The effect of humic acid on zinc accumulation in chicken broiler tissues. *Czech Journal of Animal Science* **54**:121-127.
- Hou Y, Wu Z, Dai Z, Wang G, Wu G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **8**: 24 DOI 10.1186/s40104-017-0153-9.
- Chen X, Luo Y, Qi B, Luo J, Wan Y. 2016. Improving the hydrolysis efficiency of soy sauce residue using ultrasonic probe-assisted enzymolysis technology. *Ultrasonics Sonochemistry* **35**:351-358.
- Islam KMS, Schuhmacher A, Gropp JM. 2005. Humic Acid Substances in Animal Agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition* **4**:126-134.
- Jad'uttová I, Marcinčáková D, Bartkovský M, Semjon B, Harčarová M, Nagyová A, Váczi P, Marcinčák S. 2019. Effect of dietary humic substances on fattening performance, carcass yield, biochemical blood parameters and bone mineral profile of broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno* **88**:307-313.
- Karaoglu M, Macit M, Esenbuga N, Durdag H, Turgut L, Bilgin ÖC. 2004. Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance, slaughter and carcass traits of broilers. *International Journal of Poultry Science* **3**:406-410.
- Kaya CA, Tuncer SD. 2009. The effects of humates on fattening performance, carcass quality and some blood parameters of broilers. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **8**:281-284.
- Kholif AE, Matloup OH, El-Bltagy EA, Olafadehan OA, Sallam SMA, El-Zaiat HM. 2021. Humic substances in the diet of lactating cows enhanced feed utilization, altered ruminal fermentation, and improved milk yield and fatty acid profile. *Livestock Science* **253** (104699) DOI: 10.1016/j.livsci.2021.104699.
- Kidd MT, Tillman PB. 2016. Key principles concerning dietary amino acid responses in broilers. *Animal Feed Science and Technology* **221**:314-322.
- Kim JS, Lee YS. 2007. A study of chemical characteristics of soy sauce and mixed soy sauce: chemical characteristics of soy sauce. *European Food Research and Technology* **227**:933-944.
- Klasing KC. 2005. Poultry Nutrition: A Comparative Approach. *Journal of Applied Poultry Research* **14**:426-436.
- Kocabağlı N, Alp M, Acar N, Kahraman R. 2002. The Effects of Dietary Humate Supplementation on Broiler Growth and Carcass Yield. *Poultry Science* **81**:227-230.
- Kucukersan S, Kucukersan K, Colpan I, Goncuoglu E, Reisli Z, Yesilbag D. 2005. The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. *Veterinární Medicína* **50**:406-410.

- Kurková M, Klika Z, Kliková Ch, Havel J. 2004 Humic acids from oxidized coals I. Elemental composition, titration curves, heavy metals in HA samples, nuclear magnetic resonance spectra of HAs and infrared spectroscopy. *Chemosphere* **54**:1237-1245.
- Lacková Z, Zigo F, Farkašová Z, Ondrašovičová S. 2022. The Effect of Humic Substances as an Organic Supplement on the Fattening Performance, Quality of Meat, and Selected Biochemical Parameters of Rabbits. *Life* (1016) DOI:10.3390/life12071016.
- Lallés JP, Bosi P, Janczyk P, Koopmans SJ, Torrallardona D. 2008. Impact of bioactive substances on the gastrointestinal tract and performance of weaned piglets: a review. *Animal* **3**:1625-1643.
- Li J, Zhang M, Feng X, Ding T, Zhao Y, Sun C, Zhou S, He J, Wang C. 2022. Characterization of fragrant compounds in different types of high-salt liquid-state fermentation soy sauce from China. *LWT* (113993) DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113993.
- Luh BS. 1995. Industrial production of soy sauce. *Journal of industrial Microbiology* **14**:467-471.
- MacCarthy P. (2001). *The Principles of Humic Substances*. *Soil Science* **166**:738-751.
- Macelline SP, Chrystal PV, Liu YS, Selle PH. 2021. The Dynamic Conversion of Dietary Protein and Amino Acids into Chicken-Meat Protein. *Animals* (2288) DOI 10.3390/ani11082288.
- Maynard CW, Kidd MT, Chrystal PV, McQuade LR, McInerney BV, Selle PH, Liu SY. 2022. Assessment of limiting dietary amino acids in broiler chickens offered reduced crude protein diets. *Animal Nutrition* **10**:1-11.
- McGlone JJ, Ji F, Kim SW. 2006. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. *Journal of Animal Science* **84**:2482-2490.
- Mohammadsadeghia F, Afsharmanesha M, Ebrahimnejad H. 2019. The substitution of humic material complex with mineral premix in diet and interaction of that with probiotic on performance, intestinal morphology and microflora of chickens. *Livestock Science* **228**:1-4.
- Molín R, Pánek J, Miyahara M. 2014. Bílkovinné hydrolyzáty v potravinách. *Vitana Food Ingredients*. Available from [http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI\\_HYDROLYZATY\\_CZ.pdf](http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI_HYDROLYZATY_CZ.pdf) (accessed december 2019).
- Mudroňová D, Karaffová V, Pešulová T, Koščová J, Cingel'ová Maruščáková I, Bartkovský M, Marcincáková D, Ševčíková Z, Marcincák S. 2020. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. *Food and Agricultural Immunology* **31**:137-149.
- Nagai H, Kobayashi M, Tsuji Y, Nakashimada Y, Kakizono T, Nishio N. 2002. Biological and chemical treatment of solid waste from soy sauce manufacture. *Water Science and Technology* **45**:335-338.

- Nagaraju R, Reddy BSV, Gloridoss R, Suresh BN, Ramesh C. 2014. Effect of dietary supplementation of humic acids on performance of broilers. *Indian Journal of Animal Sciences* **84**:447-452.
- Omidwura BRO, Agboola AF, Emeruwa OM, Awofodu OO. 2021. Effect of humic acid supplementation on growth response, gut morphology and microbial load in broiler chickens. *Slovak Journal of Animal Science* **54**:176-185.
- Ozturk E, Ocak N, Turan A, Erener G, Altop A, Cankaya S. 2011. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **92**:59-65.
- Pánek J, Raa TG, Kouřimská L, Molín R, Potuček T. 2014. Bílkovinné hydrolyzáty (HVP) – kvalita a bezpečnost. *Vitana food Ingredients*. Available from [http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI\\_HVP\\_CZ.pdf](http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI_HVP_CZ.pdf) (accessed December 2019).
- Pesti GM. 2009. Impact of dietary amino acid and crude protein levels in broiler feeds on biological performance. *Journal of Applied Poultry Research* **18**:477-486.
- Piccolo A. 2002. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy* **75**:57-134.
- Rada Evropské unie. 1998 Směrnice Rady 98/58/ES ze dne 20. července 1998 o ochraně zvířat chovaných pro hospodářské účely. Pages 23-27 in *Úřední věstník Evropské unie* L221. Strasbourg.
- Rath NC, Huff WE, Huff GR. 2006. Effects of Humic Acid on Broiler Chickens. *Poultry Science* **85**:410-414.
- Ravindran V. 2013. Poultry feed availability and nutrition in developing countries. *Poultry Development Review* 60–63 (i3531e) <https://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf>.
- Reece OW. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada Publishing a.s., Praha.
- Sadarman, Irawan A, Ridla M, Jayanegara A, Nahrowi, Ridwan R, Sofyan A, Herdian H, Darma ING, Wahyono T, Febrina D, Harahap RP, Nurfitriani RA, Adli DN. 2022. Influence of ensiling and tannins addition on rumen degradation kinetics of soy sauce residues. *Advance Animal and Veterinary Science* **10**:270-276.
- Salah H, Mansour E, Reham RR, El-Hamid ESA. 2015. Study on the Effect of Humic Acid on Growth Performance, Immunological, Some Blood Parameters and Control Intestinal Closterdium in Broiler Chickens. *Zagazig Veterinary Journal* **43**:102-109.
- Sassi S, Wan-Mohtar WAAQI, Jamaludin NS, Ilham Z. 2021. Recent progress and advances in soy sauce production technologies: A review. *Journal of Food Processing and Preservation* (e15799) DOI:10.1111/jfpp.15799.
- Selle PH, Macelline SP, Chrystal PV, Liu SY. 2022. The Impact of Digestive Dynamics on the Bioequivalence of Amino Acids in Broiler Chickens. *Frontiers of Bioscience (Landmark Ed)* **27** (126) DOI: 10.31083/j.fbl2704126.

- Simon CD, Eichelsheim C, Mumm R, Hall RD. 2020. Chemical and Sensory Characteristics of Soy Sauce: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **68**:11612-11630.
- Skalická M, Nad' P, Bujňák L, Marcin A. 2021. Impact of Dietary Humic Substances Supplementation on Selected Minerals in Muscles of Broiler Chickens. *Folia Veterinaria* **65**:51-59.
- Steinberg CEW, Meinelt T, Timofeyev MA, Bittner M, Menzel R. 2008. Humic Substances Part 2: Interactions with Organisms. *Env Sci Pollut Res* **15**:128-135.
- Stepchenko L, Dyomshyna O, Ushakova G. 2021. The Impact of the Humate Nature Feed Additives on the Antioxidative Status of Erythrocytes, Liver, and Muscle in Chickens, Hens, and Gerbils. *Biointerface Research in Applied Chemistry* **11**:13202-13213.
- Stupka R, kolektiv. 2013. Chov hospodářských zvířat. Powerprint, Praha.
- Sutton R, Sposito G. 2005. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environmental Science and Technology* **39**:9009-9015.
- Taklimi SM, Ghahri H, Isakan MA. 2012. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agricultural Sciences* **3**:663-668.
- Tallentire CW, Leinonen I, Kyriazakis I. 2016. Breeding for efficiency in the broiler chicken: A review. *Agronomy for Sustainable Development* **36**: 66. DOI 10.1007/s13593-016-0398-2.
- VanGoudoever JB, Vlaardingerbroek H, VanDenAkker CH, DeGroof F, VanDerSchoor SRD. 2014. Amino Acids and Proteins. *World Review of Nutrition and Dietetics* **110**:49-63.
- Verdal H, Narcy A, Bastianelli D, Chapuis H, Mème N, Urvoix S, Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S. 2011. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastrointestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics* **12**: 71. DOI: 10.1186/1471-2156-12-71.
- Wang Q, Chen YJ, Yoo JS, Kim HJ, Cho JH, Kim IH. 2008. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livestock Science* **117**:270-274.
- Weber J. 2020. Humic Substances and their Role in the Environment. *EC Agriculture*. Available from <https://www.ecronicon.com/eco20/pdf/ECAG-03-ECO-0002.pdf> (accessed November 2022).
- Wiseman J, Lewis CE. 1998. Influence of dietary energy and nutrient concentration on the growth of body weight and of carcass components of broiler chickens. *Journal of Agricultural Science* **131**:361-371.
- Wu G. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* **37**:1-17.
- Wu G. 2010. Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. *Advances in Nutrition* **1**:31-37.

- Wu G. 2014. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **5**: 34 DOI:10.1186/2049-1891-5-34.
- Xu G, Han Z, Wang S, Dai T, Dong D, Zong C, Yin X, Jia Y, Shao T. 2022. Soy sauce residue in total mixed ration silage: fermentation characteristics, chemical compositions, in vitro digestibility and gas production. *Italian Journal of Animal Science* **21**:1058-1066.
- Yasuda K, Kitagawa M, Oishi K, Hirooka H, Tamura T, Kumagai H. 2015. Growth performance, carcass traits, physiochemical characteristics and intramuscular fatty acid composition of finishing Japanese black steers fed soybean curd residue and soy sauce cake. *Animal Science Journal* **87** (7) DOI: 10.1111/asj.12510.
- Yörük MA, Gül M, Hayirli A, Macit M. 2004. The Effects of Supplementation of Humate and Probiotic on Egg Production and Quality Parameters During the Late Laying Period in Hens. *Poultry Science* **83**:84-88.
- Zelenka J, Heger J, Zeman L. 2007. Doporučený obsah živin v krmných směsích a výživná hodnota krmiv pro drůbež. Ediční středisko Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, Brno.
- Zelenka J. 2014. Výživa a krmení drůbeže. Agripint, Olomouc
- Zuidhof MJ, Schneider BL, Carney VL, Korver DR, Robinson FE. 2014. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry Science* **93**:2970-2982. DOI: 10.3382/ps.2014-04291.