

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav výživy a pícninářství**

---



**Porovnání systémů hodnocení obsahu hrubého  
proteinu v krmivech pro skot**

Bakalářská práce

*Vedoucí práce:*  
prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc., dr. H. c

*Vypracoval:*  
Petr Šobáň

---

Brno 2017



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Petr Šobáh**  
Studijní program: Agrobiologie  
Obor: Všeobecné zemědělství  
Konzultant: ing. Pavel Horký, PhD  
Název tématu: **Porovnání systémů hodnocení hrubého proteinu v krmivech pro skot**  
Rozsah práce: 30-50 stran

### Zásady pro vypracování:

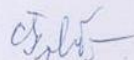
1. Prostudujte evropské systémy hodnocení krmiv pro skot a zaměřte se na rozdíly
2. Prostudujte normu USA (např. NRC 2001). Zaměřte se také na tzv. Cornellský systém (Chalupa, Fox, Sniffen aj.) a jeho interpretaci pro chovatele skotu
3. Prostudujte platný český a slovenský systém (SOMMER aj. 1994) a jeho rozdíly podle postupných inovací na Slovensku. Popište a pojednejte také o britských systémech (Anglie, Austrálie, Kanada, aj.)
4. V přehledných tabulkách porovnejte jednotlivé systémy hodnocení krmiv a dle možnosti proveďte porovnání krmné dávky pro modelovou dojnici
5. Zhodnoťte systémy a udělejte závěr
6. Předložte bakalářskou práci

Seznam odborné literatury:

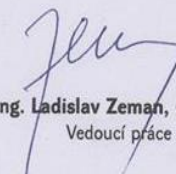
1. ZEMAN, L. – DOLEŽAL, P. – KOPŘIVA, A. – MRKVICOVÁ, E. – PROCHÁZKOVÁ, J. – RYANT, P. – SKLÁDANKA, J. – STRAKOVÁ, E. – SUCHÝ, P. – VESELÝ, P. – ZELENKA, J. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press, s.r.o., 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.
2. TRÍNÁCTÝ, J. – RICHTER, M. – KRÍŽOVÁ, L. *Hodnocení energie krmiv pro dojnice dle NRC (2001)*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2009. 41 s. ISBN 978-80-87144-12-1.
3. SOMMER, A. *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce*. 1. vyd. Pohořelice: ČZS VÚVZ, 1994. 196 s. ISBN 80-901598-1-8.
4. DREVJANY, L. – KOZEL, V. – PADRŮNĚK, S. *Holštýnský sočet*. 1. vyd. Sedmihorky: Zea, 2004. 344 s.
5. MRKVICOVÁ, E. – ZEMAN, L. *Obsah minerálních látek v krmivech*. In: TRÍNÁCTÝ, J. – AMON, T. – AMON, B. – ANDERT, D. – BADALÍKOVÁ, B. – BARRIERE, Y. – BÍRO, D. – BUCHGRABER, K. – BUCHTELOVÁ, H. – CRHOVÁ, K. – ČERMÁK, B. – ČIŽMÁR, D. – DÖHLER, H. – DOLEŽAL, P. – DVOŘÁČEK, J. – FISCHEROVÁ, J. – FRYDRYCH, Z. – GÁLIK, B. – GAZDÍK, Z. – ŠÍRKOVÁ, K. – GRUBER, L. – HADROVÁ, S. – HEJDUK, S. – HOFBAUER, J. – HOFFMAN, P. – HOMOLKA, P. – HUČKO, B. – CHAMPION, M. – CHRENKOVÁ, M. – JAMBOR, V. – JANČÍK, F. – JURÁČEK, M. – KIÁCOVÁ, N. – KNOTOVÁ, D. – KODEŠ, A. – KOŘÍNEK, D. – KOUKOLOVÁ, V. – KOWALSKI, Z. M. – KRÍŽOVÁ, L. – LÁD, F. – LANG, J. – LAUER, J. – LINDUŠKOVÁ, H. – LOUČKA, R. – MATOUŠKOVÁ, H. – MIKYSKA, F. – MITRÍK, T. – MRKVICOVÁ, E. – MUDŘÍK, Z. – MUÑOZ JANS, J. O. – NEDĚLNÍK, J. – NIEBAUM, A. – PELIKÁN, J. – POVOLNÝ, M. – POZDÍŠEK, J. – RAJČÁKOVÁ, L. – RICHTER, M. – ROTH, U. – SHAVER, R. – SKLÁDANKA, J. – SLEZÁKOVÁ, E. – STUDÉNKA, S. – SZWEDZIAK, K. – ŠIMKO, M. – ŠMIROUS, P. – TUKIENDORF, M. – TYROLOVÁ, Y. – URDL, M. – UŠŤAK, S. – VAJDA, V. – VÁŇA, J. – VESELÝ, P. – VODIČKA, J. – VRBOVSKÝ, V. – ZELENKA, J. – ZEMAN, L. – ZOBAČ, P. *Hodnocení krmiv pro dojnice*. 1. vyd. Pohořelice: AgroDigest s.r.o., 2013. s. 135–151. ISBN 978-80-260-2514-6.
6. RICHTER, M. – TRÍNÁCTÝ, J. *Použití systému NRC 2001 v oblasti hodnocení proteinu krmiv pro dojnice*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2009. 33 s. ISBN 978-80-87144-11-4.
7. *Šlechtění a výživa dojnic a využitím NRC 2001 : Mezinárodní seminář, Brno – Hotel International, 22.10. 2009*. Rapotín: Výzkumný ústav pro chov skotu, 1964. 66 s.

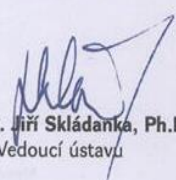
Datum zadání bakalářské práce: říjen 2015

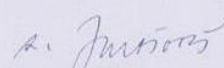
Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2017

  
**Petr Šobán**  
Autor práce



  
prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc., dr. h. c.  
Vedoucí práce

  
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.  
Vedoucí ústavu

  
doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.  
Děkan AF MENDELU

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci:

*Porovnání systémů hodnocení hrubého proteinu v krmivech pro skot*

vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne: 27.04.2017

.....

podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

V první řadě bych chtěl poděkovat svému vedoucímu práce prof. Ing. Ladislavovi Zemanovi, CSc., dr. H. c. za pomoc při vypracování této práce, za jeho cenné rady, odborné vedení, za jeho trpělivost a čas, který mi věnoval. Nesmím opomenout také na pomoc rodiny, ať již psychickou či finanční, a také na podporu blízkých přátel a své přítelkyně, která se mnou měla trpělivost v průběhu psaní práce.

## **ABSTRAKT**

ŠOBÁŇ, P. Porovnání hodnocení hrubého proteinu v krmivech pro skot. Bakalářská práce, Agronomická fakulta Mendelova univerzita v Brně, 2017, s. 49

Bakalářská práce pojednává o různých systémech hodnocení obsahu hrubého proteinu v krmivech pro skot. Je zde popsán systém český a slovenský (PDI), britský (ARC<sub>1980</sub>), nizozemský (DVE/OEB<sub>2010</sub>), německý (RDP), francouzský (INRA<sub>F</sub>), italský (INRA<sub>I</sub>), švýcarský (APD<sub>1984</sub>), americký (NRC<sub>2001</sub>) a systém severských zemí (NKJ<sub>1985</sub>).

První část této práce pojednává o proteinu ve výživě přežvýkavců obecně a na to navazuje popis jednotlivých systémů a jejich hodnocení krmiv. V Evropě vychází většina systémů z principu francouzského systému (INRA<sub>F</sub>). Proto je v popisu systémů podrobněji rozebrán systém francouzský (INRA<sub>F</sub>) a americký (NRC<sub>2001</sub>). Dále bylo zjištěno, že systémy hodnocení hrubého proteinu jsou si celosvětově velmi podobné a výrazně se neliší.

V závěru bylo konstatováno, že hlavní rozdíl mezi evropskými a americkým systémem je ten, že v evropských systémech se hodnotí množství a kvalita proteinu v každém krmivu, kdežto v americkém systému se hodnotí až množství a kvalita hrubého proteinu v celkové krmné dávce.

Klíčová slova: skot, hrubý protein, kvalita, systém hodnocení

## **ABSTRACT**

ŠOBÁŇ, P. Comparison of evaluation systems of crude protein content in cattle feed, Bachelor's thesis, Faculty of AgriSciences Medne University in Brno, 2017, s. 49

This bachelor's thesis deals with different systems of evaluation of crude protein content in cattle feed. Several systems are described in the thesis: Czech and Slovak(PDI), British (ARC<sub>1980</sub>), Dutch (DVE/OEB<sub>2010</sub>), German (RDP), French (INRA<sub>F</sub>), Italian (INRA<sub>I</sub>), Swiss (APD<sub>1984</sub>), American (NRC<sub>2001</sub>) and system of Nordic countries (NKJ<sub>1985</sub>).

First part of this thesis is dealing with protein in ruminant nutrition in general and after that describes individual protein evaluation systems and their feed analyzations. In Europe, most of the systems are based on principle of the French system (INRA<sub>F</sub>). Therefore, French system (INRA<sub>F</sub>) and American system (NRC<sub>2001</sub>) are described with more details. There has been determined great similarity of most of the protein evaluation systems globally and they do not differ significantly.

In conclusion, it was stated, that main difference between EU systems and American system is, that in EU systems is evaluated amount and quality of protein in each feed. While in American system is evaluated amount and quality in final feed mixture.

Key words: cattle, crude protein, quality, evaluation system

## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK</b> .....	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>PROTEIN VE VÝŽIVĚ PŘEŽVÝKAVCŮ</b> .....	<b>9</b>
<b>3.2</b>	<b>SYSTÉMY HODNOCENÍ KRMIV PRO SKOT A JEJICH ROZDÍLY</b> .....	<b>10</b>
3.2.1	SYSTÉMY HODNOCENÍ HRUBÉHO PROTEINU .....	11
3.2.1.1	ARC <sub>1980</sub> – Britský systém .....	11
3.2.1.2	DVE/OEB <sub>2010</sub> – Nizozemský systém.....	13
3.2.1.3	RPD – Německý systém .....	14
3.2.1.4	INRA <sub>F</sub> – Francouzský systém .....	15
3.2.1.5	INRA <sub>I</sub> – Italský.....	23
3.2.1.6	NKJ <sub>1985</sub> – Severské země .....	24
3.2.1.7	APD <sub>1984</sub> – Švýcarský .....	25
<b>4</b>	<b>NORMA USA (NRC 2001)</b> .....	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>CORNELLSKÝ SYSTÉM (CHALUPA, FOX., SNIFFEN AJ.)</b> .....	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>HODNOCENÍ PROTEINU KRMIV DLE NRC (2001)</b> .....	<b>29</b>
4.2.1	PRINCIP HODNOCENÍ PROTEINU KRMIVA .....	29
4.2.2	POSTUP PŘI HODNOCENÍ PROTEINU KRMIVA.....	30
4.2.3	PROBLEMATIKA POUŽITÍ ALFA-AMYLÁZY.....	33
4.2.4	PROBLEMATIKA POUŽITÍ SIŘIČITANU SODNÉHO.....	33
4.2.5	PROBLEMATIKA KOREKCE NA OBSAH POPELE .....	33
4.2.6	PROBLEMATIKA POUŽITÍ SÁČKOVÉ METODY FIRMY ANKOM.....	34
4.2.7	SHRNUTÍ .....	34
<b>5</b>	<b>ČESKÝ A SLOVENSKÝ SYSTÉM (PETRÍKOVIČ A SOMMER, 2002)</b> .....	<b>35</b>
<b>5.1</b>	<b>INOVACE NA SLOVENSKU</b> .....	<b>37</b>
5.1.1	POTŘEBA NĚL PRO DOJNICE .....	39
<b>6</b>	<b>POROVNÁNÍ SYSTÉMŮ HODNOCENÍ KRMIV</b> .....	<b>40</b>
<b>6.1</b>	<b>ANALÝZA KRMIVA</b> .....	<b>40</b>
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>42</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>43</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>46</b>



# 1 ÚVOD

Počet skotu ve světě přesahuje 11,2 miliardy zvířat, v nichž je zahrnuto asi 300–350 plemen. Tato plemena s užitkovostí mléčnou a masnou, ale taktéž k tahu či býčím zápasům. Část zvířat žije volně v přírodních rezervacích, v zoologických zahradách či volně v přírodě. Největší stavy skotu jsou v Asii a v Americe. V Evropě je zastoupeno pouze 9 % celkové populace skotu na zemi. Z toho je převážná většina ve Francii, Německu, Velké Británii, Itálii, Polsku.

V Evropě, Severní Americe a na Blízkém Východě, kde je tradice konzumace mléka a mléčných výrobků se chová skot za účelem získávání mléka. Dojí se různá plemena, a to jak mléčná, tak i kombinovaná. Podle rozsahu exploatace jednotlivých plemen je dosahováno různé úrovně produkce na chovaný kus skotu. V průměru nejvyšší doživosti na krávu je dosahováno v Severní Americe a v Evropě, nejnižší pak v Africe, Jižní Americe a na Dálném východě.

Na základě poznatků získaných v posledních dvaceti pěti letech v oblasti fyziologie přežvýkavců došlo ve většině evropských zemí k formulaci a přijetí nových systémů hodnocení dusíkatých látek (NL) krmiv pro přežvýkavce. V zásadě se hodnotí dusíkaté složky krmiva pro přežvýkavá a nepřežvýkavá zvířata velmi podobně. V moderních systémech se posuzuje především příjem aminokyselin (jako suma esenciálních a neesenciálních aminokyselin, dusíkaté látky, metabolizovatelný protein atd.). Nejčastěji pak tyto nové systémy přitom posuzují úroveň krytí požadavků organismu na přívod aminokyselin podle množství proteinu skutečně vstupujícího do tenkého střeva. V České a Slovenské republice je používán stejný systém hodnocení hrubého proteinu (dříve dusíkatých látek). Největší zásluhy o celý systém měli Vencl, Homolka, Trínáctý, Harazim, Pozdišek, Kolář, (v České republice) a dále Sommer, Petříkovič a Pajtáš (ve Slovenské republice).

V celé EU je používáno více jak 15 systémů hodnocení hrubého proteinu, a to byl důvod sepsání přehledu o těchto různých systémech a jejich porovnání.

## 2 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

<b>AADI</b>	Aminokyseliny stravitelné v tenkém střevě
<b>AAT</b>	Množství aminokyselin skutečně stravitelných v tenkém střevě
<b>ADF</b>	Acido detergentní vláknina
<b>ADICP</b>	Hrubý protein rozpustný v kyselém detergentu
<b>ADIN</b>	Dusík nerozpustný v kyselém detergentu
<b>ADL</b>	Acido detergentní lignin
<b>APD</b>	Protein vstřebatelný v tenkém střevě
<b>API</b>	Protein stravitelný v tenkém střevě
<b>BSP</b>	V pufru rozpustný protein
<b>CFAT</b>	Hrubý tuk
<b>CP</b>	Hrubý protein (dříve dusíkaté látky)
<b>D</b>	Degradovatelnost hrubého proteinu v batoru
<b>DE1</b>	Degradovatelnost NL stanovená enzymatickou metodou dle Aufrère et al. (1989) je odvozena z 1 hodinové inkubace
<b>deg</b>	Teoretická degradovatelnost (%/100)
<b>DMI</b>	Detergentní mikrobiální protein
<b>DMTP</b>	Skutečně stravitelný mikrobiální protein
<b>DOM</b>	Stravitelná organická hmota
<b>dsi</b>	Intestinální stravitelnost (%/100)
<b>DVBE</b>	Hrubý protein v batoru (ruminálně) nedegradovaný, v tenkém střevě stravitelný
<b>DVE</b>	Množství skutečně stravitelného proteinu v tenkém střevě
<b>DVME</b>	Protein syntetizovaný mikroby v batoru a stravitelný v tenkém střevě
<b>DVMFE</b>	Endogenní protein ztracen v průběhu trávicího procesu
<b>ECP</b>	Endogenní hrubý protein
<b>EE</b>	Hrubý tuk (etherový extrakt)
<b>FOH</b>	Fermentovatelná organická hmota
<b>FOM</b>	Fermentovaná organická hmota
<b>FP</b>	Fermentační produkty v siláži
<b>GOS</b>	Oligosacharidy glukózy
<b>IP</b>	Nerozpustný protein
<b>Kp</b>	Koeficient rychlosti pasáže proteinu tenkým střevem
<b>LA</b>	Kyselina mléčná
<b>LysDI-MetDI</b>	Aminokyseliny lyzin a methionin stravitelné v tenkém střevě
<b>MAA</b>	Specifická množství postruminálně vstřebatelných aminokyselin
<b>MAT</b>	Hrubý protein (dříve dusíkaté látky)
<b>MCP</b>	Mikrobiální hrubý protein
<b>ME</b>	Metabolizovatelná energie (v MJ)
<b>MP</b>	Metabolizovatelný protein
<b>MPBact</b>	Metabolizovatelný protein bakteriální
<b>MPEndo</b>	Metabolizovatelný protein endogenní
<b>MPFeed</b>	Metabolizovatelný protein krmiva
<b>MTP</b>	Skutečný mikrobiální protein
<b>NDF</b>	Neutrálně detergentní vláknina
<b>NDICP</b>	Hrubý protein rozpustný v neutrálním detergentu

<b>NDIP</b>	Dusík nerozpustný v neutrálním detergentu
<b>NdNL</b>	Nedegrované NL
<b>NEL</b>	Netto energie krmiva (v MJ)
<b>NL</b>	Hrubý protein (dříve dusíkaté látky)
<b>NLN DE1</b>	NL –nedegradované v enzymu
<b>NLNDI</b>	NL nestravitelné v tenkém střevě
<b>NPM</b>	Fermentovatelná energie aminokyselin
<b>NPN</b>	Nebílkovinný dusík
<b>NSOH</b>	Nestravitelná organická hmota
<b>OEB</b>	Vyváženost degradovaného proteinu v bacheru
<b>OH</b>	Organická hmota
<b>PBV</b>	Rovnováha proteinu v bacheru
<b>PDI</b>	Protein stravitelný ve střevě
<b>PDIA</b>	Protein stravitelný ve střevě a pocházející z krmiva a nedegradovaný v bacheru (ruminálně)
<b>PDIE</b>	Protein stravitelný ve střevě limitovaný zdrojem energie v bacheru
<b>PDIN</b>	Protein stravitelný ve střevě limitovaný zdrojem dusíku v bacheru
<b>PepCeIS</b>	Stravitelnost sušiny stanovená pepsin-celulázovou metodou dle Aufrère (1982)
<b>PepCelOH</b>	Stravitelnost organické hmoty stanovená pepsin-celulázovou metodou dle Aufrère (1982)
<b>RDP</b>	Ruminálně degradovaný protein
<b>RNB</b>	Bacherová (ruminální) bilance dusíku
<b>RNSP</b>	Ostatní reziduální frakce krmiva
<b>RUP</b>	Ruminálně nedegradovaný protein
<b>S</b>	Sušina
<b>SNL</b>	Stravitelné dusíkaté látky
<b>sOH</b>	Stravitelnost organické hmoty (%)
<b>T</b>	Hrubý tuk
<b>UDM</b>	Nestravitelná sušina
<b>UDN</b>	Nestravitelný dusík
<b>UDP</b>	Nedegradovaný protein
<b>VI</b>	Hrubá vláknina
<b>VFA</b>	Těkavé mastné kyseliny
<b>vNL</b>	Využitelné dusíkaté látky (Slovensko)

### 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Názvosloví dusíkaté složky krmiva se v Evropské unii změnilo vydáním Nařízení komise (EU) č. 68/2013 ze dne 6.1.2013 o katalogu pro krmné suroviny, kdy se pojem „dusíkaté látky“ změnil na „hrubý protein“. Naše bakalářská práce však musí zohlednit nejednotnost názvosloví pro dusíkaté složky krmiv v celém světě, a proto jsme museli práci doplnit seznamem zkratk, které platí (platily) v různých zemích.

#### 3.1 Protein ve výživě přežvýkavců

U přežvýkavců dochází díky speciálnímu trávicímu ústrojí, jak svou strukturou (bachor, čepce, kniha a slez), tak i funkcemi pro využití celulózy, ke speciální přeměně krmiv na živočišné produkty. Celulóza je štěpena v bachoru mikrobiálními enzymy, následuje hydrolyza degradovatelných látek dusíkatých, syntéza vitaminů (B komplex, vitamin K) a tvorba bílkovin. Jelikož je až 75 % veškeré energie a dusíkatých látek potřebných pro organismus produktem bachorové fermentace. A právě v tom spočívá důležitá funkce právě fungujícího bachoru (Urban, 1997).

Vysoký produkční potenciál u vysokoužitkových dojnic lze využít jen s adekvátním přísunem živin, z nichž právě protein hraje důležitou roli. Správné učení jeho potřeby a následně zajištění jejího vybalancování je úkolem dobře fungujícího proteinového systému výživy. Cílem moderních systémů výživy přežvýkavců v oblasti dotace proteinu je proto co nejpřesněji predikovat tok jednotlivých proteinových frakcí do tenkého střeva (Richter et al., 2009)

Nejvýznamnější frakcí je mikrobiální protein (MCP), který je stavební látkou mikroorganismů podílejících se na trávicím procesu v bachoru. Svým aminokyselinovým složením se řadí ke kvalitním proteinům a nahrazuje tak z velké části nepřítomnost živočišného proteinu v krmivu přežvýkavců. Frakce mikrobiálního proteinu je majoritní složkou, u dojnic dosahuje 60 až 80 % celkového obsahu proteinu v tenkém střevě (Richter et al., 2009) Z tohoto důvodu správnost kvantifikace této frakce nejvíce ovlivňuje přesnost predikce toku metabolizovatelného proteinu (MP) do tenkého střeva.

Druhou významnou frakcí je nedegradovaný protein krmiva (by-pass protein). Je to protein, který unikl degradačnímu procesu v bachoru, a jež je podroben enzymatickému trávení v tenkém střevě. Hladina proteinu nedegradovatelného v bachoru u běžných krmiv je pro vysokoužitkové dojnice nedostačující. Proto je nutné nedegradovatelný protein dodávat v krmivech s vysokou hladinou nedegradovatelných dusíkatých látek jako jsou: tepelně ošetřené sójové boby, lisované výpalky, rybí moučka atd. U krav s užitkovostí vyšší 10 000 kg je jeden zdroj bílkovin v krmné dávce nedostačující. Proto přidáváním aminokyselin (lyzinu a methioninu) ošetřených proti degradaci v předžaludku, spělo k nárůstu produkce mléka a ke zvýšení obsahu bílkovin v mléce. Minimální zásobení pro pokrytí potřeb degradovatelného proteinu mikroorganismy je 12–13 % (Urban, 1997). Při sušení sena a silážování dochází k tepelnému poškození dusíkatých látek, proto je nutné toto poškození zohlednit, což znamená stanovit množství takto poškozených látek a odečíst je od celkové hodnoty dusíkatých látek v krmivu.

V této souvislosti je třeba zmínit složku proteinu krmiva, která je v bachoru degradovaná (ruminálně degradovaný protein (RDP)), která se podílí spolu s energetickou složkou krmiva na syntéze MCP (Richter et al., 2009).

Třetí frakce zahrnuje endogenní protein (ECP), pocházející ze slin, trávicích enzymů a odumřelých buněk epitelu trávicího traktu (Richter et al., 2009). Vzhledem k jejímu minoritnímu významu není tato frakce do výpočtu toku stravitelného proteinu zahrnuta. Naopak systém NRC (2001) počítá i s touto frakcí.

Principem systému hodnocení proteinu krmiv dle NRC (2001) pro optimalizaci krmných dávek je správná predikce duodenálního toku stravitelné složky tří výše zmiňovaných frakcí (MCP, RUP, ECP) tak, aby jejich součet korigovaný na intestinální stravitelnost dal výsledný MP ve výši jeho potřeby na záchovu a produkci dojnic (Richter et al., 2009).

### **3.2 Systémy hodnocení krmiv pro skot a jejich rozdíly**

Systémy dříve používané na základě stravitelných dusíkatých látek (SNL), neodpovídaly fyziologickým pochodům trávení přežvýkavců. Nerespektování mikrobů

fermentujících v bachoru, nezahrnutí bachorové degradace proteinu krmiva a nerespektování rozdílů využití NL, které vstupují do tenkého střeva (Urban, 1997).

Evropské systémy hodnocení ve Velké Británii, (RDP/UDP), Francii (PDI), USA (NRC), skandinávských zemích (AAT/PBV), Švýcarsko (APD), Nizozemsku (DVE) a Německu (RPD, stejně jako RDP) vycházejí ze stejných principů:

1. Bílkovinná výživa mikrobiální je oddělena od výživy hostitelského organismu.
2. Zavedení hodnoty degradovatelnosti NL krmiv.

### **3.2.1 Systémy hodnocení hrubého proteinu**

V nových systémech hodnocení energie a proteinu krmiva čerpáme z nových znalostí z fyziologie metabolismu přežvýkavců. Nové objevy ve fyziologii trávení vedou k požadavkům na přesnější určení množství přívodu energie a živin, taktéž se mění kritéria hodnocení krmiv (Urban, 1997). Užitečnost hospodářských zvířat se odvíjí od jejich zásobení energií a živinami, jež jsou nad rámec potřeb na záchovu. K zajištění dobrého zdravotního stavu zvířat, vysoké užitečnosti naplňující jejich genetický potenciál, a tudíž zajištění dobré ekonomiky chovu, je důležité zajistit maximální příjem kvalitních živin. Nové systémy hodnocení dusíkatých látek a energie krmiv pro přežvýkavce vznikly na základě nových fyziologických poznatků ve výživě přežvýkavců. Každý systém hodnocení krmiv se zakládá na dvou hlavních částech:

1. Stanovení nutriční hodnoty krmiv.
2. Stanovení požadavků zvířat na příjem živin a energie.

#### **3.2.1.1 *ARC<sub>1980</sub> – Britský systém***

#### **V bachoru rozložitelný a nerozložitelný protein krmiva.**

Na základě degradace hrubého proteinu vstupujícího do bachoru, může být rozdělen na dusík rozložitelný v bachoru (RDN) a dusíku nestravitelného (UDN). Je to lepší systém na výpočet požadovaného množství, speciálně pro vysokoužitkové dojnice, které prokazují užitek z proteinu, který unikl mikrobiální degradaci v bachoru a je vstřebán jako aminokyseliny v tenkém střevě. Anorganické zdroje dusíku z rostlin, stejně jako

neproteinový dusík jako je močovina, jsou kompletně degradovány mikroorganismy bachoru. RDN je rozloženo mikroorganismy a použito pro jejich syntézu proteinu. Následně v trávicím procesu jsou mikroorganismy stráveny a jejich protein je zpřístupněn zvířeti. Mikrobiální syntéza je optimální pouze, pokud zvíře má dostatečný příjem energie. Proto, když není dostatek RDP je redukováno trávení, jak vláknitých krmiv, tak koncentrovaných krmiv – to vede ke snížení příjmů krmiva, nižšímu zásobení energií a tím pádem i snížení mléčné produkce. Některý protein může odolat mikrobiálnímu rozkladu bachoru a projde tak přímo do tenkého střeva krav. Tenhle protein se nazývá „bypass“, který je zvláště prospěšný pro vysokoužitkové krávy. Při nízké produkci mohou být požadavky krávy kryty pouze z mikrobiálního proteinu a krmivo může obsahovat jen degradovatelný protein. Toto vysvětluje, proč takové krávy mohou být krmeny močovinou nebo drůbežím trusem. Na místo vysoce kvalitního proteinu je důležité mít vyvážené krmivo UDP a RDP.

### **Systémy hodnocení metabolizovaného proteinu**

Po trávení proteinu krmiva mikroby v bachoru a trávení ve slezu, je suma kompletně skutečně stráveného proteinu a je k dispozici pro metabolismus zvířete. Je nazýván metabolizovaný protein MP. Metabolizovaný protein byl pro určitý počet krmiv pro přežvýkavce určen. Tato norma hodnocení je založena na aminokyselinách a jejich potřebu zvířaty. Měřicí jednotky MAA jsou použity jako specifické množství vstřebatelných v částech trávicího traktu za bacheorem. Rysem této normy je jeho schopnost předvídat množství močoviny a nebílkovinného dusíku (NPN), které mohou být užitečné s uvedeným množstvím krmiva nebo kombinacemi krmiv. Skládá se ze dvou částí:

Skutečně stravitelný mikrobiální protein DMTP – je syntetizován mikroby bachoru z fermentovatelné energie aminokyselin NPM, nebo nebílkovinných zdrojů dusíku. Asi čtvrtina mikrobiálního hrubého proteinu MCP je představován nukleovými kyselinami, které nemohou být použity přežvýkavci a zbylých 75 % skutečného mikrobiálního proteinu MTP je stravitelných.

$$1) \quad DMPT (g/d) = 0,75 \times 0,85 \times MCP = 0,6375 MCP (g/d)$$

NRC (2001) navrhuje 80 % stravitelnost skutečného mikrobiálního proteinu, který počítá z 20 % nukleových kyselin. Získaná výsledná hodnota je také 64 a je srovnatelná s AFRC (1993), cit. Trináctý, 2006 s hodnotou 63,75.

V bacheru nedegradovatelný protein krmiva (RUP) – tato frakce proteinu krmiva není v bacheru degradována (UDP), ale je trávená a absorbována v tenkém střevě. Poměr stravitelné frakce v UDP se pohybuje od 0–0,9. Stravitelnost UDP může být předvídána z obsahu dusíku nerozpustného v kyselém detergentu (ADIN), obsaženého v krmivu.

$$2) \quad MP (g/d) = 0,6375 MCP + RUP$$

Tento systém předpokládá potřebu aminokyselin tkáněmi zvířat, které musí být doplněny absorpcí aminokyselin z tenkého střeva. Tyto aminokyseliny jsou ze dvou hlavních zdrojů, a to: mikrobiální protein, nefermentované krmivo.

Některé úvahy o metabolizovatelném systému aminokyselin jsou následující:

množství aminokyselin, které musí být absorbováno tělem pro záchovu, definovány jako – ztráty dusíku močí, kůží a dusík srsti a vlny. Také je třeba započítat potřeby pro produkci (růst produkce mléka a reprodukce). Přívod do tenkého střeva a následně do těla mikrobiálních aminokyselin se vypočítá ze znalosti příjmu metabolizovatelné energie odpovídající požadované úrovni produkce a kvantitě aminokyselin přístupné z nefermentovatelných proteinů přicházejících do tenkého střeva.

Kanadský a Australský systém hodnocení krmiv je velmi podobný systému Britskému. V australském systému je hlavní odlišnost v tom, že do rovnic zahrnují ne 80% stravitelnost, ale 79% stravitelnost hrubého proteinu.

### **3.2.1.2 DVE/OEB<sub>2010</sub> – Nizozemský systém**

Tento systém počítá se dvěma charakteristikami krmiv jako předešlý systém DVE/OEB<sub>1991</sub>, a to s proteinem skutečně stravitelným v tenkém střevě (DVE) a s vyvážeností proteinu degradovaného v bacheru (OEB). Požadavky na potřeby dojených krav jsou vyjádřeny v jednotkách DVE stejně, jako protein degradovatelný



v tenkém střevě, kdežto OEB představuje rozdíl mezi MPS potenciálně degradovatelný protein v batoru z hrubého proteinu (RDP) a potenciálně přístupné energie z organické hmoty (FOM) zkvašené v batoru.

DVE je rozděleno do tří frakcí: hrubý protein krmiva v batoru nedegradovatelný, ale stravitelný v tenkém střevě (DVBE), mikrobiální protein syntetizovaný v batoru a stravitelný v tenkém střevě (DVME) a endogenní hrubý protein ztracený v trávicím procesu (DVMFE). Endogenní ztráty proteinů zahrnují zejména trávicí enzymy, odlupující epitelové buňky a hlen. Endogenní protein vychází ze zvířete samotného, to způsobuje předpokládanou ztrátu v závislosti na průtoku nestrávené sušiny (UDM) gastro-intestinálním traktem. Proto může být DVE hodnota počítána jako:

$$1) \text{ DVE} = \text{DVBE} + \text{DVME} - \text{DVMFE}.$$

Krmiva obsahují v sušině tyto chemické komponenty: hrubý protein (CP), škrob, cukry, oligosacharidy glukózy (GOS), hrubý tuk (CFAT), neutrálně detergentní vlákninu (NDF), fermentující produkty (FP) a ostatní reziduální frakce (RNSP). Hlavní složkou fermentovaných produktů krmiva jsou kyselina mléčná a těkavé mastné kyseliny, propionová a máselná. RNSP se dá vypočítat jako všechny frakce v g/kg sušiny:

$$2) \text{ RNSP} = \text{OM} - (\text{CP} + \text{škrob} + \text{cukry} + \text{GOS} + \text{CFAT} + \text{NDF} + 0,92 \times \text{LA} + 0,5 \times \text{VFA})$$

Rovnice pro výpočet záchovné potřeby proteinu:

$$3) \text{ DVE}_{\text{záchovy}} (\text{gDVE}/\text{d}) = 2,75 \times \text{BW}^{0,5} + 0,2 \times \text{BW}^{0,6} / 0,67$$

Rovnice pro výpočet potřeby proteinu pro mléčnou produkci:

$$4) \text{ DVE}_{\text{potřeby mléčné produkce}} (\text{g}/\text{d}) = 1,396 \times \text{MiP} + 0,000195 \times \text{MiP}^2$$

### 3.2.1.3 RPD – Německý systém

Stravitelný hrubý protein (DCP) nepojednává o dusíku aminokyselin (AAN) dodávané přežvýkavcům, protože DCP nezohledňuje komplex přeměn dusíku v trávicím traktu přežvýkavců. Skupina pracující na vývoji systému hodnocení proteinu

v Německu, založila systém vztahu potřeb zvířete a proteinem dostupným v tenkém střevě. Se znalostí potřeb zvířete, vstřebatelností a efektivností využití aminokyselin, bylo stanoveno množství potřebného proteinu ve dvanácterníku. Poměr dusíku ve dvanácterníku jako AAN je téměř konstantní. Může být snadno konvertovatelný na hrubý protein. Požadavky na hrubý protein dvanácterníku jsou pak v kontrastu s množstvím hrubého proteinu do tenkého střeva přicházejícího. Tok hrubého proteinu dvanácterníkem, který zahrnuje mikrobiální hrubý protein a bachelem nedegradovaný protein krmiva (UDP) je odhadován pomocí regresní rovnice. Pokud je proteinu stráveného ve dvanácterníku málo pro pokrytí potřeb zvířete, je nutné dodat UDP pomocí bypass proteinu pomocí navýšení krmiva, který ho obsahuje. Níže jsou sepsány některé body, jež jsou brány v úvahu:

- extenzivní a variabilně degradovaný protein v bacheru
- závislost množství syntetizovaného mikrobiálního proteinu v závislosti na zásobení energií
- nutnost rozlišovat mezi požadavky mikroflóry a hostitelského zvířete na dusík

#### **3.2.1.4 INRA<sub>F</sub> – Francouzský systém**

##### **Hodnocení podle obsahu lyzinu a methioninu ve Francii**

Současným trendem v oblasti výroby mléka je zvýšení obsahu bílkovin. Proti dřívějšímu předpokladu, že obsah aminokyselin ve střevním chymu je konstantní a dostačující pro syntézu mléka, bylo zjištěno u vysokoužitkových dojníc, že obsah aminokyselin je variabilní. Lyzin a methionin přitom patří k aminokyselinám, jejichž obsahy v krmivu nejvíce limitují syntézu bílkovin mléka (Zeman et al., 2006).

V roce 1993 byly ve Francii vydány provizorní tabulky (Tables provisoires INRA, 1993, cit. Třináctý, 2006) zohledňující množství lyzinu a methioninu v krmné dávce pro dojnice (Rulquin, 1994). Systém LysDI-MetDI ovšem nenahrazuje starý systém, ale naopak ho rozvíjí, a to v normování potřeb pro vysokoužitkové dojnice.

Při výpočtu krmné dávky se nejdříve vypočítá potřeba PDI a zjistí se vyrovnanost PDIN a PDIE. Potom se stanoví množství limitujících aminokyselin lyzinu a methioninu. Aminokyseliny jsou v systému LysDI-MetDI udávány v procentech PDIE

(Zeman et al., 2006). Na základě experimentů s krmnými dávkami s odstupňovaným obsahem aminokyselin, čímž byla vyvolána různá odezva obsahu mléčných bílkovin, byly stanoveny potřeby dojníc: 7,3 % PDIE pro LysDI a 2,5 % PDIE pro MetDI. Minimální (prahové) hodnoty jsou 6,7 % PDIE pro lyzin a 2 % PDIE pro methionin.

Obsah stravitelného lyzinu a methioninu v krmivech byl vypočítán jako suma mikrobiálního a nedegradovaného proteinu krmiva, vyjádřená v procentech PDIE (respektující sumu 18 hlavních aminokyselin). Takto byl vypočítán LysDi a MetDi pro 600 krmiv v provizorních tabulkách INRA.

U objemných krmiv se pohybuje obsah MetDi mezi 1,5–2,0 % PDIE a 6,5 až 8,0 PDIE pro LysDi. U koncentrovaných krmiv je to 0,5–2,5 % PDIE pro MetDI a 3,0 až 8,2 PDIE pro LysDI.

Z dosavadních zkušeností vyplývá, že v krmné dávce vysokoužitkových dojníc je většinou deficitní methionin, a proto se musí dotovat v chráněné formě.

### **Hodnocení proteinu krmiv dle INRA (2007) Schéma postupu**

1. Analýza krmiva
2. Výpočet stravitelnosti organické hmoty
3. výpočet fermentovatelné organické hmoty – regresní rovnice dle INRA (2007)
4. Výpočet efektivní degradovatelnosti a intestinální stravitelnosti NL krmiva
5. Výpočet hodnoty PDI krmiva dle INRA (2007)
6. Výpočet hodnot AADI krmiv

### **Analýza krmiva**

Jak systém francouzský, tak i systémy od něho odvozené (např. švýcarský) i náš český systém hodnocení krmiv, jsou založeny na weendské analýze krmiv. V rámci této analýzy se stanovují organické sloučeniny, jako je hrubý popel, sušina, hrubá vláknina, hrubý tuk, hrubý protein, NDF, ADL a ADF. Ve francouzském systému je k výpočtům PDIE a PDIN nutno znát degradovatelnost dusíkatých látek krmiva v batoru, stravitelnost v tenkém střevě nedegradovaných dusíkatých látek a v batoru stravitelnost organické hmoty. Hodnoty pro tabulky a srovnávání byly získány z experimentů prováděných na živých zvířatech VU Praha Uhřetěves. Stravitelná

organická hmota byla získána metodou *in vivo* v bilančních pokusech, teoretická degradovatelnost metodou *in sacco* na zvířatech s duodenální kanylou. Takto získané hodnoty se kvůli náročnosti a neaktuálnosti výsledku ubírají do pozadí a jsou nahrazovány metodami určení parametrů laboratorně (stravitelnost *in vitro*, chemické rozbor), kterými lze z laboratorních výsledků dosáhnout dostatečně přesných parametrů.

### **Analýzy krmiv potřebné pro výpočet hodnot PDIE a PDIN**

Z důvodů vypočtených regresních vztahů mezi veličinami pro jednotlivé hodnoty lišící se přesností zadávaných parametrů, není nutné realizovat vždy všechny analýzy.

Dále je nutno upozornit na stanovení stravitelné organické hmoty a organický rozbor u kukuřičné siláže, jež se provádí u zelené hmoty vstupující do silážního procesu. U hotové siláže se takto získané hodnoty se odhadují na základě regresí. Důvodem k tomuto postupu je nižší korelace hodnot sOH u kukuřičné siláže při použití standardně užívané *in vitro* enzymatické metody. Stanovit sOH lze výpočtem regresí z chemického složení nebo stanovením s použitím bachorové tekutiny *in vitro* (Tilley a Terry, 1963). Tento postup lze použít, pokud nemáme k dispozici zelenou hmotu.

#### **A) S – sušina**

Organický rozbor běžný dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013. Je doporučeno v případě siláží stanovit sušinu s doporučenou korekcí na těkavé fermentační produkty, a to pro vyšší přesnost.

#### **B) Popel**

Organický rozbor běžný dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013

#### **C) VI – hrubá vláknina**

Organický rozbor běžný dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013

#### **D) NL – hrubý protein (dříve dusíkaté látky)**

Organický rozbor běžný dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013

#### **E) T – hrubý tuk**

Organický rozbor běžný dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013

#### **F) NDF, ADF, ADL – sekvenčně stanovená neutrálně detergentní vláknina, acido detergentní vláknina a acido detergentní lignin**

#### **Historie a princip analýzy**

Moderní analytické postupy s použitím detergentů umožňují správnější pohled na vlákninový komplex krmiva. Oproti hrubé vláknině jsou složky vlákniny (NDF, ADL a ADF) lépe chemicky definovány. Je možné vypočítat matematicky i jiné složky vlákniny, například hemicelulózy odečtením ADF od NDF, ale toto není přesné u krmiv, kde je vyšší obsah pektinu, jelikož ten se rozpouští v neutrálním detergentu a v kyselém je zase stabilní. Proto je výsledná hodnota hemicelulóz podhodnocená. Pro eliminaci tohoto jevu byla navržena sekvenční metoda, která spočívá ve stanovení jednotlivých typů vlákniny (NDF, ADF, ADL) postupně z jedné navážky. Při stanovení NDF je ze vzorku odstraněn pektin, proto se již v následujícím kroku při stanovení ADF není již přítomen. Tento postup stanovení i přes svoji vyšší přesnost je používán zatím ve francouzském systému, a to již od 80. let minulého století, zatímco v USA tento postup ještě nepřijali.

#### **Postup stanovení**

Francouzská metodika standardně používána ke stanovení jednotlivých složek vlákninového komplexu metodou sáčkovou se zařízením firmy Ankom. Vzhledem k použité sekvenční metodě je velmi efektivní. Fibertec s použitím frit je zařízení, pomocí něhož lze uskutečnit stanovení vláknitých složek. Postupy níže uvedené jsou určeny pro zařízení Fibertec, používané ve většině laboratoří ČR.

### **Stanovení NDF**

Na síť o velikosti 1 mm pomeleme vysušený vzorek. Navážka vzorku je 1,0 g a ten se umístí ve fritě do přístroje; proleje se vařícím roztokem neutrálního detergentu 100 ml; alfa amylázy 50 mikro litrů; var po dobu 60 min; filtrace; promytí vařící vodou třikrát, promytí acetonem s následným sušením při 103 °C a zvážení zbytku. Při obsahu tuku větším než 5 % se doporučuje extrahovat v acetonu ještě před stanovením NDF.

### **Stanovení ADF**

Po stanovení NDF se umístí frity do přístroje; přidání 100 ml roztoku kyselého detergent; var po dobu 60 minut; filtrace a promytí vařící vodou třikrát; vysušení při 103 °C a zvážení zbytku.

### **Stanovení ADL**

Po stanovení ADF následuje umístění frit do přístroje a extrakce 72 % kyselinou sírovou po 3 hodiny. Promytí vodou, pak acetonem, aby se dosáhlo odstranění vody. Potom co aceton vyprchá suší se vzorek při 103 °C a váží. Jako poslední je na řadě mineralizace po dobu 5 hodin při 500 °C a znova se zváží. Výsledná hmotnost je hmotnost popela a ta je odečtena od všech hodnot výše uvedených.

### **G) PepCelS a PepCelOH – stravitelnost sušiny (organické hmoty) stanovená enzymatickou (pepsin-celulázovou) metodou**

#### **Princip analýzy**

Princip pepsin-celulázové metody spočívá ve stimulaci činnosti bachorových mikroorganismů pomocí enzymu celulázy v pufrovaném roztoku a trávící proces slezu je napodoben pepsinem v silně kyselém prostředí. Pro zvýšení účinnosti celulázy je v této metodě trávící proces obrácen čili krok s pepsinem předřazen celuláze, aby odstranil balastní látky. Stanovení trvá dva dny a je prováděno za stálé teploty v inkubátoru s použitím frit s definovanou porozitou. Přesnost výpočtu NEL závisí na správném určení sOH. Pro zvýšení přesnosti stanovení se používají filtrační frity velkoobjemové pro vyšší navážky. Metoda s použitím velkoobjemových frit se například ve Francii standardizovala.

## **Postup stanovení**

Příprava vzorků je následovná: usušení vlhkého vzorku při teplotě do 60 °C po 48 hodin, po kondicionaci pomletí na 1 mm sítu.

Stanovení stravitelnosti je při inkubaci 0,5 g vzorku v termostatu při 40 °C 24 hodin v 50 ml roztoku pepsinu (2 g.l<sup>-1</sup>) v 0,1 M HCl. Při inkubaci je frita uzavřena gumovou zátkou z obou stran. Pak je vzorek na dobu 30 minut ohřátý na 80 °C, aby se odstranil škrob. Po filtraci a trojnásobném promytí vodou následuje analýza celulózy

V 50 ml roztoku celulózy (1 g.l<sup>-1</sup>) je inkubován vzorek v octanovém pufru (pH 4,6) za stejných podmínek jako v kroku předešlém. Následuje trojnásobné promytí vodou, vysušení při 103 °C a vážení. U analýzy objemných krmiv je toto již posledním krokem a následuje výpočet pepsin-celulázové stravitelnosti sušiny (PepCelS), která se použije pro vlastní výpočet sOH. U analýzy jadrných krmiv provedeme ještě mineralizaci a zvažíme popel.

### **H) DE1 – degradovatelnost NL stanovená enzymatickou metodou s použitím proteázy**

#### **Historie a princip analýzy**

Deg hodnoty krmiv jsou standardně získávány metodou „nylon bag“ za použití ruminálně kanylovaných zvířat (Michalet-Doreau et al., 1987; Michalet-Doreau et al., 1992, Třináctý et al., 1996), výsledky jsou pak zaneseny do tabulek pro jednotlivé skupiny krmiv. V době, kdy probíhala standardizace této metody, byly hledány různé postupy, jež by vyloučily používání živých zvířat, a tím došlo ke zjednodušení a zlevnění získání zmíněných parametrů. U objemných krmiv byla zjištěna dobrá korelace mezi hodnotou deg a obsahem NL, tak byly vyvinuty docentem Homolkou v Uhřetěvsi regresní rovnice. U jadrných krmiv se začala používat enzymatická in vitro metoda s použitím proteázy dle Aufrère et al. (1989).

Vzorek jadrného krmiva je podroben hydrolyze enzymem proteázou v boritanofosfátovém pufru při pH 8 a trvá 1 hodinu. Degradovaný dusík se stanoví metodou dle Kjeldalha.

## Postup stanovení

### Příprava vzorků

- Boráto-fosfátový pufr – pH 8, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (12,2 g/l) Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 10 H<sub>2</sub>O (8,91 g/l), zkontrolovat pH pomocí pH – metru
- Roztok enzymu (2 g enzymu/1 boráto-fosfátový pufr pH 8), proteáza získaná ze *Streptomyces griseus* (Sigma P-5147), filtrace (Whatman 41), příprava těsně před použitím
- Roztok Tetracyklinu (antibiotikum) Sigma T-3258 (100 mg/l boráto-fosfátového pufru pH 8), skladovatelnost maximálně 1 měsíc při 4 °C
- Roztok Nystatinu (antiplísňový preparát) Sigma N-3503 (10 mg/l)
- Příprava enzymu (pro 500 mg vzorku): 0, 5 ml roztoku enzymu (1 mg/500 mg vzorku), 0, 5 ml roztoku tetracyklinu (0, 05 mg/500 mg vzorku), 0, 5 mg nystatinu (0, 5 mg/500 mg vzorku), doplnit na 50 ml boráto-fosfátovým pufrem pH 8 (Trináctý, Richter 2009)

Všechny produkty zde uvedené jsou skladovány v jejich původní formě chráněné před světlem při 4 °C.

### Příprava vzorků

Příprava vzorků je následovná: usušení vlhkého vzorku při teplotě do 60 °C po 48 hodin, avšak mletí se doporučuje jemnější na 0,8 mm sítu. Navážka 500mg vzorku se vloží do centrifugační tuby, přidá se k tomu 50 ml roztoku enzymu při teplotě 40 °C. Tuby jsou umístěny v lázni 40 °C. Během lázně dvakrát tuby rukou promícháme, a to v čase 0 min a 55 min. Po hodině v lázni jsou vzorky centrifugovány (při 3000 ot/min), pak zfiltrovány. Dusík je stanoven dle Kjeldahla.

## Výpočet potřeby PDI

### Potřeba na záchovu

$$1. PDI_{zách} (g/d) = 3,25 \times \check{Z}H^{0,75}$$

( $\check{Z}H$  – živá hmotnost (kg)),  $\check{Z}H^{0,75}$  metabolická velikost těla



### Potřeba na produkci mléka

$$2. PDI_{prod}(g/d) = 1,56 \times D \times Pml$$

(D – dojivost (kg.den<sup>-1</sup>), Pml – obsah proteinu v mléce (g.kg<sup>-1</sup>))

### Potřeba na graviditu

$$3. PDI_{grav}(g/d) = 0,07 \times \check{Z}H_{tele} \times e^{0,111 \times TG}$$

( $\check{Z}H_{tele}$  = předpokládaná živá hmotnost narozeného telete dle plemene (kg), TG – týden gravidity)

### Potřeba na dokončení růstu

Potřeba na dokončení růstu dojníc v 1. a 2. laktaci není v systému INRA (2007) řešena. Řešení by bylo v použití potřeb pro rostoucí a vykrmovaný skot, ale výpočty by byly dosti složité zahrnující alometrii růstu závisující na plemeni a změně efektivity využití PDI v průběhu růstu. Lze vyjít z hodnot potřeby PDI na dokončení růstu publikovaných v normách potřeb živin pro přežvýkavce (Sommer et al., 1994).

Tabulka č. 1: PDI na dokončení růstu dojníc (Sommer et al., 1994)

Laktace	Plemeno	Přírůstek ŽH (kg)	PDI <sub>růst</sub> (g)
1.	Kombinované	0, 26	60, 0
	Mléčné	0, 20	46, 0
2.	Kombinované	0, 16	30, 0
	Mléčné	0, 13	25, 0

### Celková potřeba PDI

$$4. PDI_{potř}(g/d) = PDI_{zách} + PDI_{prod} + PDI_{grav} + PDI_{růst}$$

### **Potřeba AADI**

Za nejčastěji limitující aminokyseliny byly považovány methionin a lysin, a to vedlo k mnohým experimentům. Ve Francii (Rulquin) a v USA (Schwab) shromáždili

pro tyto dvě aminokyseliny veškerá dostupná data a nezávisle na sobě vypočítali jejich potřebu pro dojnice, a to s velkou shodou. Rulquin vypočítal potřeby ve výši 2,5 a 7,3 % PDIE a Schwab pro NRC 2001 2,4 a 7,3 % MP. Pro výpočet potřeb ostatních aminokyselin nebyl dostatek dostupných výsledků, proto publikovali jen doporučená množství. Nyní se výzkumem v oblasti aminokyselin zabývá hlavně Albertská universita v Kanadě (Doepel et al., 2004). Provedli rozsáhlou metaanalýzu publikovaných výsledků z oblasti výzkumu aminokyselin po celém světě a publikovali dnes nejaktuálnější potřeby esenciálních aminokyselin.

Tabulka č. 2: Potřeba esenciálních aminokyselin dle uvedených autorů

Esenciální AA	Rulquin et al. (2001a) % PDIE	Doepel et al. (2004) % MP
Arg	4, 3	4, 6
His	2, 5–3, 2	2, 4
Ile	5, 0	5, 3
Leu	8, 8	8, 9
Lys	7, 3	7, 2
Met	2, 5	2, 5
Phe	4, 0–5, 0	5, 5
Thr	4, 0	5, 0
Val	5, 3	6, 5

### 3.2.1.5 INRA<sub>I</sub> – Italský

V Itálii se používá francouzský systém INRA (PDI) s několika drobnými úpravami.

Degradace proteinu v bacheru je hodnocena na principu techniky nylonových sáčků namísto rozpustnosti.

Modifikace koeficientu stravitelnosti aminokyselin mikrobiálního proteinu na 0.35; Modifikace rovnice odhaduje syntézu proteinu bacherovými bakteriemi na základě produkce v ATP, získaných fermentací sacharidů a proteinů v bacheru.

### 3.2.1.6 NKJ<sub>1985</sub> – Severské země

Severská pracovní skupina představila systém hodnocení proteinu pro přežvýkavce. V tomto systému hodnocení se používají jednotky AAT a PBV (Madsen, 1985). AAT představuje množství aminokyselin skutečně stravitelných v tenkém střevě a PBV je rovnováha proteinu v bachoru.

Severský systém se od ostatních liší ve třech aspektech:

- 1) systém má hodnotu, která vyjadřuje potřebu zásobení mikroorganismů proteinem
- 2) poměr aminokyselin v nedegradovaném proteinu je 0.85 v koncentrovaných krmivech a 0.65 pro objemná krmiva, kdy ostatní systémy používají faktor 1.0.
- 3) syntéza mikrobiálního proteinu je vázána na množství strávených sacharidů

Poměr dusíku aminokyselin v nedegradovatelném proteinu krmiva různých objemných krmiv s konstantou 0.65 je nejspíše příliš zjednodušeno ve vztahu k aktuální hodnotě; hodnota bude nejspíš silně kolísat mezi jednotlivými krmivy v závislosti na jejich složku dusíku aminokyselin v původním krmivu. Konstanta 1.0 přijatá ve většině systému hodnocení proteinu je hodně vysoká a vede k nadhodnocení přínosu dusíku aminokyselin z nedegradovaného proteinu krmiva.

Systém přímo doporučuje

- 1) potřebu aminokyselin přežvýkavce
- 2) potřebu dusíku mikroorganismy

Tyto hodnoty jsou stanoveny pro jednotlivá krmiva a mohou být v plánování krmné dávky přidávány samostatně, jako ostatní živiny v krmivech. Systém může být rozvinut o predikci absorpce jednotlivých aminokyselin jako AAT (methionin) či AAT (lyzin), jestliže je nová informace o požadavcích jednotlivých aminokyselin. AAT-PBV systém byl prověřen k predikci produkce jako lepší než DCP systém. Cílem je zavést systém do praxe během jednoho až pěti let to ale závisí na státech.

## Výpočet AAT a PBV

Přímé měření, AAT a PBV všech dostupných krmiv, na živých zvířatech je nereálná. Proto byly sestaveny rovnice, kterými se vyjádřilo AAT a PBV faktory, jež byli buď konstanty či proměnné, které se vztahují k analýze krmiva:

$$\text{AAT g/kg DM} = \text{g hrubého proteinu / kg DM} \times (1 - \text{stravitelnost v batoru}) \times$$
  
$$\text{poměr aminokyselin nedegradovaného proteinu krmiva} \times \text{stravitelnost}$$
  
$$\text{nedegradovatelných aminokyselin v tenkém střevě} + \text{g syntetizovaný mikrobiální}$$
  
$$\text{protein / kg DM} \times \text{poměr aminokyselin v mikrobiálním proteinu} \times \text{stravitelnost}$$
  
$$\text{mikrobiálních aminokyselin v tenkém střevě}$$

$$1. \text{ PBV g/kg DM} = \text{g hrubého proteinu / kg DM} \times \text{degradabilita} -$$
  
$$\text{protein produkováný mikroby / kg DM}$$

### 3.2.1.7 APD<sub>1984</sub>– Švýcarský

„Vstřebatelný protein v tenkém střevě“ systém zkrmovaného proteinu založen na francouzském systému PDI byl představen ve Švýcarsku v roce 1984. Hlavní rozdíl mezi francouzským a švýcarským systémem je, určování fixní dotace mikroorganismů dusíkem, ve vztahu k příjmu energie. Díky zjednodušení byl systém převeden do praxe bez nějakých větších problémů.

Potencionální produkce proteinu krmiva je vyjadřována pomocí hodnoty API. Hodnota API konkrétního krmiva se vypočítá následující rovnicí:

$$1. \text{ API} = 75,6 \text{ DOM} + (1 - D) \times 0,8 \text{ CP}$$

API (g) = Protein stravitelný v tenkém střevě

DOM (kg) = Stravitelná organická hmota

D = Degradovatelnost hrubého proteinu v batoru

CP (g) = Hrubý protein

Bylo předpokládáno, že aminokyseliny mikrobiálního proteinu vstřebané v tenkém střevě se vztahují ke stravitelné organické hmotě následovně:

1. Protein syntetizovaný mikroorganismy = 135 g/kg DOM
2. Poměr aminokyselin v mikrobiálním hrubém proteinu = 0.8
3. Vstřebatelnost aminokyselin = 0.7

## 4 NORMA USA (NRC 2001)

V USA se na hodnocení dusíkaté složky krmiva se pracuje dlouhodobě, přibližně od roku 1963. Vývoj přinesl komplexní systém vypracovaný pod vedením profesora Van Soesta, pracovníky této university nazvaný jako CNCPS, který se celosvětově začal nazývat „Cornell system“.

### 4.1 Cornellský systém (Chalupa, Fox., Sniffen aj.)

Cornellský systém (CNCPS) je systém hodnocení dusíkatých látek, jež využívá chemickou frakcionalizaci dle Licitry et al. (1996). Je to systém, který vznikl v USA na Cornellské univerzitě. V krmivu byly popsány jednotlivé frakce dusíkatých látek. Účelem vzniku byla predikce využitelnosti krmiv, nutričních požadavků zvířat, živiny přecházející do konečné produkce a užitkovosti zvířat. Aby byly zajištěny veškeré nutriční požadavky zvířete, tento systém využívá poznatky o přesném složení krmiva, trávení a metabolismu při dobrém zásobení živinami.

CNCPS se zabývá podrobnějším dělením frakcí hrubého proteinu (dříve dusíkatých látek) (v %), určují se dle rozpustnosti v detergentech:

#### 1) nebílkovinný dusík – A

Je to frakce, která se díky své rychlé degradovatelnosti a vstřebání, do tenkého střeva vůbec nedostane. Je to frakce skládající se z dusičnanů, peptidů, aminokyselin a amoniaku. Jedná se o dusík nebílkovinný, který se v kyselině trichloroctové nesráží a je rozpustný ve fosfo-borátovém pufru.

#### 2) rychle rozložitelný protein – B1

. Frakce obsahující globuliny a albuminy. V bacheru je velmi rychle degradovatelná. Kyselina trichloroctová ji sráží a je rozpustná ve fosfo-borátovém pufru. Omezené množství, jež se dostane do tenkého střeva, je 100 % stravitelné.

3) středně rozložitelný protein – B2

Frakce tvořena gluteliny a albuminy, jejich degradace v bachoru není tak vysoká jako u B1, ale to, co se dostane do tenkého střeva, tak je stravitelné až ze 100 %.

4) pomalu rozložitelný protein – B3

Je to frakce, jež se v neutrálním detergentu nerozpustí, ale v kyselém ano. Frakce je vázána na buněčnou stěnu, a proto je pomalu degradovaná. V tenkém střevě je trávena z 80 %.

5) Vázaný, nestravitelný protein – C

Poslední frakce C je díky svému složení s ligninem, Maillardovou vazbou vázaný protein a taninem v bachoru nedegradovatelný i v tenkém střevě. Je nerozpustná v kyselém detergentu. Při vyšším výskytu této frakce v krmné dávce dochází k nevyužití proteinu, který vyjde z těla ven výkaly.

Oproti stanovení frakcí proteinu jsou metody pro stanovení sacharidových frakcí standardizovány (Koukolová et al., 2015).

Tabulka č. 3: Rozdělení frakcí dusíkatých látek u krmiv (Licitra et al., 1996)

<b>Frakce</b>	<b>Popis</b>	<b>Klasifikace</b>
Nebílkovinný dusík	NPN	A
Rychle rozložitelný protein	BSP	B1
Středně rozložitelný protein	IP – NDIP	B2
Pomalu rozložitelný protein	NDIP – ADIP	B3
Vázaný (nestravitelný) protein	ADIP	C

A = nebílkovinný dusík, ADIP = dusík nerozpustný v kyselém detergentu, B1 = rychle rozložitelný protein, B2 = středně rozložitelný protein, B3 = pomalu rozložitelný protein, BSP = v pufru rozpustný protein, C = vázaný (nestravitelný) protein, IP = nerozpustný dusík, NDIP = dusík nerozpustný v neutrálním detergentu, NPN = nebílkovinný dusík.

## 4.2 Hodnocení proteinu krmiv dle NRC (2001)

### 4.2.1 Princip hodnocení proteinu krmiva

K úspěšnému předurčení toku jednotlivých proteinových frakcí, je zapotřebí stanovit zastoupení RDP a RUP složek v hrubém proteinu krmiva. Proto NRC (2001) pro tento účel využívána frakcionace hrubého proteinu krmiva, jež je založena na metodě polyesterových či nylonových sáčků, řadících se k tzv. „in situ“ metodám. Tímto přístupem se NRC (2001) systém hodnocení proteinu krmiv rozchází se systémem „Cornellským“, kterýžto používá frakcionaci hrubého proteinu krmiv na základě jeho chemického složení dle autorů Licitra et al. (1996). Metody „in situ“ jsou prováděny, tak že fixované sáčky s krmivem na speciálním nosiči jsou ruminální kanylou zaváděny do bacheru zvířete. Sáčky se z bacheru vyjímají postupně s různým odstupem času a jsou zaznamenávány úbytky proteinu. K vyhodnocení úbytku proteinu je užíváno regresního vztahu, jehož výsledkem jsou frakce A, B, a C, publikovaného v práci Orskova a McDonalda, 1979. Frakce A je rovna rychle degradovatelnému proteinu s určitým podílem neproteinového dusíkatého krmiva. Potenciálně degradovaný protein je vyjádřen frakcí B a parametr Kd vyjadřuje rychlost degradace této frakce. Odečtem frakce A + B od 100 % získáme hodnotu frakce C, která vypovídá o nedegradovatelné složce krmiva.

RDP a RUP složky nejsou konstantami pro dané krmivo. Mimo výše uvedené parametry regrese (A, B, C, Kd), závisí také rychlosti výtoku krmiva z bacheru Kp, která je funkcí DMI a složení krmné dávky. RUP složka tekoucí do dvanácterníku se zvyšuje při rychlejší pasáži přes bacher (Richter et al., 2009). Toto je odlišnost mezi NRC (2001) a PDI systémem (INRA 1988), který uvažuje ve výpočtech s konstantní rychlostí výtoku (6 %/h). Jednu ze základních frakcí MP pocházející z krmiva (MPFeed) získáme při zohlednění stravitelnosti zmiňované složky v tenkém střevě.

Syntéza mikrobiální hmoty v bacheru je limitována synchronizací dostupných dusíkatých látek a energie v bacheru. Při dostatku energie se dá hodnota MCP vypočítat na základě RDP (Richter et al., 2009). V případě, kdy je RDP v přebytku je syntéza MCP limitována dostupnou energií s parametrem TDN (veškeré stravitelné živiny). Výsledná hodnota MCP je při limitování jedním z parametrů (RDP, TDN) ta nižší.



Třetí frakce ECP je funkcí DMI. Při jejím započítání s vyšší konverze do MP získáme hodnotu endogenního mikrobiálního proteinu (MPEndo). Celkový tok mikrobiálního proteinu je tvořen součtem tří frakcí mikrobiálního proteinu (MPFeed, MPBact a MPEndo).

Mezi systémy NRC (2001) a INRA (1998) je hlavní rozdíl v tom, že celková hodnota MP u NRC (2001) není uváděna pro jednotlivá krmiva zvlášť, ale vypočítá se až pro celkovou krmnou dávku. Naproti tomu u systému INRA (1998) jsou analogy k MP (PDIN nebo PDIE) stanoveny pro jednotlivá krmiva. V databázi NRC (2001) jsou v některých případech uvedeny pouze ty hodnoty RUP, jež jsou vypočítány pro určité hodnoty DMI vztažené k jednotce tělesné hmotnosti (Richter et al., 2009).

#### **4.2.2 Postup při hodnocení proteinu krmiva**

Hodnocení proteinu krmiva a také krmné dávky je rozděleno do šesti kroků:

- 1 – analýza krmiva
- 2 – odečet parametrů A, B, C, Kd a RUPDigest z tabulek
- 3 – výpočet parametru Kp
- 4 – výpočet podílu RDP a RUP v CP krmiva
- 5 – výpočet toku MPFeed, MPBact, MPEndo a celkového MP

##### **1. Analýza krmiva**

Analýza krmiva u systému NRC (2001) stojí na filozofii Van Soesta (1994), jenž vychází z požadavků na veškeré parametry k výpočtu nutriční hodnoty krmiv, určenou chemickou analýzou. Níže jsou uvedeny stručné postupy chemických analýz.

V tabulkách krmiv je uvedena většina parametrů (A, B, C, Kd a RUPDigest) potřebných k výpočtu proteinu v krmné dávce. K výpočtu rychlosti pasáže (Kp) u suchých krmiv objemných je třeba znát obsah NDF. Pro stanovení MCP syntetizovaného z kompletní krmné dávky je zapotřebí sečíst obsah všech stravitelných látek (TDN) ve všech krmivech tvořící krmnou dávku. K takovému výpočtu je nutno

znát základní rozbor zahrnující stanovení ADL, NDF, CP, EE, ADICP, NDICP či NDFD. (Třináctý et al., 2009).

### **Seznam analýz:**

- a) CP (crude protein) – hrubý protein
- b) NDF (neutral detergent fibre) – neutrálně detergentní vláknina
- c) ADL (acid detergent lignin) – acido detergentní lignin
- d) EE (ether extract) – hrubý tuk
- e) Ash – hrubý popel
- f) NDICP (neutral detergent insoluble protein) – protein nerozpustný v neutrálním detergentu.
- g) ADICP (acid detergent insoluble protein) – protein nerozpustný v kyselém detergentu
- h) In vitro NDFD (in vitro neutral detergent fibre digestibility) – in vitro stravitelnost NDF (není nutná, ale zvyšuje přesnost výpočtu)
- a) CP (crude protein) – hrubý protein (dříve dusíkaté látky)**

Běžný organický rozbor (Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013).

#### **b) NDF (neutral detergent fibre) – neutrálně detergentní vláknina**

Jedná se o postup publikovaný Van Soestem v roce 1963. Dle této metodiky se standardně zbytek nespaluje. Při obsahu tuku vyšším 5 % se doporučuje vzorek extrahovat v acetonu před samotným stanovením NDF. Při použití bezdusíkatých filtračních sáčků od firmy Ankom je proces efektivnější.

#### **c) ADL (acid detergent lignin) – acidodetergentní lignin**

Vysušený vzorek pomeleme na 1 mm síť. Navážíme si 1 g vzorku, 100 ml roztoku kyselého detergentu. Ve varu udržujeme 60 minut pod zpětným chladičem, filtrace na skleněné fritě. Trojnásobně promyjeme vařící vodou a acetonem, následně vysušíme při 102 °C a zvážíme zbytek. Tímto končí původní část stanovení ADF, v dalším postupu je stanoven obsah ligninu. Vysušený vzorek zalijeme 72 % kyselinou sírovou na dobu 3 hodin. Následně promyjeme vodou, pak acetonem, abychom odstranily ze vzorku

vodu. Po vyprchání acetonu vzorek sušíme při 105 °C po dobu 2–3 hodin. Vzorek pak spálíme a zvážíme popel. Při použití bezdusíkatých filtračních sáčků od firmy Ankom je proces efektivnější.

**d) EE (Ether Extract) – tuk**

Běžný organický rozbor (Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013).

**e) Ash – popel**

Běžný organický rozbor (Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 152/2009 Sb. a nařízení komise (EU) č. 191/2013).

**f) NDICP (neutral detergent insoluble protein) – protein nerozpustný v neutrálním detergentu**

Vychází z popsaného stanovení NDF, kdy není použit siřičitan sodný. Princip stanovení byl publikován Licitrem et al. (1996). NDICP se stanovuje jako NDF, po promytí vodou je v případě použití filtru celý zmineralizován mokrou cestou. Pokud použijeme frit, tak je vymyt a následně je stanoven obsah dusíku destilační metodou. Při použití bezdusíkatých filtračních sáčků od firmy Ankom je proces efektivnější.

**ADICP (acid detergent insoluble protein) – protein nerozpustný v kyselém detergentu**

Princip stanovení publikovaný Licitrem et al. (1996). Stanovení ADICP je stejné jako stanovení ADF (popsaného v rámci stanovení ADL), po promytí vodou je v případě použití filtru celý zmineralizován mokrou cestou. Pokud použijeme frit, tak je vymyt a následně je stanoven obsah dusíku destilační metodou. Při použití bezdusíkatých filtračních sáčků od firmy Ankom je proces efektivnější.

## **In vitro NDFD (in vitro neutral detergent fibre digestibility) i vitro stravitelnost NDF**

Nově navržené postupy v předvídání TDN byly založeny na stanovení stravitelnosti sušiny metodou *in vitro* dle autorů Tilley a Terry (1963). Autory Van Soest a Wine (1966) byla tato metoda modifikována nahrazením kroku s pepsinem práním v neutrálním detergentu.

Pro *in vitro* NDFD stanovení je nyní používána standardizovaná metoda dle postupu od firmy Ankom s použitím zařízení Daisy II. Toto stanovení není nezbytné, jen je zpřesňující.

### **4.2.3 Problematika použití alfa-amylázy**

V práci autorů Robertsona a Van Soesta (1981) bylo použití alfa-amylázy testováno a následně byla zařazena do metody stanovení NDF (Van Soest et al., 1991). V současné době je použití alfa-amylázy v metodě pro stanovení NDF rutinní záležitostí (Třináctý et al., 2009).

### **4.2.4 Problematika použití siřičitanu sodného**

Použití siřičitanu sodného bylo popsáno (Třináctý et al., 2009) za účelem odstranění proteinu vázaného na vlákninu případně keratinu u živočišných krmiv. Siřičitan sodný byl standardně zařazen do publikace o poslední modifikaci metody dle Mertense (2002).

Díky tomu že metoda stanovení NDF při použití nylonových sáčků od firmy Ankom, která eliminuje problémy s filtrací, je otázka použití siřičitanu sodného stále otevřená. Metodou nylonových sáčků lze získat univerzálnější hodnoty NDF použitelné jak pro systém NRC 2001 tak i pro systém CNCPS (Třináctý et al., 2009). Při použití frit u velmi obtížně filtrovaných materiálů lze siřičitan sodný použít, avšak je nutné uvést to v metodice stanovení obsahu NDF.

### **4.2.5 Problematika korekce na obsah popel**

V USA bylo investováno velké úsilí do standardizace metod, nicméně se používají různé modifikace, při nichž je korekce výsledné hodnoty korigována na obsah popel nebo ne.

Korekce na popel je prováděna spíše jen při požadované vyšší přesnosti, a to u experimentálních účelů, V běžných provozních analýzách se korekce neprovádí.

#### **4.2.6 Problematika použití sáčkové metody firmy Ankom**

Firmou Ankom byla navržena cesta efektivnější analýzy s využitím filtračních sáčků v tlakové nádobě. Kolektivem autorů Vogel et al. (1999) a Ferreira et al. (2007) byly porovnány metody stanovení NDF konvenční a metoda sáčková od firmy Ankom. Při porovnání nebyly zaznamenány prokazatelné rozdíly mezi metodami, proto ji lze používat jako velmi efektivní alternativní metodu pro stanovení NDF (Třináctý et al., 2009).

#### **4.2.7 Shrnutí**

V systému NRC (2001) je stanovení NDF doporučeno jednoznačně použitím alfa-amylázy za přídavku siřičitanu sodného bez provádění korekce na obsah popele. S přídavkem siřičitanu je ovšem nutné stanovit též parametr NDICP určeného na korekci NDF na obsah vázaného proteinu ( $NDFN = NDF - NDICP$ ), a zajistit spárování NDF NDICP parametrů. Nelze však takto stanovené parametry použít v databázi krmiv pro CNCPS (Třináctý et al., 2009). Stanovení NDF a NDICP bez použití siřičitanu sodného se jeví jako vhodná alternativa. S tím že hodnota takto vypočítaná je shodná s hodnotou uvedenou výše. Takto získané parametry lze použít do databáze CNCPS.

## 5 ČESKÝ A SLOVENSKÝ SYSTÉM

(PETRÍKOVIČ A SOMMER, 2002)

### Charakteristika systému PDI

V České a Slovenské republice používaný systém hodnocení NL pro přežvýkavce, označovaný jako PDI systém, vychází z francouzského systému INRA, po němž převzal také zkrácený název. Zkratka PDI v překladu znamená protein skutečně stravitelný v tenkém střevě. Všechny nové systémy, a tedy i systém PDI, jsou založeny na porovnání přívodu živin s normou potřeby pro daný druh, resp. kategorii zvířat. Mezi oběma systémy však existuje rozdíl v tom, jak odvozují dostupnost živin pro účely proteosyntézy, kterými jsou, stejně jako u monogastrických zvířat, aminokyseliny. Zatímco systém PDI posuzuje úroveň krytí požadavku na přívod aminokyselin podle množství proteinu skutečně vstupujícího do tenkého střeva, systém SNL odvozuje toto množství z rozdílu mezi množstvím NL přijatým v krmivu a množstvím vyloučeným ve výkalech. Systém SNL nezahrnuje metabolické přeměny NL, ke kterým dochází v trávicím traktu, zejména v předžaludku. V systému PDI jsou naopak zakomponovány všechny nové poznatky o metabolických přeměnách NL, zejména o jejich degradovatelnosti v batoru a střevní stravitelnosti jejich nedegradovatelné části (Urban, 1997).

Převážnou část NL vstupujících do tenkého střeva tvoří mikrobiální NL, menší část představují nedegradované N-látky krmiva (Zeman et al., 2006). Vzájemný poměr obou zdrojů NL je významně ovlivňován degradovatelností NL krmiva (deg).

Degradovatelné NL představují tu část NL krmiva, která je po rozložení batorovými mikroorganismy převážně konvertována na mikrobiální NL. Systém PDI kalkuluje v případě degradovatelných N-látek krmiv s 90 %. Účinností konverze na mikrobiální NL, v případě NPN s účinností konverze 80 %. Potřeba degradovatelných NL pro účely mikrobiální proteosyntézy je ekvivalentní množství mikrobiálních NL opouštějících bator. Při nadbytečném přívodu degradovatelných NL se zvyšuje koncentrace čpavku a stoupá jeho absorpce a exkrece z batoru. Nutnost eliminovat nadbytečný čpavek má negativní dopad na bilanci energie. Nedostatek degradovatelných NL lze naopak snadno odstranit například doplněním zdrojů NPN

(např. močovinou). Nejsou-li degradovatelné NL v deficienci, závisí intenzita mikrobiální proteosyntézy na množství dostupné energie. Jejím měřítkem je v systému PDI množství organické hmoty fermentovatelné v bachoru (FOH). Z 1 kg FOH se v průměru vytvoří 145 g mikrobiálních NL, které jsou z 80 % tvořeny mikrobiálním proteinem a z 20 % nukleovými kyselinami.

Nedegradovatelné NL (NdNL) představují tu část NL krmiva, která není odbourána mikrobiální činností v bachoru a přechází dále do slezu, resp. tenkého střeva. Předpokládá se, že nedegradovatelné NL jsou tvořeny výhradně proteinem. Nedegradovatelné NL různých krmiv jsou v tenkém střevě tráveny s různou intenzitou. Hodnoty střevní stravitelnosti nedegradovaných NL krmiva (dsi) se mohou pohybovat v rozsahu od 55 % do 95 % a systém PDI tyto rozdíly předpokládá a zahrnuje je do kalkulace (Zeman et al., 2006).

### **Definování nutriční hodnoty krmiva v jednotkách PDI**

Ukazatel, na základě kterého je posuzována výživná hodnota krmiva, je protein skutečně stravitelný v tenkém střevě – PDI (Zeman a kol., 2006). Obsah PDI v krmné dávce je sumou dvou frakcí:

PDIA – nedegradovaný protein krmiva skutečně stravitelný v tenkém střevě

PDIM – mikrobiální protein skutečně stravitelný v tenkém střevě

Vzhledem k tomu, že každé krmivo poskytuje bachorovým mikroorganismům pro zajištění proteosyntézy jak degradovatelný protein, tak dostupnou energii, má ukazatel PDIM dvě formy:

PDIMN – množství mikrobiálního proteinu, které může být v bachoru syntetizováno z degradovaného proteinu krmiva, není-li obsah dostupné energie a dalších živin limitující

PDIME – množství mikrobiálního proteinu, které může být v bachoru syntetizováno z dostupné energie, není-li obsah degradovaného proteinu krmiva a dalších živin limitující

Protože je nutné uvažovat obě z výše uvedených možností, je nutriční hodnota krmiva charakterizována dvěma hodnotami PDI:

- 1)  $PDIA = NL \times 1,11 \times (1 - \text{deg}) \times dsi$
- 2)  $PDIMN = NL \times (1 - 1,11 (1 - \text{deg})) \times 0,9 \times 0,8 \times 0,8$
- 3)  $PDIME = FOH \times 0,145 \times 0,8 \times 0,8$
- 4)  $FOH = SOH - tuk - NdNL - FP$
- 5)  $FP = \text{kyselina mléčná} + TKM + \text{alkoholy}$
- 6)  $PDIN = PDIA + PDIMN$
- 7)  $PDIE = PDIA + PDIME$

Nížší z jednotek PDI (PDIN, nebo PDIE) vyjadřuje skutečnou nutriční hodnotu krmiva, zatímco vyšší představuje hodnotu potenciální, které lze dosáhnout kombinací s vhodným komplementárním krmivem. Při výpočtu obsahu PDI v krmné dávce jsou hodnoty PDIN a PDIE jednotlivých krmiv sečítány odděleně a skutečný obsah PDI odpovídá té z hodnot (PDIN nebo PDIE), jejíž součet je nižší (Urban, 1997). Porovnáním hodnot PDIN, která zahrnuje mikrobiální proteosyntézu z dostupné energie, lze rovněž zjistit rovnováhu mezi potřebou mikroorganismů a přívodem degradovatelných NL. Je-li příjem PDIN nejméně takový jako přívod PDIE, potom přívod degradovatelných NL odpovídá potřebě mikroorganismů. Vyšší hodnota PDIN naznačuje potřebu snížit přívod degradovatelných NL, naopak jeho nižší hodnota signalizuje potřebu zařadit krmivo s vyšší degradovatelností NL, nebo přímo zdroj nebilkovinných dusíkatých látek (NPN).

## 5.1 Inovace na Slovensku

Komplex dusíkatých látek je tvořen třemi frakcemi.

1. ve vodě rozpustnou
2. ve vodě nerozpustnou, ale v předžaludku degradovatelný
3. nedegradovatelné v předžaludku, ale stravitelné v tenkém střevě

Působením proteáz produkovaných bakteriemi se rozloží 70–80 % NL přijatých v krmivu na ketokyseliny a amoniak, jež jsou potom k dispozici k syntéze bakteriálních bílkovin. Syntéza bakteriálních bílkovin je závislá na dostatečném zásobení pohotové



energie. Na 100 g odbouraných sacharidů je syntetizováno 1,1 g mikrobiálních bílkovin. Rovnovážného stavu mez odbouráním a syntézou se dosahuje při obsahu cca 13 % NL a energie 5,9 MJ NEL v sušině krmné dávky. V případě, že je v krmivu nedostatek energie, se sníží bakteriální syntéza a přebytek amoniaku se musí vyloučit ledvinami a játry, což je velmi energeticky náročný proces. Proto zvýšená potřeba NL u vysokoužitkových dojnic nelze jen přidavkem dusíkatých látek. Zvýšením obsahu dusíkatých látek v sušině krmiva nad 16 % již bilanci dusíku nezlepšujeme, ale zvyšujeme přebytek amoniaku v batoru. Pro úhradu dusíkatých látek v dostatečné výši dosáhneme zvýšením obsahu krmiv s nízkou degradovatelností v batoru pokračujících rovnou do tenkého střeva, kde jsou stráveny. Snížení degradovatelnosti bílkovinných krmiv lze chemickou či fyzikální úpravou.

Vzhledem ke složitosti a současnému rychlému vývoji poznatků a standardizací v postupech se doporučuje:

1. Dále dodržovat zavedený systém PDI s následujícími úpravami:

- Nezměněný zůstává postup výpočtu PDIA, PDIMN, PDIN a PDIE.
- Hodnota NL v krmivu zůstane vyjádřena dvěma hodnotami, a to množstvím PDIN a PDIE (g/kg) v sušině
- Postup výpočtu výživné hodnoty krmných dávek se doporučuje se zahrnutím hodnoty PDIN (obsah PDI v krmné dávce = součtu PDIN krmiv)
- Při sestavování krmných dávek je vhodné volit kombinaci krmiv, tak aby rozdíl hodnot PDIN – PDIE byl co nejmenší

2. Zavést do systému zavést další doplňující ukazatele, které umožní komplexnější porovnání a zhodnocení dusíkatých látek v krmivu a následně v krmných dávkách.

$$8) NdNL (g) = NL (g) - (10,1 \times MJ ME)$$

$$9) vNL = (11,93 - (6,82 \times (NdNL / NL))) \times ME + 1,03 \times NdNL$$

$$10) RNB (g N) = (NL - vNL) / 6,25$$

RNB – bilance dusíku v batoru vyjadřuje rozdíl mezi množstvím NL v krmivech a vNL využitelných v tenkém střevě. RNB hodnota je kladná, pokud je množství dusíku vyšší, než jsou možnosti mikrobiální proteosyntézy v batoru. Naopak záporná je

hodnota RNB tehdy, kdy jsou možnosti proteosyntézy vyšší, než je množství dusíku v krmivu. Vhodnou kombinací krmiv je snaha o dosažení co nejvyšší bilance.

Negativní hodnota RNB by neměla klesnout pod -0,3 g N na 1 MJ ME. A při RNB hodnotě pozitivní do +50 g N nejsou způsobeny problémy, při rozsahu hodnot +50 g N až +100 g N můžou způsobit zvýšení hladiny močoviny v mléce, pokud hodnoty stoupnou nad +100 g N je potřeba krmnou dávku změnit.

### 5.1.1 Potřeba NL pro dojnice

Základní jednotkou spotřeby NL je potřeba skutečně stravitelných dusíkatých látek v tenkém střevě (PDI). Potřeba záchovy je závislá na živé hmotnosti (H) a přepočítává se na metabolickou velikost těla ( $H^{0,75}$ ) dojnic.

Tabulka č. 4 Potřeba NL pro dojnice

Živá hmotnost (H) kg	Metabolická velikost $H^{0,75}$	Potřeba záchovy g/den		
		PDI	vNL	NL
450	97,7	318	336	482
500	105,7	344	388	521
550	113,6	369	409	560
600	121,2	394	430	598
650	128,7	418	450	634
700	136,1	442	470	671

Potřeba NL na produkci mléka je závislá na obsahu tuku a bílkovin v mléce. Pro výpočet potřeby NL na produkci 1 kg mléka jsou doporučeny tyto rovnice:

$$11) PDI (g / kg) = 6,7 + 1,05 \times \% T + 11,5 \times \% B$$

$$12) vNL (g / kg) = 15,0 + 0,75 \times \% T + 20,0 \times \% B$$

$$13) NL (g / kg) = 14,0 + 0,75 \times \% T + 20,0 \times \% B$$

## 6 POROVNÁNÍ SYSTÉMŮ HODNOCENÍ KRMIV

### 6.1 Analýza krmiva

Na základě odlišností v analýzách krmiv u různých systémů nelze počítat s hodnotami krmiv jednoho systému pro výpočet krmné dávky v systému jiném. V tabulce č. 5 jsou vypsány hodnoty živin pro řepku, ječmen, kukuřičnou siláž a horkovzdušné úsušky vojtěšky podle českého systému PDI. V tabulce č. 6 jsou pro porovnání odlišností mezi systémy uvedeny hodnoty živin pro stejná krmiva jako v tabulce č. 5, ale podle amerického systému.

Tabulka č. 5 Hodnoty obsahu dle české normy obsahu živin krmiv

Krmiva	Sušina	CP	SNL	PDIA	PDIN	PDIE
	g	g	g	g	g	g
Řepka	1000	225,1	173,3	15,1	130,9	40,5
Ječmen	1000	120,7	88,1	31,1	79,8	101,3
Kukuřičná siláž	1000	93,6	58,9	20,4	57,5	71,8
Horkovzdušná vojtěška	1000	170	102	39,6	104,9	84,2

Tabulka č. 6 Hodnoty obsahu živin krmiv podle americké normy NRC (2001)

Krmiva objemná (Forages)	Parametry krmiv (Parameters of feeds)						
	NL v sušině (CP)	Sušina	A	B	C	Kd	RUP Digest
	(% DM)	%	(% CP)	(% CP)	(% CP)	(% .h <sup>-1</sup> )	(% CP)
Řepka	38,4	100	23,4	69,2	7,4	13,1	70
Ječmen	12,8	100	31,8	62,6	5,6	24,6	90
Kukuřice siláž	8,4	100	54,8	28,8	16,4	4,5	70
Alfalfa Meal, 17 % CP	17	100	27,5	66	6,2	6,7	75

Z tabulky 5 a 6 je vidět, že oba systémy jsou neslučitelné. Evropské systémy (český, slovenský, francouzský, italský, švýcarský, holandský, a další) vychází z hodnot stanovených v g/kg, kdežto americký systém vychází z obsahu živin stanovených v procentech, tzn. normy musí být stanoveny odlišně. Pro praktické stanovení krmných

dávek je potřeba, aby oba systémy byly kompletní tzn., že potřeba živin a obsahy živin v krmivech musí být ve stejných jednotkách (% nebo g). Z toho vyplývá nemožnost vyměňovat krmiva podle analýz.

## 7 ZÁVĚR

Základní rozdíly mezi systémy jsou v principu, zda lze hodnotit dusíkatou složku krmiv, anebo až celé krmné dávky. Český a Slovenský systém („PDI“) vychází z francouzského systému a provádí analýzu dusíkaté složky (PDIA, PDIM, PDIE, PDIN) na jednotlivá krmiva. Americký systém NRC (2001) posuzuje hodnotu dusíkaté složky až celé krmné dávky.

Pokud se týká prostého použití čísel pro krmiva, tak to nelze posoudit a musí se vždy použít celý systém (hodnocení krmiv i potřeba dusíkaté složky). Pokud systém od sebe oddělíme dopouštíme se chyby a nelze z jednotlivých částí hodnotit potřebu dojnic na produkci mléčného proteinu.

## 8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANONYM; *Protein* [online]. 2004 [cit. 2017-04-25]. Dostupné z:

<http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Nutrition/Protein/>

AUFRÉRE J., GRAVIOU D., DEMARQUILLY C., VÉRITÉ R., MICHALET-DOREAU B., CHAPOUTOT P.; *Aliments concentrés pour ruminants: prévision de la valeur azotée PDI à partir d'une méthode enzymatique standardisée.*; *INRA Prod. Amin.*, 1989, č. 2, s. 249–254

DOEPEL L., PACHECO D., KENNELLY J. J., HANIGAN M. D., LOPEZ I. F., LAPIERRE H.; *Milk protein synthesis as a function of amino acid supply.* *J. Dairy Science*, 2004, č. 8, s. 1279–1297

DREVJANY L., KOZEL V., PADRŮNĚK S.; *Holštýnský svět*. 1. vyd. Sedmihorky: Zea, 2004.

HVELPLUND T., MADSEN J.; *Protein system for ruminants.* *ICEL. Agr. Sci.* 1993, č. 7, s. 21–36

KOUKOLOVÁ M., KOUKOLOVÁ V., HOMOLKA P.; *Metodika: hodnocení dusíkatých látek horských pastevních porostů dle Cornellského systému.* Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i, 2015, s. 25

LICITRA G., HERNANDEZ T., VAN SOEST P. J.; *Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds;* *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1996, č. 57, s. 347–358

MICHALET-DOREU B., OULD-BAH M. Y.; *In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen; a review.* *Anim. Feed Sci. Tech.*, 1992, č. 40, s. 57–86

MICHALET-DOREU B., VERITÉ R.; CHAPOUTOT P.; *Méthodologie de mesure de la dégradabilité in sacco de l'azote des aliments dans le rumen;* *Bull. Tech. C. R. Z. V.*, 1987, č. 69, s.

Nářízení Komise (ES) č. 152/2009; O stanovení metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv. In: *Právní předpisy MZe* [online] 2017

[cit. 26.04.17] dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU\\_x2006-2010\\_narizeni-2009-152.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU_x2006-2010_narizeni-2009-152.html)

Nařízení Komise (ES) č. 68/2013; O katalogu pro krmné suroviny In: Právní předpisy MZe [online] 2017 [cit. 26.04.17] dostupné z:

[http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU\\_od-2011\\_narizeniEK-2013-68-krmiva.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU_od-2011_narizeniEK-2013-68-krmiva.html)

Nařízení Komise (ES) č. 691/2013; Metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení.

In: Právní předpisy MZe [online] 2017 [cit. 26.04.17] dostupné z:

[http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU\\_od-2011\\_narizeni-2013-691.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/predpisy-es-eu/Legislativa-EU_od-2011_narizeni-2013-691.html)

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (2001).; *Nutrient requirements of dairy cattle*. Washington, D. C.: National Academy Press 2001, s. 303–303

ORSKOV E. R., McDONALD I.; *The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage*; J. Agric. Sci., Camb., 1979, č. 92, s. 499–503

PETRIKOVIČ P., SOMMER A.; *Potreba živín pre hovädzí dobytok*; VÚŽV, vyd. Slovenský CHOV, 2002, č. 6, s. 8–11

RICHTER M., TŘINÁCTÝ J.; *Hodnocení proteinu krmiv pro dojnice dle systému INRA*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2009.

RICHTER M., TŘINÁCTÝ J.; *Použití systému NRC 2001 v oblasti hodnocení proteinu krmiv pro dojnice*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2009. 33 p.

RULQUIN H., PISULEWSKI P.M., VÉRITÉ R., GUINERD J.; *Milk production and composition as a function of postruminal lysine and methionine supply; a nutrient-response approach*. Livest. Prod. Sci., 1993, č. 37, s. 69–90

RUSSELL J.B., O'CONNOR J.D., FOX D.G., SOEST P.J., SNIFFEN C.J.; *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability*. Journal Animal science, 1992, č. 40, s. 3562–3577

SOMMER A., Čerešňáková Z., Frydrych Z., Králík O., Králíková Z., Krása A., Třináctý, J.; *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce*. 1. vyd. Pohořelice: ČZS VÚVZ, 1994. 196 p.

SONTAKKE U., PRUSTY S., KUNDU S.S., MONDAL G.; *Protein evaluation methods and systems in ruminants – Overview*. Dairy Cattle. 2013.

TILLEY J. M. A., TERRY R. A.; *A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crop*. *J. Brit. Grassland Soc.*, 1963

TŘINÁCTÝ J., RICHTER M., KŘÍŽOVÁ L.; *Hodnocení krmiv pro dojnice*. Pohořelice: AgroDigest, 2013.

TŘINÁCTÝ J., RICHTER M., KŘÍŽOVÁ L.; *Hodnocení energie krmiv pro dojnice dle NRC (2001)*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2009.

URBAN F.; *Chov dojeného skotu: [reprodukce, odchov, management, technologie, výživa]*. Praha: Apros, 1997.

VAN DUINKERKEN G., BLOK M. C., BANNINK A., CONE J. W., DIJKSTRA J., VAN VUUREN A. M., TAMMINGA S.; *Update of the Dutch protein evaluation system for ruminants: the DVE/OEB2010 system*. *Journal of Agricultural Science*, 2001, č. 149, s. 351–367.

VAN SOEST P.J.; *Nutritional ecology of the ruminant*, 2<sup>nd</sup> ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1994

ZEMAN L., DOLEŽAL P., KOPŘIVA A., MRKVICOVÁ E., PROCHÁZKOVÁ J., RYANT P., ZELENKA J.; *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Praha: Profi Press, c2006.

ZEMAN L., ŠIMEČEK K., KRÁSA A., ŠIMEK M., LOSSMANN J., TŘINÁCTÝ J., RUDOLFOVÁ Š., VESELÝ P., HÁP I., DOLEŽAL P., KRÁČMAR S., TVRZNÍK P., MICELE P., ZEMANOVÁ D., ŠIŠKE V.; *Katalog krmiv*. VÚVZ Pohořelice, 1995, s. 465



## 9 SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: PDI na dokončení růstu dojníc (Sommer et al., 1994).....	22
Tabulka č. 2: Potřeba esenciálních aminokyselin dle uvedených autorů .....	23
Tabulka č. 3: Rozdělení frakcí dusíkatých látek u krmiv (Licitra et al., 1996) .....	28
Tabulka č. 4 Potřeba NL pro dojnice .....	39
Tabulka č. 5 Hodnoty obsahu dle české normy obsahu živin krmiv .....	40
Tabulka č. 6 Hodnoty obsahu živin krmiv podle americké normy NRC (2001) .....	40