



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ OBSAHU VYBRANÝCH PRVKŮ V KRMIVECH PRO ZVÍŘATA

DETERMINATION OF THE RISK ELEMENTS AND OTHER ELEMENTS CONCENTRATION IN ANIMAL FEED

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jana Křehlíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1727/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Jana Křehlíková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a analýza přírodních látek
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Stanovení obsahu vybraných prvků v krmivech pro zvířata

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární rešerši k studované problematice.
2. Stanovte obsah rtuti a nutričně významných prvků v krmivu pro zvířata.
3. Zpracujte a vyhodnoťte získané výsledky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Jana Křehlíková
studentka

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Tato práce se zabývala stanovením vybraných mikroprvků, makroprvků a rizikových prvků v krmivech určených pro psy a kočky. Teoretická část popisuje výživu psů a koček a zaměřuje se na bezpečnost krmiv v rámci kontaminace rizikovými prvky. Dalším diskutovaným tématem je chemická analýza krmiv, konkrétně stanovení nutričně významných látek, prospěšných prvků a kontaminantů. Experimentální část pojednává o přípravě a rozkladu vzorků krmiva a následné analýze těchto vzorků pomocí metod ICP-OES a AAS. Zjištěné koncentrace sledovaných prvků v krmivech byly porovnány s normami pro krmivo vydanými Oborem veterinární medicíny a vyhláškou vydanou Ministerstvem zemědělství. V analyzovaných krmivech byl zjištěn nedostatečný obsah některých prvků. Obsah rizikových prvků v krmivech splňoval legislativní limity a nepředstavoval tak zdravotní riziko pro zvíře. Prvky, u kterých legislativa neupravuje maximální přípustný limit, se v krmivech vyskytovaly ve vysokých koncentracích, které by již mohly poškodit zdraví zvířete.

Abstract

This thesis deals with the determination of selected microelements and macroelements and risk elements in dog and cat food. The theoretical part describes the nutrition of dogs and cats and focuses on the safety of the food in the context of contamination with risk elements. Another topic discussed is the chemical analysis of feeds, specifically the determination of nutritionally important substances, beneficial elements, and contaminants. The experimental part deals with the preparation and digestion of feed samples and the subsequent analysis of these samples using ICP-OES and AAS methods. The detected concentrations of the elements of interest in the feeds were compared with the feed standards issued by the Department of Veterinary Medicine and the decree issued by the Ministry of Agriculture. The analysed feeds were found to be deficient in some elements. The content of the risk elements in the feed met the legal limits and did not pose a health risk to the animal. Elements for which the legislation does not provide a maximum permissible limit were present in the feed-in in high concentrations that could already harm the animal's health.

Klíčová slova:

Pes, kočka, krmivo, minerální látky, rizikové prvky, ICP-OES, AAS

Key words:

Dog, cat, food, minerals, risk elements, ICP-OES, AAS

KŘEHLÍKOVÁ, Jana. Stanovení obsahu vybraných prvků v krmivech pro zvířata [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139248>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování

Děkuji vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Pavlu Divišovi Ph.D. za odborné vedení, konzultace a trpělivost.

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Výživa koček a psů.....	8
2.1.1	Bílkoviny.....	8
2.1.2	Tuky.....	9
2.1.3	Sacharidy.....	9
2.1.4	Vitamíny.....	10
2.1.5	Minerály.....	13
2.1.6	Bezpečnost krmiv.....	18
2.2	Chemická analýza krmiv.....	26
2.2.1	Úprava vzorku.....	26
2.2.2	Stanovení obsahu vlhkosti a sušiny.....	26
2.2.3	Stanovení dusíkatých látek.....	26
2.2.4	Stanovení obsahu a kvality tuku.....	26
2.2.5	Stanovení obsahu BNLV a škrobu.....	27
2.2.6	Stanovení vlákniny.....	27
2.2.7	Stanovení energetické hodnoty krmiva.....	27
2.2.8	Stanovení obsahu a kvality popela.....	27
2.2.9	Elementární analýza.....	28
3	PRAKTICKÁ ČÁST.....	31
3.1	Přístroje a zařízení.....	31
3.2	Chemikálie.....	31
3.3	Analyzované vzorky.....	31
3.4	Pracovní postupy.....	31
3.4.1	Příprava vzorku k analýze.....	31
3.4.2	Stanovení prvků pomocí ICP-OES.....	32
3.4.3	Stanovení obsahu rtuti pomocí AMA 254.....	32
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	33
4.1	Stanovení makroprvků.....	33
4.2	Stanovení mikroprvků.....	36
4.3	Stanovení rizikových prvků.....	40

5	ZÁVĚR.....	44
6	POUŽITÁ LITERATURA	45
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	47

1 ÚVOD

Zvířetem v zájmovém chovu se rozumí zvíře, u kterého hospodářský efekt není hlavním účelem chovu. Tyto zvířata jsou chovaná v prostorách tomu určených, nebo v domácnosti. Chov slouží především zájmové činnosti člověka, nebo zvíře slouží člověku jako jeho společník. Chov zájmových zvířat je stále rozšiřujícím se trendem. V rámci EU bylo chováno v roce 2010 celkem 196 775 900 zájmových zvířat [6]. Největší podíl v tomto souboru mají právě kočky (počet kolem 64 448 500) a psi (60 226 400 chovaných kusů) [6], následuje ptactvo, malí savci a akvariální ryby. Oproti celé EU v České republice jsou nejvíce zastoupení psi (3 152 000), kočky jsou s počtem 1 750 00 a tedy druhou největší skupinou [6]. Vzhledem k vysokým počtům chovaných zvířat je problematika jejich výživy a krmení důležitým tématem. Z důvodu největšího zastoupení koček a psů jak v ČR tak i v EU se tato práce zaměřila právě na jejich správnou výživu.

Správná výživa je základem úspěšného chovu zvířat. Odvíjí se od ní kondice a celkový zdravotní stav zvířete. Je velmi důležité zajistit stravu s vyváženým poměrem živin dle jejich momentálního věku či zdravotního stavu. V posledním desetiletí se rozšířila výroba krmných směsí, tedy krmiv průmyslově vyrobených. Použití kompletních krmných směsí výrazně zjednodušuje systém krmení psů, jelikož je jednoduché je skladovat a zvířeti dávkovat. Pro formulaci vhodného složení krmiv je potřeba vycházet z vědeckých poznatků o živinách, trávení a metabolismu. Správná výživa musí zajistit dostatečný příjem energie, bílkovin, minerálů a vitamínů. Doporučené hodnoty vycházejí z vědeckých principů a zohledňují požadavky na krmení v praxi. Každé krmivo musí splňovat platnou legislativu určenou pro dané zvíře, tyto normy ale nezohledňují všechny poznatky jako například nedostatečná stavitelnost rostlinných krmiv u psů a koček. Krmiva také musí splňovat limity obsahu kontaminantů.

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku výživy koček a psů především na prospěšně prvky a prvky kontaminující krmivo. První část práce je věnovaná jednotlivým látkám důležitým pro výživu a rizikovým kovům, které krmiva mohou kontaminovat s přihlédnutím na legislativu a normy. Druhá část je věnovaná možnostem stanovení látek v krmivu, především prvků. Dále se zabývá přípravou vzorků pro analýzu i jednotlivými metodami.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Výživa koček a psů

Výživa je jedním z nejdůležitějších faktorů vnějšího prostředí, který má velký vliv na zvíře. Ovlivňuje jejich vývoj, reprodukci, kondici, výkonost, ale i zdravotní stav prostřednictvím imunitního systému. Pes i kočka, které jsou ve výborném kondičním stavu, jsou odolnější vůči nejrůznějším patologickým antigenům. Nekvalitní výživa způsobuje nejen řadu nutričních poruch, ale i predisponuje zvíře ke zvýšené náchylnosti k ostatním chorobám [10].

Látky, které zvíře přijímá a potřebuje pro svůj vývoj a výživu, se označují jako živiny. Živiny lze obecně rozdělit podle jejich zastupitelnosti v organismu, a to na esenciální a neesenciální. Mezi esenciální řadíme proteiny, lipidy, sacharidy, minerální látky a vitamíny. První tři vyjmenované složky jsou zároveň nositeli energie. Mezi živiny se taky řadí voda, která je pro organismus nezbytná [1].

2.1.1 Bílkoviny

Bílkoviny tvoří základ potravy. Mají funkci stavební, podpůrnou, transportní, katalytickou, regulační a obrannou. Bílkoviny se skládají z aminokyselin, které se dělí na esenciální, semiesenciální a neesenciální. Esenciální aminokyseliny si organismus nedokáže sám syntetizovat a musí je tedy přijímat v potravě. Mezi esenciální patří valin, methionin, lyzin, leucin, izoleucin, tryptofan, fenylalanin, treonin, histidin, arginin a taurin. Pro kočky je specifická esenciální právě aminokyselina taurin. Jedná se o sirmou aminokyselinu, která je tvořena z cysteinu a methioninu. Taurin se nachází v syrovém masu a mořských plodech [6]. Kočky v průběhu evoluce ztratili schopnost jeho syntézy a je proto nutné zajistit dostatečné množství v krmné dávce. Funkcí taurinu je konjugace žlučových kyselin. Nedostatek taurinu vede k degeneraci sítnice, dilatační kardiomyopatii a poruchám reprodukce [6].

Dle původu se dělí bílkoviny na živočišné a rostlinné. Pes i kočka se nadále řadí mezi masožravce, potrava by tedy měla být primárně složena z živočišných bílkovin. Psy dokážou využít rostlinné bílkoviny, ale využitelnější jsou pro ně živočišné. Kočky postrádají schopnost přeměňovat rostlinné bílkoviny a tuky.

Tabulka 1: Normy pro obsah bílkovin, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého zvířete
Bílkoviny	%	22,0	18,0	30,0	26,0
Taurin (suchá krmiva)	%	Není normováno	Není normováno	0,1	0,1
Taurin (konzervy)	%	Není normováno	Není normováno	0,2	0,2

2.1.2 Tuky

Tuky jsou nejvýznamnější zdroj energie a esenciálních mastných kyselin. Jsou také nosiči vitamínů rozpustných v tucích (A, D, E, K). V tucích obsažené mastné kyseliny se dělí na nasycené a nenasycené. U koček patří mezi esenciální kyseliny kyselina linolová, α -linolenová a arachidonová. Pro psa je nejdůležitější kyselina linolová, díky níž je organismus schopen syntetizovat další polynenasycené kyseliny. Její nedostatek se projevuje poruchami látkové výměny, poklesem růstové intenzity, poruchám zraku a dalším patologickým změnám [1]. Kyselina linolová je obsažena zejména v olejích rostlinného původu, v malých koncentracích je zastoupena v drůbežím a vepřovém tuku. Mezi další pro psa esenciální kyseliny patří kyselina arachidonová, kyselina α -linolenová a eikosapentaenová. Kyselina arachidonová je esenciální jen u vysoce ušlechtilých plemen psů, chybí jim D-6 systém desaturázy, stejně jako u koček [10]. Kyselina arachidonová se vyskytuje v malých koncentracích v některých tucích tkání živočišného původu [1]. Nedostatek esenciálních mastných kyselin způsobuje onemocnění kůže a srsti, náchylnosti k infekci a u koček může dojít až k zastavení reprodukčního cyklu [6].

Tabulka 2: Normy pro obsah tuků, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné energie v 1g sušiny [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého zvířete
Tuky	%	8,0	5,0	9,0	9,0
Kyselina linoleová	%	1,0	1,0	1,0	0,5
Kyselina arachidonová	%	Není normováno	Není normováno	0,1	0,02

2.1.3 Sacharidy

Z hlediska výživy jsou sacharidy především zdrojem pohotové energie. Pro volně žijící masožravce jsou méně významnou živinou. Přirozená krmiva masožravců obsahují jen zanedbatelné množství sacharidů, jako je např. glykogen. U průmyslově vyráběných krmiv se vyskytuje velké množství sacharidů, neboť je do krmiv přidáváno (zejména u levnějších krmiv) velké množství nejrůznějších cereálií a cereálních produktů. Protože psi ani kočky nemají dostatečně vyvinutý enzymový systém pro hydrolytické štěpení polysacharidů, musí se krmiva vhodně upravovat. I když jsou sacharidy pro psa i kočku postradatelné, jejich 20% zastoupení v krmné dávce zlepšuje využití bílkovin [10]. Při jejich přebytku v potravě se přeměňují v tuky a jsou uloženy pro eventuální pozdější potřebu energie.

Do krmiv se přidávají suroviny obsahující vlákninu, která u psa podporuje správnou funkci a zdraví gastrointestinálního traktu. Uvádí se, že zastoupení vlákniny v krmivu by mělo činit 2–3% [1]. Vyšší obsah vlákniny ale snižuje stravitelnost ostatních živin, naopak nízký se spojuje se sníženou funkcí peristaltiky střev.

2.1.4 Vitamíny

Z chemického hlediska jsou vitamíny nízkomolekulární organické sloučeniny, které se nacházejí v organismu v nepatrném množství, přesto je jejich funkce nepostradatelná. Patří mezi biokatalyzátory, které mají za úkol urychlovat a usměrňovat biochemické reakce. Rozlišujeme vitamíny rozpustné v tucích a rozpustné ve vodě. Vitamíny rozpustné v tucích jsou ukládány v játrech, a proto může docházet také k jejich přebytku. Oproti tomu rozpustné ve vodě jsou vylučovány močí a projevy jejich nedostatku se mohou provít již po několika dnech. S výjimkou vitamínů C a K si kočky vitamíny nedokážou samy syntetizovat, proto je potřeba je přijímat v potravě.

Zvýšenou potřebu vitamínů od standardní dávky je nutné zajistit v období růstu štěňat, v období reprodukce, ve druhé polovině březosti, v období laktace, při svalové práci a při výměně srsti. Zvýšenou potřebu vitamínů je vhodné zajistit i u starých psů, především vitamínů A, D a E [10].

2.1.4.1 Vitamíny rozpustné v tucích

Vitamin A

Tento vitamín se v přírodě nachází většinou ve formě prekurzorů, karotenů, z nichž nejvýznamnějším je β -karoten. Mezi fyziologické funkce tohoto vitamínu patří zrak, podílí se na regulaci buněčných membrán, je důležitý pro růst kostí, srsti, zubů a podílí se na regulaci a využití vápníku. [1]. Kočky si z β -karotenu nedokážou vitamín A syntetizovat [6]. Proto jsou kočky odkázané na jeho příjem v potravě. Nedostatek se projevuje poruchami růstu a zraku, vyvolává záněty sliznic a kůže, dochází k vypadávání srsti, nechutenství a k malátnosti. Nadbytek způsobuje vypadávání zubů a křehnutí kostí [6]. Dobrým zdroje vitamínu je rybí olej, játra, maso, vejce, mléko a máslo.

Vitamin D

Vitamín D je významný zejména pro kořata. Má rozhodující funkci v regulaci metabolismu vápníku a fosforu. Zvyšuje vstřebávání Ca a P v tenkém střevě, ovlivňuje resorpci fosfátů v ledvinách, ukládání vápenatých solí v osifikačních centrech kosti. Působí též na vstřebávání hořčiku a jeho ukládání v kostech [10]. Mezi zdroje vitamínu D patří rybí tuk, máslo a mléko. Při jeho nedostatku dochází ke špatnému ukládání vápníku v kostech, čímž vzniká křivice, deformace pánve, hrudníku, vbočená a vybočená kolena. Dále se také nedostatek projevuje kulháním a v pozdějším stádiu tetanickými křečemi. Naopak při nadbytku dochází k deformaci zubů a čelisti, ke kalcifikaci plic, ledvin a žaludku [6].

Vitamin E

Přirozeně se vyskytuje 8 forem vitamínu E (tokofenolu). V živočišných i rostlinných krmivech se vyskytuje především biologicky nejučinnější α -tokofenol. Tokofenoly jsou účinnými antioxidanty, jelikož brání oxidaci mastných kyselin, tuků a v tuku rozpustných látek. Vitamin E brání buňky před peroxidativním poškozením a zvyšuje detoxikační schopnost jater [10]. V plazmě je transportován jako součást lipoproteinů. Tokofenol není přednostně skladován v žádném orgánu, ale je pasivně ukládán v tukové tkáni. Zvýší-li se obsah vyšších mastných kyselin, zvýší se i požadavky na vitamín E [1]. Mezi dobré zdroje vitamínu patří pšeničné klíčky, sója, kukuřice, mléko, játra, mrkev, celer a žlutek. Nedostatek vitamínu způsobuje pomalé hojení ran, kožní problémy, chudokrevnost s projevy anemického syndromu, poruchy metabolismu svalů (dystrofií kosterního svalstva a bolest svalstva). Deficience také ovlivňuje reprodukci, přesněji způsobuje poruchy pohlavního cyklu, neplodnost a také opakované potracení plodů [10]. Nadměrný přívod se projevuje poškozením jater a rovněž poruchy plodnosti.

Vitamin K

Skupina vitaminů K patří z chemického hlediska k derivátům naftochinonu. Tato skupina má velmi úzký vztah ke srážení krve tím, že se zúčastňuje syntézy bílkovin (protrombin, prokonvertin a další), které jsou nutné pro srážení [10]. Mají také vztah k hojení ran. Deficience se u psa může projevit krvácivostí, ale dochází k tomu zřídka [1]. Převážná část potřeby vitaminu K je pokryta působením bakterií v tlustém střevě, které tento vitamin (konkrétně K₂) vytvářejí. Z toho důvodu může k nedostatku vitaminu dojít, pokud dochází k aplikaci antibiotik, které likvidují střevní mikroflóru [10].

Tabulka 3: Normy pro obsah vitaminu rozp. v tuku, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné energie v 1g sušiny [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého zvířete
Vitamin A	MJ/kg	5000	5000	10000	5000
Vitamin D	MJ/kg	500	500	1000	500
Vitamin E	MJ/kg	50	50	80	30
Vitamin K	mg/kg	Není stanoveno	Není Stanoveno	0,1	0,1

2.1.4.2 Vitaminy rozpustné ve vodě

Vitamin B1

Vitamin B1 (thiamin) je spjatý s metabolismem sacharidů a lipidů, a jeho potřeba je závislá na obsahu sacharidů v krmné dávce. Nedostatek způsobuje biochemické poruchy, které se projevují špatnou funkcí sacharidového metabolismu, kdy dochází k abnormálnímu hromadění meziproduktů metabolického cyklu. Klinické příznaky jsou anorexie, poruchy periferní neuropatie – svalová únava, křeče, parestézie, atrofie, bolest svalů a kloubů, nechutenství, nervové problémy (vliv na psychiku – podrážděnost nebo apatie, somnolence, letargie) [10]. Dobrymi zdroji vitaminu jsou maso, ledviny, játra, vaječný žloutek, pivovarské kvasnice, obilná zrna, luštěniny a ovesné vločky. Při výlučném zkrmování suchých, konzervovaných a tepelně upravených krmiv se jeho potřeba zvyšuje až třikrát [10].

Vitamin B2

Vitamin B2 (riboflavin) je složkou řady enzymů a zúčastňuje se metabolismu tuků, bílkovin a nukleových kyselin, působí jako přenašeč vodíku v dýchacím řetězci. Jeho funkce je spjata s činností CNS a podílí se na správné funkci pohlavních žláz [1]. Ovlivňuje také zrak, zejména vidění za šera [10]. Část potřeby riboflavinu může být pokryta bakteriální syntézou ve střevech [1]. Dobrymi zdroji vitaminu jsou obilné klíčky, syrovátka, droždí, ovesné vločky, zelenina, luštěniny, vnitřnosti a vejce. Nedostatek se projeví kožními problémy – dermatitidy, vypadávání srsti, drobné ragády na bukalní sliznici. Mezi další fyzické projevy patří parestézie končetin, počínající zákal čočky, hypoplazie varlat a vaječníku. Projevy mohou být také psychické jako je apatie nebo podrážděnost [10].

Vitamin B4

Vitamin B4, neboli cholin se v organismu syntetizuje z metioninu, proto je jeho obsah nezávislý na příjmu potravou [1]. Cholin je nepostradatelnou součástí metabolických procesů, je součástí fosfolipidů, je prekurzorem acetylcholinu, ovlivňuje využití mastných kyselin v játrech, má vztah k reprodukci a životaschopnosti mláďat. Deficience se projevuje celkovou slabostí, poruchami růstu, steatózou jater [10]. Vyskytuje se jak v živočišných, tak i v rostlinných produktech.

Vitamin B5

Vitamin B5 (kyselina pantothenová) je funkční skupinou koenzymu A a také součástí několika enzymů. Uvádí se, že hraje významnou roli v metabolismu sacharidů, tuků a aminokyselin [10]. Kyselina pantothenová zvyšuje odolnost proti infekčním onemocněním, hojení ran a jizev. Velmi dobrými zdroji této látky jsou otruby, droždí, sója, maso, mléko, vejce a vnitřnosti. Deficience se projevuje vypadáváním srsti, poruchami růstu a steatózou jater (tuková degradace jater) [10].

Vitamin B6

Tento vitamin se podílí na regulaci tělesných tekutin, dusíkovém a aminokyselinovém metabolismu, a také metabolismu tuků, sacharidů a některým minerálních látek. Je součástí aminotransferáz, dekarboxyláz a dalších enzymů u kterých tvoří prostetickou skupinu. K jeho nedostatku může dojít při užívání antibiotik, sulfonamidů, při vyšším obsahu tuků a cukrů v potravě anebo při dlouhodobém zkrmování vařené a méně hodnotné potravy [10]. Deficience způsobuje anémii, nevratné poškození ledvin, hubnutí, periferní neuritidu, svalové křeče, poruchy CNS, vyšší riziko infekce, dermatitidu, vypadávání srsti, psychické poruchy a úbytek váhy [10]. Velmi dobrými zdroji tohoto vitaminu jsou kvasnice, sója, obiloviny, játra, kuřecí maso, mléko, vejce a tuňák.

Vitamin B10, B11

Kyselina listová se vyskytuje převážně ve formě s kyselinou glutamovou. Ve své koenzymové formě vitamin katalyzuje přenašení a metabolismus jednonuhlíkatých zbytků kyseliny mravenčí a metylových skupin. Zúčastňuje se tvorby metioninu, cholinu a nukleových kyselin. Společně s vitaminem B12 má vliv na tvorbu erytrocytů [10]. Většina potřeby kyseliny listové je pravděpodobně pokryta bakteriální syntézou ve střevech [1]. Nedostatek nastává po delším podávání antibiotik a sulfonamidů. Dobrymi zdroji kyseliny listové jsou brambory, zelená zelenina, obilné slupky, mrkev, řepa, ledviny, játra a kvasnice. Nedostatek se projevuje anemií, leukémií, nechutenstvím, zvracením, průjemovité stolice a kožní poruchy s vypadáváním srsti [10].

Vitamin B12

Vitamin B12 jako jediný obsahuje stopový prvek, a to kobalt, proto je také známý pod pojmem kobalamin. Je zapojený do metabolismu tuků, sacharidů a do syntézy myelinu. Kobaltin se podílí také na krvetvorbě, činnosti nervového systému, činnosti jater, je nezbytný pro optimální průběh reprodukčních funkcí a příznivě ovlivňuje růst mláďat. Mimořádný význam má z hlediska bílkovinné výživy zvířat, protože se spolu s kyselinou listovou zúčastňují tvorby esenciální kyseliny metioninu [10]. Dobrymi zdroji vitaminu jsou vnitřnosti, maso, vejce, sója a kvasnice. Deficience se projevuje apatií, slabostí v končetinách, sníženými reflexy, chudokrevností, degenerativními změnami nervového systému se ztrátou koordinace pohybů, poruchy pohlavního cyklu, mokřavé záněty kůže a vypadávání srsti [10].

Vitamin PP

Kyselina nikotinová se v organismu rychle přeměňuje na fyziologicky aktivní derivát nikotinamid, který je složkou koenzymů nikotinamid adeninu a dinukleotidu, díky tomu hraje roli při oxido-redukčních reakcí. Vitamin je nezbytný pro tvorbu pohlavních hormonů, kortikosteroidů, inzulínu a

hormonů štítné žlázy [10]. Zúčastňuje se mnoha enzymových reakcí v metabolismu cukrů, tuků a bílkovin. Podílí se i na detoxikaci štěpných produktů bílkovin [10]. Potřeba kyseliny nikotinové se u psa odvíjí od hladiny tryptofanu v dietě. Dobrým zdrojem jsou kvasnice, mléko, vejce, hovězí játra, ledvinky, krůta, tuňák, hovězí, králík, kuře, hrách a ořechy [10]. Projevy deficience jsou záněty ústní dutiny s ulcerami, zápach z dutiny ústní, poruchy trávení, celková slabost, revmatické problémy, možná manifestace psychických změn, poruchy růstu a černý jazyk [10].

Vitamin H

Biotin ovlivňuje metabolismus glycidů, mastných kyselin a proteinů. Ovlivňuje kůži a kožní adnex. Je syntetizován střevní mikroflórou. V syrovém vaječném bílku se nachází avidin, který blokuje vstřebávání biotinu a také neutralizuje biotin v potravě, proto se doporučuje zkrmovat pouze tepelně upravený bílek [6]. Stejně tak může být nedostatek biotinu vyvolán podáváním antibiotik. Deficit vitamínu H se projevuje kožními poruchami s vypadáváním srsti. Biotin z obilovin je jen málo využitelný. Dobrymi zdroji jsou naopak ryby, játra, kvasnice i mléko [10]

Tabulka 4: Normy pro obsah vitamínu rozp. ve vodě, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné energie v 1g sušiny [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého zvířete
Vitamin B1	mg/kg	1,0	1,0	5,0	5,0
Vitamin B2	mg/kg	2,2	2,2	5,0	54,0
Vitamin B5	mg/kg	10	10	10	5
Vitamin PP	mg/kg	11,4	11,4	60	60
Vitamin B6	mg/kg	1,0	1,0	4,0	4,0
Vitamin B10,11	mg/kg	0,18	0,18	1,0	0,8
Vitamin H	mg/kg	0,18	0,18	0,07	0,07
Vitamin B12	mg/kg	0,02	0,02	0,02	0,02
Vitamin B4	mg/kg	1200	1200	2400	2400

2.1.5 Minerály

V krmivech se mohou a měli by se nacházet prospěšné prvky tzv. minerály. Uvádí se, že savci potřebují více než 18 minerálních látek [2], které jsou pro ně esenciální. Tyto látky jsou anorganického původu a mají nepostradatelnou funkci pro výživu zvířete. Minerální látky se dělí na makroprvky a mikroprvky. Pro zvíře je důležité, aby tyto prvky přijmulo v optimální množství, nedostatečný nebo naopak nadměrný příjem může již po krátké době způsobit patologické změny v organismu. Většina mikroprvků je v nadbytku toxická, proto je nutné při jejich dávkování dodržovat stanovené horní hranice.

2.1.5.1 Makroprvky

Makroprvky jsou chemické prvky vyskytující se v živých organismech ve větším množství a jsou důležité pro jejich výživu. Dodávají se ke krmivu v podobě minerálních směsí. Psi, stejně jako jiná zvířata, potřebují přijímat celkem sedm makroprvků – vápník, fosfor, hořčík, sodík, draslík, chlór a síru. [2]

Vápník

Vápník je nejrozšířenějším prvkem, který se vyskytuje převážně v kostech a zubech (99%) a také v nitrobuňčných tekutinách (1%) [3]. Vápník je jeden z minerálů, který je organismem vyžadován v nejvyšším množství. Tento prvek je nezbytný pro tvorbu kostí a zubů, při srážení krve a přenosu nervových vzruchů. [6]

Příliš vysoký obsah vápníku (nad 1,4%) v suchých krmivech pro dospělého psa může mít nepříznivý vliv na jeho zdraví [4]. Vysoký obsah může vést ke vzniku močových kamenů. Nadbytek také způsobuje zvýšenou tvorbu nerozpustného fosforečnanu vápenatého, to negativně ovlivňuje vstřebávání fosforu. Velké množství vápníku také ovlivňuje jiné důležité prvky jako je měď a zinek. Konkrétně způsobuje sekundární deficit mědi a zinku, což může mít neblahý vliv na srst. Na druhé straně nízký obsah vápníku v krmivu může vést k uvolňování vápníku ze skeletu psa.

Zdrojem vápníku je mléko, mléčné výrobky či luštěniny. Pro dodání vápníku se do krmiv přidávají pivovarské kvasnice, drcené vaječné skořápky a Aquain z mořské řasy Lithothamnion sp. Záleží, z jakého zdroje vápník v krmivu pochází, neboť různé sloučeniny mají různou vstřebatelnost. Např. uhličitan vápenatý je využitelný nanejvýš z 50%. Jiné sloučeniny jako citran neboli citrát vápenatý se vstřebává až ze 70-75% [7].

Fosfor

Fosfor obdobně jako vápník se podílí na tvorbě zubů a kostí. Působí v mnoha enzymových systémech a podílí se na přeměně energie v organismu [6]. Fosfor se nachází v krmivech obsahujících maso, masové výrobky, masovou moučku, ryby, vejce a semena olejnatých rostlin.

Obsah fosforu během let u zvířete kolísá a podle toho se přizpůsobují i krmiva. Proto je dobré zvířeti kupovat krmivo určené podle věku. Kočata potřebují až devětkrát více fosforu než dospělé kočky. Pokud dospělá kočka kojí, je také vhodné zvýšit obsah vápníku i fosforu. Tyto prvky jsou totiž nezbytné pro tvorbu mléka [5]. Nadbytek fosforu musí organismus eliminovat přes ledviny.

Funkce vápníku i fosforu v těle zvířete jsou úzce spojeny, a proto se tyto látky sledují komplexně. Ve více publikacích se proto udává potřebný optimální poměr vápník : fosfor. Kdyby fosfor v krmné dávce značně převyšoval obsah vápníku, vedlo by to k viditelnému nedostatku vápníku při tvoření kostí [1].

Hořčík

Hořčík hraje důležitou roli v metabolismu sodíku a draslíku, v energetickém metabolismu a v enzymových reakcích [6]. Hořčík se nachází v měkkých tkáních i v kostech. Jeho přítomnost je důležitá pro správnou funkci srdce, nervové tkáně i kostní svaloviny. Jeho funkce je také spjata s rovnováhou s vápníkem [1].

Deficience způsobuje nervové poruchy. Projevuje se svalovou slabostí, nechutenstvím a v pokročilém stádiu křečemi. Vlivem nedostatku hořčíku v těžších případech dochází ke špatnému vývinu a k usazování vápníku ve stěnách aorty. Nadbytek hořčíku vyvolává neurologické problémy a může způsobovat průjmy. Pro potřebné množství hořčíku se do krmiva přidávají kosti (moučka), pšeničné a ovesné otruby.

Draslík

Draslík je hlavním kationtem intracelulární tekutiny [6]. Je potřebný při přenosu nervových vzruchů, svalového metabolismu, hospodaření s vodou a acidobazické rovnováhy. Deficience způsobuje zeslabený růst, svalovou slabost, onemocnění srdce a ledvin. Nedostatek draslíku je vzácný, jelikož potrava živočišného původu by měla obsahovat přirozeně dostatečné množství tohoto minerálu. Draslík se v krmivech nachází v mase, rybách, drůbeži, celozrnných obilovinách a zelenině.

Sodík

Sodík je hlavním kationtem extracelulární tekutiny [6]. Přidává se do krmných směsí ve formě soli (chloridu sodného). Mimo chlorid sodný se sodík nachází také v mase, vaječném bílku a rybách. K deficienci sodíku proto dochází velmi zřídka.

Nedostatek sodíku způsobuje nechutenství, pokles využitelnosti bílkovin a poruchy acidobazické rovnováhy. Nadbytek způsobuje neklid, průjmy a křeče.

Chlór

Chlór se v krmné směsi vyskytuje ve formě soli (chlorid sodný). Chlór je často zmiňován v souvislosti se sodíkem. Dohromady tvoří většinu elektrolytů v těle, podílejí se na regulaci osmotického tlaku a udržování pH [1].

Nadbytek chlóru způsobuje intoxikaci solí, a pokles aniontové a kationtové bilance. Deficience narušuje trávení v žaludku a poruchy acidobazické rovnováhy. Nedostatek také může způsobovat svalové křeče. Je velmi nepravděpodobné, že by normální strava neobsahovala dostatek obou minerálů (sodíku a chlóru). Nedostatek by se projevil mdlobami, špatným vývinem, dehydratací, ztrátou srsti a suchou pokožkou.

Síra

Síra se v organismu nejvíce nachází v sirmých aminokyselinách (methionin a cystein). Síra je důležitá pro syntézu několika specificky působících látek. Také je významná pro detoxikaci těžkých kovů a aromatických organických látek [10]. Síra se účastní tvorby podpůrných tkání, chrupavek a kostí.

Nadbytek způsobuje snížení využitelnosti mědi a dochází k poklesu kationtové a aniontové bilance. Naopak deficience způsobuje nedostatečnou syntézu keratinu, to vede k celkovému zhoršení kvality srsti. Nedostatek také způsobuje poruchy plodnosti. Přirozenými zdroji síry jsou řepa, řepkový extrahovaný šrot, pšeničné otruby, krmné kvasnice, vejce anebo kukuřičný gluten.

Tabulka 5: Normy pro obsah makroprvků, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné energie v 1g sušiny [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého
Vápník	%	1,1	0,6	1,0	0,6
Fosfor	%	0,9	0,5	0,8	0,5
Hořčík	%	0,04	0,04	0,08	0,04
Draslík	%	0,6	0,6	0,6	0,6
Sodík	%	0,3	0,06	0,5	0,2
Chlór	%	0,45	0,09	0,3	0,3

2.1.5.2 Mikroprvky

Uvádí se, že více než 20 stopových prvků je esenciálních, ale jen pár z nich má pro nás praktický význam v potřebě dávkování [1]. Denní potřeba mikroprvků se pohybuje řádově v µg až mg. Mezi tyto prvky řadíme železo, mangan, měď, kobalt, jód, zinek a selen.

Železo

Železo je důležitým fyziologickým prvkem. V organismu je nutný pro funkci enzymů, hemoglobinu a myoglobinu. V krvi se železo (v myoglobinu a hemoglobinu) podílí na přenosu kyslíku krví. Železo se v těle nachází ve dvou formách, a to jako dvoumocné a trojmocné. Uvádí se, že například pes lépe vstřebává železo z živočišných krmiv než z rostlinných [1].

Nedostatek železa způsobuje anémii a oslabenou imunitu. Otrava pak typicky nastává například při předávkování potravinovými doplňky. Nadbytek v organismu je charakterizován sníženým příjmem krmiv a následným úbytkem hmotnosti. Pokud množství železa v krvi převyší množství transportních bílkovin, zůstává železo ve volné formě a následně dochází ke tvorbě kyslíkových radikálů. Dochází hlavně k poškození jater a ledvin (největší kumulace železa).

U některých plemen psů existuje genetické predispozice ke kumulaci železa v těle [9]. Železo je vstřebáváno přes trávicí trakt. Nevylučuje se běžnými cestami, pouze krvácením a odlupováním buněk (kůže, sliznice). Pro potřebné množství železa se do krmiv přidávají játra, ledviny, maso, ryby a uhličitán železnatý.

Mangan

Mangan se v těle živočichů nachází v množství 0,2 – 0,4 mg/kg [1]. Nejvíce manganu se nachází v ledvinách, játrech, ledvinách a sliznici břišní. Mangan působí jako nespecifický aktivátor mnoha enzymových systémů. Mění vlastnosti krevních buněk, a tedy ovlivňuje krvetvorbu, ale neovlivňuje množství hemoglobinu v krvi. Podílí se na tvorbě kostí a má specifický lipotvorný účinek. Mangan je v organismu skladována v kostní dřeni a játrech. Vylučuje se převážně žlučí.

Deficience manganu se projevuje poruchy reprodukce, nervozitou, narušenou tvorbou kostní tkáně a narušeným metabolismem tuků. Mangan se do průmyslových krmiv přidává ve formě oxidu manganičitého. Zdroji manganu jsou také obiloviny, semena, ořechy, vejce a zelená zelenina.

Měď

Zastoupení mědi v organismu je poměrně nízké a s věkem kolísá. Mladá zvířata mají vyšší obsah než zvířata dospělá [1]. Měď se účastí metabolismu železa a tvorbě pigmentu melaninu (pigment srsti a pokožky) [6]. Měď je také důležitá při vývoji kostí, podílí se na ochranných funkcích organismu, krvetvorbě a je součástí některých enzymů, které se podílejí na odbourávání oxidačního stresu. Nedostatek mědi způsobuje anémii, snížení vstřebávání železa a deformaci kostí [1].

Měď je esenciální kov a toxicky působí až po předávkování. Otravy mědi mohou být akutní i chronické. Otrava bývá většinou způsobena požitím fungicidu (skalice modré, hydroxidu měďnatého a oxichloridu mědi). U psů je známa obdoba Wilsonovy choroby u lidí, což je následek genetické mutace. Tato choroba způsobuje to, že se měď nevylučuje, chybí nebo je málo funkční transportní mechanismus, který ji převádí z jater do žluči. Nastává kumulace mědi v organismu (v játrech a mozku) a kolem 1-7 let věku se rozvíjí příznaky otravy neurologického rázu [9].

Nadbytek mědi v organismu poškozuje jaterní buňky, červené krvinky, eventuálně při chronické otravě i neurony. Při nadbytku se měď již naváže a volná měď se účastní Fentonovy reakce, při které vzniká hydroxylový radikál [9]. Uvolněné kyslíkové radikály následně poškozují buňky.

Pro psy je dobrým zdrojem mědi slezina, játra, ledviny a kosterní svalovina. Do krmiva se měď také přidává ve formě pentahydrátu síranu měďnatého.

Kobalt

Obsah kobaltu se s přibývajícím věkem jedince zvyšuje. Množství v organismu se pohybuje v rozmezí od 30 do 60 mg/kg živé hmotnosti [1]. Nejvyšší koncentrace kobaltu se nachází v játrech, slezině, ledvinách a kostech. Kobalt zasahuje do metabolismu bílkovin, cukrů a minerálních látek. Je také aktivátorem některých enzymů a významným faktorem optimálního využití jodu (při jeho nízké hladině v krvi). Funkce kobaltu je spojována s dalšími prvky, jako je železo a měď. U psů se kobalt podílí na složení vitamínu B12 (střevní mikroflóra využívá kobalt pro syntézu kobalaminu). Je důležité u psů zajistit dostatek příjmu vitamínu B12.

Hlavním projevem nedostatku je anemie, hubnutí, poruchy růstu srsti, potraty a poruchy nervové soustavy [1]. Velmi dobrým zdrojem kobaltu jsou ryby.

Jód

Jediná potvrzená funkce jódu je jeho přítomnost při syntéze hormonu tyroxinu, tedy hormonu štítné žlázy. Tyroxiny regulují všeobecnou míru metabolismu v těle a jsou důležité pro vývin mozku. Jód se do krmiv dodává ve formě jodidu draselného.

Nedostatek jódu se projevuje jako tzv. vole nebo struma, vede k řídnutí srsti, abnormalitám kůže, kosternímu pokroucení, k apatii a může také dojít k narušení metabolismu vápníku. V nadměrných dávkách působí toxicky. Nadbytek se projevuje horečkou, hubnutím a nechutenstvím [6].

Zinek

Jedná se o jeden z nejdůležitějších prvků v těle, je součástí více než 200 enzymů a je nutný pro vývoj nervového systému či pro funkci imunitního systému. Rozdělení zinku v organismu je poměrně nerovnoměrné. Největší koncentrace zinku se nachází v kostní tkáni, játrech, kůži a srsti. S přibývajícím věkem se koncentrace zinku zvyšuje v kostech, v kůži a srsti se naopak snižuje [1]. V krmivech se zinek nachází v mase, vejcích, kvasnicích, rybách anebo přidavkem monohydrátu síranu zinečnatého.

Zinek má funkci enzymatickou a je důležitý pro syntézu bílkovin. Zinek působí na růst, vývin a reprodukční schopnosti, krvetvorbu a je nezbytnou složkou mnoha enzymů. Velmi důležitý je i pro funkci prostaty a pro správné fungování slinivky a inzulínu. V publikacích je též zmiňována důležitost zinku pro syntézu DNA [1]. Nedostatek zinku způsobuje pomalý růst, atrofování varlat a deformaci kostí. Uvádí se, že spojitost mezi zinkem a stavem kůže a srsti je u psů markantní [1].

Absorpce zinku je ovlivněna mědí a železem, na receptorech spolu o vstup soutěží. Vyučuje se hlavně žlučí/vykaly, ale částečně i močí a mlékem. Stejně jako u mědi se otrava projeví až po předávkování. Zinek s mědí a železem soutěží i při transportu krví a na enzymech. Výsledkem nadbytku zinku je nedostatek mědi, a tím i nedostatek krvinek a špatný přenos kyslíku. Snižuje také množství enzymů (obsahující měď), ty se účastní obrany proti oxidačnímu stresu. Zinek sám nevyvolává vznik velkého množství volných radikálů, ale znemožňuje odbourávání těchto částic. Finálnímu poškození tkání je způsobeno tedy oxidačním stresem a nefunkčností enzymů.

Selen

Selen je v organismu nejvíce zastoupen ve svalech, játrech, kůži a kostech. Selen je součástí enzymu glutathion peroxidázy, který chrání membrány buněk [6]. Selen má vztah k vitamínu E, a k aminokyselinám obsahujícím síru. Nejvýznamnější funkcí selenu je funkce stavebního prvku buněčných enzymů důležitých pro ochranu buněk proti poškození vedlejšími produkty metabolismu.

Selen se velmi dobře absorbuje trávicím tlakem. Ukládá se do jater, sleziny, ledvin a také do vlasů/chlupů. Při předávkování selen nahrazuje síru v aminokyselinách cysteinu a methioninu, což vede ke změně tvaru a funkci proteinů a enzymů [9]. Dále také vyvolává vznik kyslíkových radikálů a poškozuje oxidoredukční děje v organismu, což vede k poklesu tvorby energie a k buněčné smrti.

Projevem nedostatku u psa je kosterní dystrofie a dystrofie srdečního svalu [1]. Nedostatek selenu a vitamínu E vede ke svalové slabosti, poškození svalů a srdce, nechutenství a v konečné fázi smrt. Prakticky psům, kteří jsou krmeni komerčními krmivy, nedostatek selenu nehrozí, poněvadž tento minerál má v přísadách bohaté zastoupení. Pro dostatečný obsah selenu se do krmiva přidávají ryby, vejce, játra a seleničitan sodný.

Tabulka 6: Normy pro obsah mikroprvků, stanoveny pro krmnou dávku s energetickým obsahem 3,5 - 4,0 kcal výměnné energie v 1g sušiny [15]

Výživná látka	Množství, v přepočtu na sušinu krmné dávky	Psi, pro růst a reprodukci	Psi, pro podporu organismu dospělého zvířete	Kočky, pro růst a reprodukci	Kočky, pro podporu organismu dospělého zvířete
Železo	mg/kg	80	80	100	80
Mangan	mg/kg	5,0	5,0	10,0	7,5
Měď	mg/kg	7,3	7,3	5,0	5,0
Jód	mg/kg	1,5	1,5	1,0	0,35
Zinek	mg/kg	120	120	75	75
Selen	mg/kg	0,1	0,1	0,1	0,1

2.1.6 Bezpečnost krmiv

Prospěšné prvky jsou do krmiv přidávány záměrně, narozdíl od toxických. Toxické prvky se mohou do krmiv dostat několika způsoby. Krmiva mohou být kontaminována například v průběhu výrobního procesu. Tyto znečišťující látky mohou být primárního (exogenní) nebo sekundárního (endogenní) původu. Exogenní kontaminanty se do krmiv dostávají z okolního prostředí např. při výrobě. Endogenní vznikají chemickými reakcemi a vlivem dalších fyzikálních nebo biologických faktorů uvnitř výrobku při jeho výrobě.

Obecně řečeno, dlouhodobé vystavení těžkým kovům může mít karcinogenní účinky či poškozovat nervovou a oběhovou soustavu zvířete. Obecným mechanismem účinků těžkých kovů je vazba na -SH skupiny aminokyselin a bílkovin a změna funkce proteinů, enzymů a receptoru. Dále také je známo, že tvoří volné kyslíkové radikály a následně poškozují buňky oxidativním stresem.

2.1.6.1 Arsen

Arsen je toxický polokovový prvek tzv. metaloid. Sloučeniny arsenu jsou vysoce jedovaté, a to jak akutně, tak i chronicky. Některé jsou též prokázanými mutageny, karcinogeny a teratogeny. Za netoxický bývá považován kovový arsen, který je však v organismu přeměněn v toxické sloučeniny.

Absorpce a distribuce arsenu u savců probíhá v trojmocné formě nebo ve formě pětímocné v gastrointestinálním traktu (GIT). Je prokázano, že se arsenitan vstřebává rychleji než arseničnan [9]. Orálním podáním jsou značně absorbované methylované formy As (MMA, DMA).

Arsenobetain, známý jako „rybí arsen“, má díky své hojné přítomnosti v rybách a jiných mořských živočiších rychlou absorpci v GIT. Je zjištěno, že u myši a potkanů se značně v GITu absorbuje arsenocholin, který se hojně vyskytuje v mořských plodech [9]. Absorpce perkutánní cestou je nízká a lze konstatovat, že hlavní cesta absorpce arsenu je GIT.

Toxicita arsenu

Někteří savci jsou schopni methylovat anorganický arsen, takže toxické účinky se mohou lišit podle druhu zkoumaného organismu. Další aspektem je variace rychlosti a rozsah methylace uvnitř druhů, což způsobuje, že metabolismus As je velice nepředvídatelný a složitý. V současné době víme o dvou možných metabolických cestách As u savců. První je přeměna pětimocného As na trojmocný. Ve druhé pak trojmocný podléhá methylaci na formu mono-, di a trimethylových derivátů za přítomnosti glutathionu jako kofaktoru a S-adenosyl metioninu jako donoru methylové skupiny.

Toxicita je spojena s mnoha druhy poruch, včetně srdečních, jaterních, nervových, gastrointestinálních onemocnění, která vedou k vysoké úmrtnosti. To způsobuje alosterická inhibice pyruvát dehydrogenázy, která katalyzuje oxidaci pyruvátu na acetyl-CoA pomocí NAD⁺. V důsledku toho je energetický systém buňky přerušen a vede k apoptóze.

Arsen může také způsobovat nedostatek thiaminu (vitamin B1), může zabránit jeho dostupnosti a také může způsobit laktátovou acidózu zvýšením obsahu kyseliny mléčné. Dále může dojít ke genotoxicitě inhibicí mechanismu opravy DNA. Arsen také vyvolává oxidační stres, který vede ke karcinogenezi.

Pětimocný arsen nahrazuje fosfátovou skupinu několika metabolickými cestami z důvodu jeho strukturní podobnosti. Toto nahrazení vznikne, jestliže arseničnan reaguje s glukózou. As^V odděluje syntézu ATP vazbou s ADP v přítomnosti sukcinátu v mitochondrii a vytváří nestabilní sloučeniny, které nakonec způsobí snížení uvolňování ATP.

Sloučeniny arsenitanu se vážou zejména na enzymy s thiolovými skupinami, což jsou některé sloučeniny obsahují glutathion a aminokyseliny, v jejichž struktuře se vyskytuje síra (např. cystein), vykazující vysokou afinitu pro As^{III}. Inhibice PDH, který je důležitým prekurzorem acetyl-CoA, nelimituje pouze tvorbu ATP v řetězci transportu elektronů, ale také brání produkci meziproduktů glukoneogeneze.

Akutní otrava arsenu závisí od cesty expozice a dávky. Akutní otrava po požití se projevuje kovovou chutí v ústech, škrábáním a pálením v hltanu. Následuje úporné zvracení a prudké bolesti v břiše, později se dostaví průjem spojený s dehydratací. Dále se dostaví křeče, anurie, zrychlený nepravidelný tep, paralýza a smrt. Tyto příznaky jsou důsledkem primárního působení na nervový systém. Oxid arsenitý a arsenitany poškozují zažívací ústrojí a jsou neurotoxické. Např. LD₅₀ pro krysy jsou pro oxid arsenitý 5 mg/kg a pro kyselinu 4-aminofenylarseničnou 165 mg/kg [11].

Příznaky chronické otravy u zvířat mohou být pestré. Jsou to například projevy podráždění kůže až zápalu kůže, které mohou vést k tvorbě vředů. Častá bývá ztráta chlupů a tmavé zabarvení kůže. Asi v jedné třetině případů se chronická otrava projevuje zažívacími problémy. Při otravách arsenem jsou důležité nervové příznaky – bolest kloubů, snížená citlivost na některých místech těla, mravenčení a palčivé bolesti v končetinách. Velký význam mají karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky. Připisují se mu nádory kožní, plic a vedlejších nosních dutin.

2.1.6.2 Kadmium

Kadmium je toxický kovový prvek. Nejčastěji se kadmium vyskytuje ve dvojmocné formě Cd²⁺ (např. v oxid, chlorid nebo síran kademnatý). Kadmium nemá fyziologickou úlohu v žádném živém organismu. Je to tetratogen, karcinogen a mutagen.

Kadmium se do těla zvířete může dostat několika cestami. V trávicím traktu se váže až 29 % kadmia, které přijme. Největší podíl z celkového obsahu kadmia v organismu je v játrech, kde je při syntéze methalothioneinu vázáno 80–90 % kadmia, kde již nemůže negativně působit v organismu. V krvi koluje jen málo kadmia, ale je nebezpečné pro vyvíjející se plod. Kadmium je v trávicím traktu absorbováno v žaludku prostřednictvím (Ca^{2+}) kanálu. Ve střevech se kadmium absorbuje v enterocytech pomocí přenašeče železa (Fe^{2+}). Po absorpci je kadmium vázáno na metalothioneiny a distribuováno především do ledvin a jater. V organismu nepodléhá žádným metabolickým procesům a zůstává vázáno na makromolekuly a proteiny.

Toxicita kadmia

Toxicita kadmia se projevuje výhradně tehdy, když nahrazuje zinek. Je to dáno podobnou elektronegativitou a podobnými chemickými vlastnostmi. Kadmium nahrazuje zinek v životně důležitých proteinech. K tomu přispívá stejný mechanismus příjmu a transportu těchto dvou kovů v organismu. Iontový poloměr Zn je nižší než poloměr Cd, a to při společném vstupu kovů ulehčuje zinku, aby přednostně obsadil cílová místa v proteinech, a tím celkově snižoval toxicitu kadmia. Příkladem toxicity je zablokování inzulínového cyklu, které může působit vážné zdravotní komplikace.

Kadmium se také váže na -SH skupiny v různých proteinech a enzymů. Působí jako antagonist vápníku, a tak depozice kadmia v kostech vede k jejich odvápnění. Kadmium zvyšuje produkci volných radikálů, a to vede k oxidaci nukleových kyselin a změnám mechanismů opravy DNA. Dalším rizikovým faktorem u kadmia je mimořádná kumulace jedu. Přijaté kadmium se z organismu vylučuje jen velmi pomalu a obtížně. Poločas rozpadu kadmia v různých orgánech savců je 7–40 let. Kadmium se nejvíce koncentruje v ledvinách v menší míře v játrech, kde může přetrvávat až desítky let.

Mezi hlavní zdravotní projevy chronické expozice patří nejen poškození ledvin a jater ale také osteoporóza, anémie, zvýšené riziko srdečních a cévních onemocnění a zvýšené riziko rakoviny.

Akutní otravy kadmia jsou velmi vážné. Při jednorázové vysoké dávce dostávají se bolesti břicha, průjemy a zvracení. Při vyšších dávkách způsobuje zvýšení krevního tlaku, selhání ledvin a rozklad červených krvinek.

2.1.6.3 Olovo

Olovo je těžký kov, který je toxický již při velmi nízkých dávkách. Olovo se kumuluje v játrech a ledvinách. Také snižuje množství hemoglobinu v erythrocytech, čímž dochází k anémii a dále poškozuje periferní a centrální nervový systém. Olovo vykazuje multi-systémovou tkáňovou toxicitu, která může vyvolat neurologické, kardiovaskulární, renální, gastrointestinální, hematologické a reprodukční poruchy. Dále byly také pozorovány genotoxické a karcinogenní účinky olova [8].

Toxicita olova

Toxicita olova se dá vysvětlit jeho interakcí s různými enzymovými systémy. Olovo se váže na -SH skupiny proteinů v enzymech a tím je deaktivuje. Také způsobuje deaktivaci substituováním jiných esenciálních kovových iontů. Z toho důvodu mohou být téměř všechny orgány nebo systémy zasaženy. Je prokázáno široké spektrum biologických účinků olova např. účinky na biosyntézu hemi, na nervový systém, na ledviny, reprodukční, imunitní a kardiovaskulární systém a na játra, endokrinní žlázy i GIT.

Dlouhodobým exponováním nízkými koncentracemi olova jsou nekritičtější účinky na biosyntézu hemi, erytropoézu, nervový systém a krevní tlak. Působením na nervový systém způsobuje změny v chování. Nevyložené absorbované olovo je v organismu distribuováno mezi tři hlavní cílové složky: krev, měkké tkáně a mineralizující tkáň.

Akutní otravy olova jsou poměrně vzácné a vznikají obvykle vdechováním par olova, případně po použití vysoce kontaminované potravy. Typickými příznaky otravy olovem je bledost v oblasti tlamy a čumáku, zácpa, nechť k jídlu a kolika. Dalšími příznaky je anémie, křeče, chronická nefritida, poškození mozku a poruchy centrální nervové soustavy.

2.1.6.4 Rtuť

Anorganická forma rtuti se ukládá v ledvinách a narušuje jejich činnost. Větší riziko způsobuje organická forma (především methylrtuť), která se vstřebává trávicím traktem a rozváděna krví po celém těle.

Kovová (elementární) rtuť

Kovová rtuť se z trávicího traktu téměř nevstřebává, požití proto není nebezpečné. Nebezpečné jsou výpary, které se velmi snadno vstřebávají do těla přes plíce. Rtuť se následně ukládá v ledvinách, kde přetrvává měsíce a způsobuje poškození. Rtuť také přechází do mozku a působí vážné nervové poruchy. Rtuť je nebezpečná pro laktující zvířata a jejich mláďata. U kovové rtuti lze při pitvě nalézt edém plic a zápal plic a dále je možné pozorovat degenerativní změny mozku.

Anorganická sloučenina rtuti

Patří mezi ně např. HgCl_2 , $\text{Hg}(\text{CN})_2$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. Všechny anorganické sloučeniny rtuti poškozují ledviny a při orálním požití leptají sliznici trávicího traktu. Vykazují nižší účinky na nervový systém a do mateřského mléka s také vylučuje ve stopovém množství. U postižených zvířat lze pozorovat zánět až nekrózu v trávicím traktu.

Organické sloučeniny rtuti

Některé organické formy rtuti (methoxyethylrtuť a arylrtuťné sloučeniny) se v těle chovají stejně jako anorganické sloučeniny, jelikož nejsou moc stabilní a uvolňují rtuťné nebo rtuťnaté ionty.

Mezi organické sloučeniny s pevnou vazbou mezi rtuťí a organickou částí patří methyl- a ethylrtuť, u nichž celá sloučenina působí jako toxin. Organická rtuť nepoškozuje vstupní sliznice trávicího traktu, ale kumuluje se v nervových tkání. Mohou také poškozovat ledviny. Dále také tyto sloučeniny přecházejí do mateřského mléka do přes placentu, jsou tedy nebezpečné pro kojící/březí zvířata. U otravy organickou rtuťí jsou pozorovány degenerativní změny v mozku, u všech forem rtuti je patrné zvětšení a blednutí ledvin.

Toxicita rtuti

Mechanismem účinku rtuti ve všech jejích podobách je kovalentní vazba na -SH a -COOH skupiny v aminokyselinách, přičemž důsledkem je špatná činnost enzymů, receptorů a dalších buněčných komponent, které jsou bílkovinné povahy. Toxické účinky rtuti jsou přímo úměrně závislé na době expozice. Rtuť inhibuje funkci bílkovin a enzymů. Nejčastější navázání prvku je na -SH skupinu. Navázáním na buněčné membrány brání transportu živin do buňky a z buňky. Z důvodu narušenému přenosu sacharidů do mozku, dochází k poškození mozku. Narušit buněčný přenos může rtuť ještě tím, že způsobí větší propustnost buněčné membrány pro draslíkové ionty, čímž dochází k porušení nervového signálu do mozku. Cílovým postihnutým orgánem je tedy mozek.

Při orální expozici záleží na přijímané formě. Anorganické sloučeniny jsou méně toxické než ty organické (methylrtuť se z 90-95 % absorbuje v GIT [8]) z důvodu rozpustnosti v lipidech. Do tkání se dostává za 4 dny, do mozku 5-6 dní. Po požití leptavých anorganických sloučenin následuje bolest břicha, koliky, nechutenství, zvracení, průjem, dehydratace až šok. Později se rozvíjejí neurologické příznaky jako důsledek selhání ledvin a kumulace nevyločených metabolitů v mozku. Příznaky otravy organickou rtuťí jsou známy jen u savců [9]. Methylrtuť dobře překonává hematoencefalickou bariéru a dostává se tak do CNS a mozku. Působením na mozek (především část mozeček) a celý

nervový systém nejdříve narušuje koordinaci svalů, třesy až křeče, vede k rozmazanému vidění, malátnosti a parestézii. Později se objevuje ataxie, úplná ztráta schopnosti kontroly a koordinace svalů, slepota. U koček je popisována vokalizace [9]. Dalším projevem jsou našedlé/namodralé dásně.

V nejvážnějších případech může živočich upadnout do kómatu a zemřít. Podle studií je prenatální vývoj jedinců ještě náchylnější na toxické účinky než na běžného dospělého jedince. Rtuť přechází i přes placentu, tudíž při chronické expozici se toxické účinky nemusí projevit u matky, ale u jejího plodu. Vystavení rtuti při vývoje plodu způsobuje abnormální vývoj neuronů. To vede k neuropatii, mentální retardaci a paralýze,

2.1.6.5 Legislativa pro oblast krmiv

Krmiva pro zvířata v zájmovém chovu musí projít schválení Ústředím kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (Odbor zemědělské inspekce). Výrobce těchto krmiv také podléhá schválení Státní veterinární správy ČR a je povinen respektovat hygienické požadavky krmiva, které jsou dána Nařízením EP a Rady č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě [16].

Množství veškerých kontaminantů je hlídáno příslušnými státními orgány, které dbají na dodržování minimálních limitů, které mohou být v krmivech. Nejdůležitější právní předpisy v České republice jsou zákony, které se mohou dále provádět vyhláškami. Zveřejňují se ve Sbírce zákonů a jsou závazné pro fyzické, tak právnické osoby ČR, a to dnem nabytí účinnosti.

Legislativní krmivářské předpisy ES obsahují obecnou legislativu a speciální. Speciální legislativou jsou myšleny právní předpisy, které mají poměrně úzký vztah k některým konkrétní krmivářské problematice.

Platná legislativa pro výrobu a distribuci krmiv [16]:

- Zákon o krmivech č. 91/1996 Sb., ve znění pozdějších předpisů: stanoví některé požadavky pro výrobu, dovoz, používání, balení, označování, dopravu a uvádění na trh krmiv, doplňkových látek a premixů a pravomoc a působnost orgánu odborného dozoru.
- Vyhláška č. 356/2008 provázející zákon o krmivech.
- Nařízení EP a Rady č. 183/2005, kterým se stanoví požadavky na hygienu krmiv.
- Nařízení EP a Rady č. 767/2009 o uvádění na trh a používání krmiv: v roce 2009 došlo ke změně požadavků na označování krmiv, a sice k jejich zpřísnění vydáním Nařízení EP a Rady č.767/2009 dne 13.7.2009. Nařízení stanovuje pravidla pro uvádění krmiv pro zvířata v zájmovém chovu na trh a jejich používání v rámci celého Společenství, včetně požadavků na označování, balení a obchodní úpravu. Platnost tohoto nařízení je upravena Nařízením komise (EU) č.454/2010 a byla stanovena na 31. srpna 2011.
- Nařízení EP a Rady č. 1831/2003 o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě.
- Nařízení EP a Rady č. 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech.

Právní předpisy zahrnují látky a produkty, jejichž výskyt v krmivech je nežádoucí a je v krmivech limitován. Jedná se o jednu z nejobtížnějších legislativních problematik se značnou mírou rizika v případě nedodržení a přímou vazbou na zemědělskou prvovýrobu. Neúplný seznam hlavních krmných surovin obsahovala směrnice evropské rady 96/25/ES o oběhu a užití krmných surovin. Bylo prokázáno, že doplňkové látky mohou obsahovat nežádoucí látky. Proto byla rozšířena oblast působnosti směrnice také o doplňkové látky. Nežádoucí látky mohou být přítomny v produktech určených ke krmení zvířat pouze za podmínek stanovených směrnicí 1999/29/ES a nemohou být použity pro účely krmení zvířat jiným způsobem. O nežádoucích látkách v krmivech upravuje a doplňuje

směrnice evropského parlamentu a rady 2002/32/ES ze dne 7. května 2002 o nežádoucích látkách v krmivech v platném znění, kterou dále upravují a doplňují další směrnice a nařízení komise.

Pro doplňkové látky a premixy platí nařízení č. 1831/2003, o doplňkových látkách. Je obecnou uvozující legislativní normou pro doplňkové látky. Novými nařízeními jsou průběžně aktualizovány již doplňkové látky, které byly povoleny podle nařízení 1831/2003, nebo jsou novými nařízením povolovány nové doplňkové látky.

Tabulka 7: přípustné hodnoty arsenu *Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*

Krmivo	Max. obsah v mg/kg (ppm) krmiva o vlhkosti 12 %
Krmné suroviny	2
<i>S výjimkou:</i>	
- Travní moučky, vojtěškové a jetelové moučky, sušených cukrovarských řízků a sušených melasových cukrovarských řízků	4
- Palmojadrových expelerů	4
- Fosfátů a vápenatých mořských řas	10
- Uhličitanu vápenatého	15
- Oxidu hořečnatého	20
- Krmiv získaných ze zpracování ryb nebo jiných mořských živočichů	15
- Moučky z mořských řas a krmných surovin získaných z mořských řas	40
Kompletní krmiva	2
Doplňková krmiva	4
<i>S výjimkou:</i>	
- Minerálních krmiv	12

Tabulka 8: přípustné hodnoty kadmia *Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*

Krmivo	Max. obsah v mg/kg (ppm) krmiva o vlhkosti 12 %
Krmné suroviny rostlinného původu	1
Krmné suroviny živočišného původu,	2
Krmné suroviny minerálního původu	2
<i>S výjimkou:</i>	
- fosfátů	10
Doplňkové látky, které patří funkční skupiny sloučeniny stopových prvků	10
<i>S výjimkou</i>	
- Oxidu měďnatého, oxidu manganatého, oxidu zinečnatého a síranu manganatého monohdrátů	30
Doplňkové látky, které patří funkční skupiny pojiva a protispěškové látky	2
Premixy	15
Minerální krmiva	
- s obsahem fosforu <7 %	5
- s obsahem fosforu ≥ 7%	0,75 na 1 % fosforu s maximem 7,5
Doplňková krmiva pro domácí zvířata	2
Ostatní doplňková krmiva	0,5
Kompletních krmiv pro domácí zvířata	2

Tabulka 9: přípustné hodnoty olova *Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*

Krmivo	Max. obsah v mg/kg (ppm) krmiva o vlhkosti 12 %
Krmné suroviny	10
<i>S výjimkou:</i>	
- fosfátů a vápenatých mořských řas	15
- uhličitanu vápenatého	20
- kvasnic	5
Doplňkové látky, které patří do funkční skupiny sloučeniny stopových prvků	100
<i>S výjimkou:</i>	
- oxidu zinečnatého	400
- oxidu manganatého, uhličitanu železnatého,	200
Doplňkové látky, které patří funkční skupiny pojiva a protispěškové látky	30
Premixy	200
Doplňková krmiva	10
<i>S výjimkou</i>	
- minerálních krmiv	15
Kompletní krmiva	5

Tabulka 10: Přípustné hodnoty rtuti *Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*

Krmivo	Max. obsah v mg/kg (ppm) krmiva o vlhkosti 12 %
Krmné suroviny	0,1
<i>S výjimkou:</i>	
Krmiv ze zpracovaných ryb nebo jiných mořských živočichů	0,5
Uhličitanu vápenatého	0,3
Kompletní krmiva	0,1
<i>S výjimkou:</i>	
Kompletní krmiva pro psy a kočky	0,4
Doplňková krmiva	0,2

2.2 Chemická analýza krmiv

Obsah živin v krmivech lze stanovit pomocí chemické analýzy. Základní způsob chemické analýzy krmiv představuje tzv. Weendská analýza, která zahrnuje stanovení následujících živin **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**:

- Vlhkost a sušina
- Dusíkaté látky
- Tuk
- Vlákna
- Popel
- Výpočet bezdusíkatých látek výtažkových
- Výpočet organické hmoty

V současnosti tato analýza v krmiv často nestačí požadavkům na optimalizaci výživy zvířat. Je proto nutné podrobnější analýzy jednotlivých živin – škrobu, cukrů, aminokyselin, mastných kyselin, minerálních látek a vitamínů. Důležitá je taky analýza bezpečnosti krmiv, tedy analýza nežádoucích látek a mikroorganismů.

2.2.1 Úprava vzorku

Důležitým krokem k získání spolehlivých výsledků patří bezpochyby správný odběr a příprava vzorku k vlastnímu stanovení. Většina analytických metod se řadí k destruktivním, tedy k těm, kdy je potřeba vzorek před analýzou rozložit a převést do roztoku. Další možností může být mineralizace na mokré či suché cestě, tato metoda je používána k rozkladu organických vzorků.

2.2.2 Stanovení obsahu vlhkosti a sušiny

Sušina vyjadřuje podíl všech složek krmiva. Je prvotním a základním parametrem krmiva. Tato hodnota ovlivňuje možnosti skladování i jeho příjem zvířaty. Vlhkost lze stanovit vázkově, jako hmotnostní úbytek po vysušení vzorku při teplotě 103 ± 2 °C [17]. Obsah vody v krmivu lze stanovit titračně podle Karl – Fishera. Tato metoda je založena na reakci vody v prostředí bezvodého methanolu trisložkovým činidlem obsahující oxid siřičitý, jód a bezvodý pyridin.

2.2.3 Stanovení dusíkatých látek

Dusíkaté látky jsou všechny látky obsažené v krmivech, které v molekule obsahují dusík. Dusíkaté látky dělíme na bílkovinné a nebílkovinné. Mezi nebílkovinné látky patří např. aminokyseliny, amidy, aminy, alkaloidy, glykosidy obsahující dusík, nukleové kyseliny, purinové a pyrimidinové báze, amonné soli, amoniak, močovina, dusičnany a dusitany. Obsah dusíkatých látek v krmivech se stanovuje metodou podle Kjeldahla. Principem je zmineralizování vzorku varem v koncentrované kyselině sírové za přídavku katalyzátoru. Dusíkaté látky se tak převedou na síran amonný. Z něj se následně v alkalickém prostředí uvolní amoniak, který se předdestiluje do předlohy s kyselinou sírovou. Zreagované množství kyseliny sírové se stanoví titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného. Obsah dusíku se následně přepočítává na obsah hrubých bílkovin vynásobením faktorem 6,25 nebo jiným faktorem podle druhu krmiva. Právě obsah hrubých bílkovin se udává na obalech od krmiv.

2.2.4 Stanovení obsahu a kvality tuku

V krmivech se tuk stanovuje podle Soxhleta jako zbytek získaný po oddestilování a vysušení dietherového nebo petroletherového extraktu. Tento zbytek obsahuje jak základní tuku (triacylglyceroly), tak také mastné kyseliny, vosky, fosfolipidy, lipoproteiny, chlorofyl, steroly aj. Rychlejší metodou je stanovení tuku na přístroji Ankom [17]. Vzorek krmiva se zde umístí do

speciálního sáčku a promývá se petroletherem. Obsah tuku se vypočítá na základě váhového rozdílu vzorku před a po extrakci.

Pro hodnocení kvality tuku se používá více metod, které hodnotí různé ukazatele kvality. Nejběžnějšími ukazateli jsou číslo kyselosti a peroxidové číslo. Číslo kyselosti udává obsah volných mastných kyselin v tuku a vyjadřuje se jako hmotnost hydroxidu draselného v mg potřebná k neutralizaci 1 g tuku [18]. Principem stanovení je rozpuštění vzorku za horka v ethanolu a titrování roztoku hydroxidem sodným na fenolftalein. Peroxidové číslo udává množství peroxidů v tuku, které jsou schopny oxidovat jodid na jod za podmínek metody [18]. Principem je stanovení vyloučeného jodu titrací roztokem thiosíranu.

2.2.5 Stanovení obsahu BNLV a škrobu

Sacharidy se v krmivech stanovují jako bezdusíkaté látky výťažkové (BNLV) a vláknina [17]. BNLV zahrnují nestrukturální sacharidy (škrob a cukry). Obsah se stanovuje nepřímo, výpočtem z údajů získaných chemickou analýzou. Výpočty se provádí z výsledků stanovených základních živin (dusíkatých látek, tuku, vlákniny, popela a z obsahu vlhkosti).

Stanovení škrobu v krmivech nepatří mezi metody základní Weendenské analýzy [17]. Nejčastěji se používá polarimetrická metoda podle Ewerse, kde se škrob převede na rozpustnou formu působením kyseliny chlorovodíkové a stanoví se polarimetricky [18].

2.2.6 Stanovení vlákniny

Vláknina zahrnuje směs celulózy, hemicelulózy a nestravitelných inkrustujících látek jako je např. lignin. Vláknina se stanovuje metodou podle Hennberga a Stohmana. Principem této metody je působení 5% roztoku kyseliny sírové a 5% roztoku hydroxidu sodného na vzorek. Takto se balastní látky převedou do roztoku a získaná vláknina se stanovuje vážkově.

Stanovením neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a acidotergní vlákniny (ADF) se přesněji určí skutečný obsah vlákniny v krmivech. Toto stanovení nepatří do základní Weendenské analýzy [17]. NDF zahrnuje celkový obsah celulózy, hemicelulózy a ligninu. ADF obsahuje celulózu a lignin. V současné době se ke stanovení všech druhů vlákniny používá např. přístroj Ankom [17].

2.2.7 Stanovení energetické hodnoty krmiva

Obsah energie je důležitým parametrem výživné hodnoty krmiva. Energie se vyjadřuje v kilojoulech. Energetickou hodnotu krmiva je možné měřit na kalorimetru. Pokud se energie stanovuje jako spalné teplo, které se uvolní při spálení krmiva v kalorimetrické bombě, tak se tato energie označuje jako brutto energie (BE) a představuje celkový obsah energie v krmivu [17].

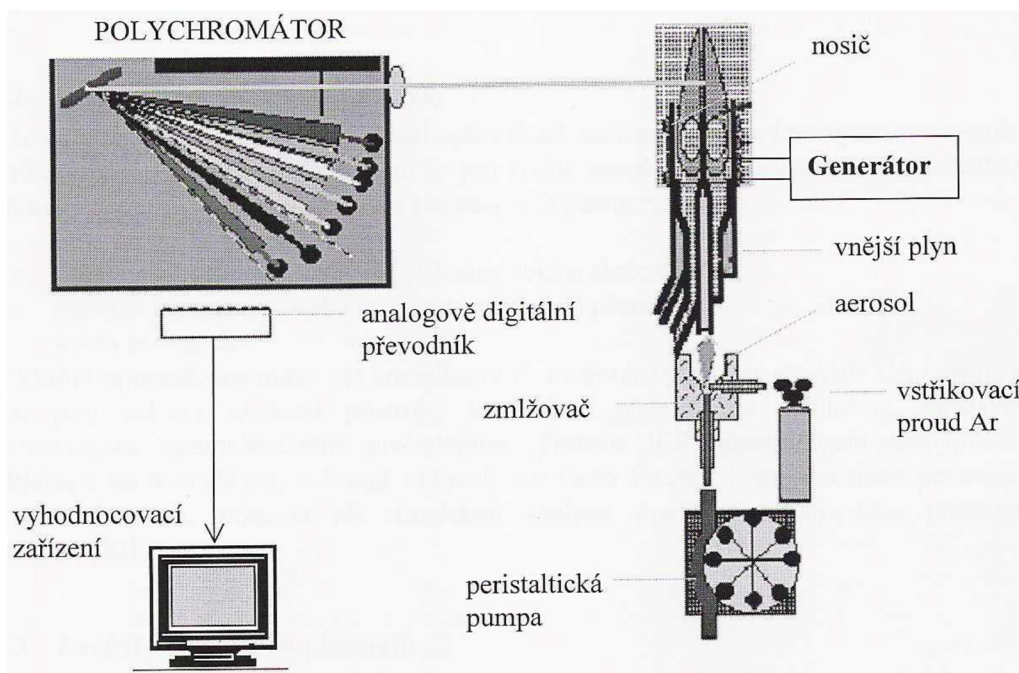
2.2.8 Stanovení obsahu a kvality popela

Popel obsahuje využitelné minerální látky (podíl rozpustný v kyselině chlorovodíkové) a nevyužitelné, tzv. písek (podíl nerozpustný v kyselině chlorovodíkové). Odečtením obsahu popela od celkového obsahu sušiny dostaneme obsah organické hmoty krmiva [17]. Popel se získá po mineralizaci za sucha, která se provádí v platinovém nebo porcelánovém kelímku. Vzorek se nejprve zuhelnatí a následně žihá při teplotách kolem 600°C i vyšších. Pro stanovení minerálních látek se popel rozpouští v 10% kyselině chlorovodíkové. Po oddělení rozpustného podílu je tento podíl zanalyzován příslušnou analytickou technikou.

2.2.9 Elementární analýza

2.2.9.1 Optická emisní spektrometrie s ionizací v indukčně vázaném plazmatu (ICP-OES)

Principem optické emisní spektrometrie je sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy látek v plynném stavu [19]. Toto záření emitují excitované atomy a ionty v excitačním prostředí. Emitované fotony mají specifickou vlnovou délku charakteristickou pro daný prvek. Do excitovaného stavu se atomy prvku převádějí pomocí tepelné energie plazmatu.



Obrázek 1: Schéma ICP spektrometru [22]

ICP-OES využívá indukčně vázané plazma k ionizaci a excitaci při teplotě 5 000 až 10 000 K. Hlavním úkolem OES je rozložení charakteristického záření na jednotlivé spektrální čáry. Tato metoda slouží ke kvalitativnímu a kvantitativnímu určení složení analyzovaného vzorku ze záření, které vysílají atomy a ionty ve vzorku. Optický emisní spektrometr se skládá se čtyř hlavních částí: budící zdroj, spektrometr, elektronická část a výpočetní systém [19].

ICP-OES je často využívána díky své rychlosti a přesnosti. Tato technika umožňuje stanovit koncentrace až 70 chemických prvků například Ag, As, Bi, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb, Sn.

2.2.9.2 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

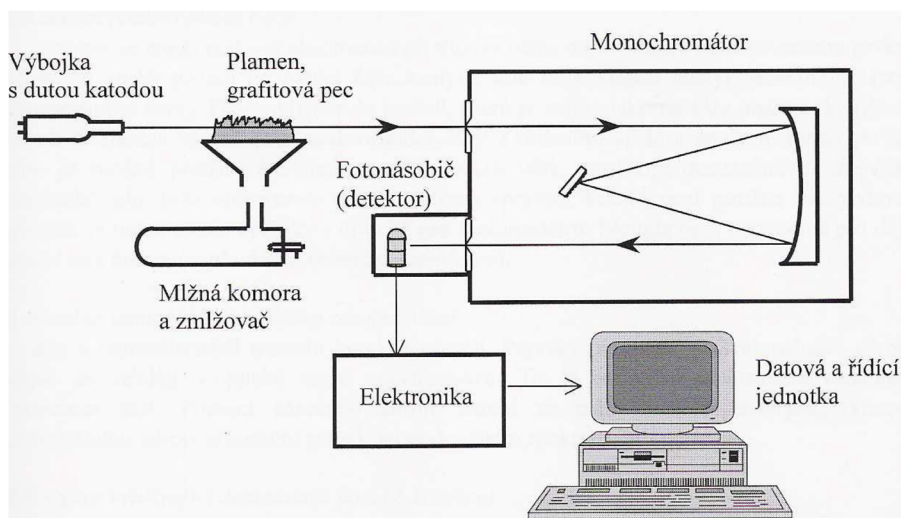
Metoda atomové absorpční spektrometrie je nejčastěji využívanou metodou při kvantitativním stanovení těžkých kovů v potravinách. Principem je měření úbytku elektromagnetického záření způsobeného absorpcí volnými atomy prvků v plynném stavu. Prvek se stanovuje při vlnové délce některé z rezonančních čar. Vztah mezi absorpcí a koncentrací je dán Lambertovým – Beerovým zákonem, který pro čárové spektrum lze zapsat jako:

$$I = I_0 \cdot e^{(-\kappa \cdot n \cdot l)}$$

Kde I_0 a I je intenzita čar před průchodem a po průchodu absorbující vrstvou tloušťky l , κ je atomový absorpční koeficient pro danou čáru, n je počet volných atomů v jednotce objemu [cm^{-3}] [19]. ASS je tedy založená na porovnání signálů s roztokem vzorku a roztokem standardů, tedy metodou kalibrační křivky nebo standardního přídatku.

Zdrojem záření jsou speciální výbojky. Pro každý prvek je potřeba použít výbojku právě pro něj určenou. Používány jsou výbojky s dutou katodou plněné vzácným plynem, která obsahuje katodu z vysoce čistého stanovovaného kovu nebo folie ze stanovovaného kovu. Anoda je z těžkotavitelného kovu (Zr, Ti, Ta). Také mohou být používány bezelektrodové výbojky, baňky naplněné inertním plynem s množstvím prvku ve formě těkavé sloučeniny.

Atomizace se provádí v plameni, elektrochemicky nebo v křemenných atomizátorech. Plamenové atomizátory (F-AAS) se používají při analýzách větších obsahů prvku ve vzorku. Při elektrochemické automatizaci (ETA-AAS) se používá odporově vyhřívaná kyveta, kam se dává malé množství vzorku, který je postupně ohříváním převeden do plynného stavu. Při technice generování a automatizace těkavých sloučenin (HG-AAS) je nejdříve analyt převeden na těkavou sloučeninu. V plynné fázi je následně atomizován v křemenném atomizátoru. Tato metoda je vhodná pro hydridotvorné prvky jako je arsen, olovo a kadmium. Pro stanovení možné také využít techniku generování par rtuti. Na tomto principu pracuje např. atomový absorpční spektrometr AMA 254.



Obrázek 2: Schéma atomového absorpčního spektrometru [19]

Atomová absorpční spektrometrie je určena k elementární kvantitativní analýze kovových prvků o nízkých koncentracích. Citlivost metody je v řádu v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ a u elektrotermické atomizace až v řádech pg v dávce vzorku [19]. Tato metoda je velmi rozšířená, neboť se jedná o poměrně rychlou metodu, kterou lze použít pro 60 prvků periodické tabulky.

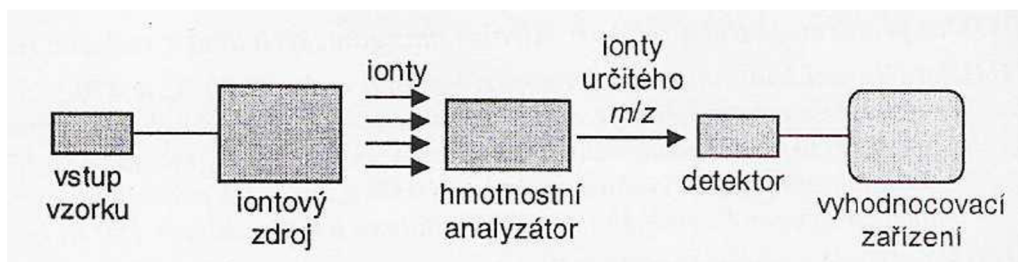
Tabulka 11: Vhodné vlnové délky pro vybrané prvky pro měření metodou AAS

Prvek	vlnová délka [nm]	typ metody
Vápník	422,70	F-AAS
Hořčík	285,20	F-AAS
Draslík	766,49	F-AAS
Sodík	589,59	F-AAS
Železo	248,33	F-AAS
Mangan	279,48	F-AAS
Zinek	213,86	F-AAS
Selen	196,00	AAS-HG
Měď	324,75	F-AAS
Kobalt	240,37	F-AAS
Arsen	193,70	AAS-HG
Olovo	283,30	AAS-ETA
Kadmium	228,80	ET-AAS

2.2.9.3 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaných plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie využívá vzniku molekulárních iontů z původně elektroneutrálních atomů. Ty po separaci lze v magnetickém nebo vysokofrekvenčním poli detekovat a registrovat ve formě hmotnostního spektra, tedy závislost i četnost jednotlivých rozlišených druhů atomů na jejich poměru m/z . Vzorek je vnášen do prostředí plasmy, kde je převeden do plynné fáze a atomy jsou ionizovány. Ionty jsou usměrněny elektrickým polem. K separaci iontů podle m/z slouží kvadrupólový filtr nebo magnetické pole. Separované ionty následně dopadají na detektor.

Hmotnostní spektrometrie je velmi citlivá a rychlá metoda. ICP-MS se využívá k kvalitativní i kvantitativní analýze. Tato metoda se vyznačuje velmi širokým lineárním dynamickým rozsahem s citlivostí stovek $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (ppm) až jednotek $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (ppt) [19].



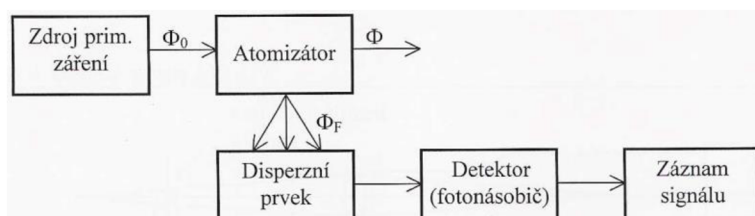
Obrázek 3: Schéma hmotnostního spektrometru [19]

Tabulka 12: Příklad detekčních limitů pro dané metody [8].

Těžký kov	F-AAS [$\mu\text{g/l}$]	ET-AAS [$\mu\text{g/l}$]	ICP-OES [$\mu\text{g/l}$]	ICP-MS [$\mu\text{g/l}$]
Rtuť	300	0,600	1,0	0,00100
Olovo	15	0,050	1,0	0,00004
Kadmium	0,8	0,002	0,1	0,00007

2.2.9.4 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

AFS sleduje emisi záření plynnými atomy, které excitovaly absorpcí elektromagnetického záření. Excitace čárovým zdroje je velmi selektivní, a proto jsou fluorescenční spektra velmi jednoduchá. Nejsilnější jsou absorbovány tzv. rezonanční čáry, ty odpovídají přechodu atomu mezi stavem základním a vzbuzeným stavem. Těchto čar se využívá k měření. Tyto čáry vykazují největší koeficient κ a také citlivost [19]. Upořádání atomové fluorescenční spektrometrie je podobné jako u atomové absorpční spektrometrie.



Obrázek 4: Blokové funkční schéma pro atomovou fluorescenční spektrometrii [19]

V AFS se fluorescenční záření měří kolmo k excitačnímu paprsku. I pro atomovou fluorescenční spektrometrii lze uplatnit Lambert-Beerův zákon. Tato metoda se využívá především, pro stanovení alkalických kovů.

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Přístroje a zařízení

- Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ULTIMA 2, vyráběný firmou HORIBA. Detektorem je duální detekce PMT se systémem High Dynamic Detection. Vlnový rozsah zařízení je 160-800 nm.
- Atomový absorpční spektrometr AMA 254 od firmy Altec spol. s.r.o.
- Analytické digitální váhy od firmy Sartorius
- Ruční tyčový homogenizátor
- Mikrovlnný systém Milestone MLS 1200 Mega

3.2 Chemikálie

- Kyselina dusičná, 65% (Penta)
- Peroxid vodíku, 30% (ANALYTIKA, spol. s.r.o.)
- Destilovaná voda
- Metranal[®] 8 (ANALYTIKA, spol. s.r.o.)

3.3 Analyzované vzorky

Pro experimentální část byly vybrány jak vzorky granulí, konzerv a kapsiček v běžné tržní síti:

Vzorky krmiv určené psům:

- Dog adult small (určené pro malé dospělé psy, granule, firma Akinu)
- Dog adult hypoallergic (určené pro dospělé psy, hypoalergenní granule, firma Akinu)
- Dog puppy large (určené pro štěňata velkých plemen, granule, firma Akinu)
- Dog adult medium (určené pro dospělé psy střední velikosti, granule, firma Akinu)
- Nature Fish with fish skins (určené pro všechny plemena, konzerva, firma Brit)
- Multi Fish and Salmon Oil (určené pro všechny plemena, konzerva, firma Ontario)

Vzorky krmiv určené kočkám:

- Tuna filets (určené pro kořata, konzerva, firma Brit)
- With salmon filets (určené pro dospělé kočky, kapsička, firma Brit)
- Caty (určené pro dospělé kočky, paštika, firma Akinu)
- Pacifica (určené pro všechny věkové kategorie, granule, firma Acana)
- Sterilised cat (určené pro kastované kočky, granule, firma Akinu)
- G.G. s lososem a kuřetem (určené pro dospělé kočky, konzerva, firma Purina)
- G.G. s tuňákem (určené pro dospělé kočky, konzerva, firma Purina)

3.4 Pracovní postupy

3.4.1 Příprava vzorku k analýze

Pro analýzu s ICP-OES byly vzorky krmiv nejprve zhomogenizovány – granule v hmoždíři a obsah konzerv tyčovým homogenizátorem. Následně každý vzorek byl odvážen na analytických vahách do nádob pro mikrovlnou extrakci. Poté bylo k vzorku přidáno automatickou pipetou 5 ml 65% kyseliny dusičné a 2 ml 30% peroxidu vodíku. Nádoby byly upevněny do kotouče a vloženy do mikrovlnného extraktoru. Takto rozložené vzorky byly následně kvantitativně převedeny do 25 ml odměrné baňky a doplněny destilovanou vodou po rysku.

Pro analýzu s přístrojem AMA 254 byly vzorky pouze zhomogenizovány (granule v hmoždíři, obsah konzerv a kapsiček tyčovým homogenizátorem).

3.4.2 Stanovení prvků pomocí ICP-OES

Pro stanovení 15 prvků (P, Mg, Ca, Na, K, Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb a Zn) v krmivu byla zvolena metoda optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Roztoky rozložených vzorků v odměrných baňkách byly přefiltrovány přes stříkačkové filtry rovnou do plastových zkumavek. Obsah těchto zkumavek byl následně podroben analýze.

Tabulka 13: Použité vlnové délky pro detekci jednotlivých prvků

Prvek	λ [nm]	Prvek	λ [nm]
Al	396,152	Pb	220,350
Cd	214,438	Zn	206,191
Co	228,616	P	214,914
Cr	205,552	Mg	285,213
Cu	327,396	Ca	396,847; 422,673
Fe	259,940	Na	588,995
Mn	257,610	K	766,490
Ni	22,647; 341,476		

Tabulka 14: Specifikace a možnosti nastavení pro analýzu na ICP-OES

Název a typ přístroje	Horiba Ultima 2 (Horiba Scientific, Francie)
Pomocný plyn	Mikro: 0,2 l/min; makro: 0,8 l/min
Plazmový plyn	13,0 l/min
Rozprašovač	0,84 ml/min; 2,99 bar
Příkon plazmy	1200 W
Rychlost otáček čerpadla	15 otáček/min
Optický systém	fotonársobič

3.4.3 Stanovení obsahu rtuti pomocí AMA 254

Pro stanovení celkového obsahu rtuti byl využit Advanced Mercury Analyser AMA 254. Jedná se o jednoúčelový atomový absorpční spektrometr, který lze využít pro analýzu pevných i kapalných vzorků bez nutnosti rozkladu nebo separace vzorku. Princip stanovení rtuti tímto přístrojem spočívá v generování par kovové rtuti tepelným rozkladem vzorku ve spalovací trubici s následným zachycením a zkoncentrováním na zlatém amalgamátoru a opětovným tepelným vypuzením. Rtuťové páry jsou následně unášeny nosným plynem do měřicí kyvety. Zde dochází k detekci pomocí emitující lampy a následné absorbance prošlého záření. Nosným plynem je kyslík a emitující záření je o vlnové délce 253,65nm.

Každý zhomogenizovaný vzorek byl zvlášť odvážen přímo do kovové lodičky. Tato lodička byla následně vložena do spalovací trubice. Vzorek byl sušen při 120°C po dobu 60s. Spalování probíhalo v kyslíkové atmosféře při 650°C po dobu 150s. Každý vzorek byl měřen ve třech opakováních s relativní směrodatnou odchylkou menší než 13%. Orientační mez detekce je 0,01 ng Hg [14]. Retenční materiál Metranal 8 (Analytika, ČR) byl použit pro ověření správnosti měření. Jedná se o zelenou řasu s certifikovanou hodnotou $0,017 \pm 0,010$ mg/kg. Navážky krmiv se pohybovaly v rozmezí 99 – 176 mg.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V experimentální části byly sledovány vybrané prvky v krmivech. Byl stanoven obsah makroprvků, mikroprvků a vybraných rizikových prvků. Prvky důležité pro výživu zvířete byly srovnávány s požadavky na kvalitu krmiv danými Oborem veterinární medicíny a u rizikových bylo sledováno, zda nepřekročili maximální přípustné hodnoty dané vyhláškou Ministerstvem zemědělství.

4.1 Stanovení makroprvků

Naměřené koncentrace makroprvků v krmivu jsou uvedeny v následujících tabulkách pro jednotlivé vzorky. Tyto koncentrace byly následně přepočteny na obsah v sušině. Obsah sušiny byl vypočítán z rozdílu hmotnosti vzorku a deklarovaného obsahu vlhkosti uvedeného na obalu krmiva. Výsledný obsah makroprvků v sušině byl porovnán s hodnotami uvedenými v tabulce Tabulka 5.

Tabulka 15: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Dog adult small (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	7,632	0,83	166
Mg	1,308	0,14	3554
Ca	6,784	0,74	123
Na	2,573	0,28	466
K	3,598	0,39	65

Tabulka 16: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Sterilised cat (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	8,051	0,88	175
Mg	1,320	0,14	3588
Ca	7,908	0,86	143
Na	3,326	0,36	181
K	4,384	0,48	79

Tabulka 17: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Dog adult hypoallergic (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	9,225	1,00	201
Mg	1,274	0,14	3461
Ca	10,92	1,19	198
Na	2,696	0,29	488
K	4,333	0,47	71

Tabulka 18: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Dog puppy large (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	6,360	0,69	77
Mg	1,412	0,15	3837
Ca	7,420	0,81	73
Na	3,391	0,37	123
K	5,497	0,60	100

Tabulka 19: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Dog adult medium (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	6,793	0,74	148
Mg	1,394	0,15	3790
Ca	8,507	0,92	154
Na	3,146	0,34	570
K	5,823	0,63	105

Tabulka 20: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Pacifica (vlhkost vzorku 12%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	10,42	1,18	237
Mg	1,631	0,19	4634
Ca	12,24	1,39	232
Na	7,150	0,81	406
K	9,264	1,05	175

Tabulka 21: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Fish with fish skins (vlhkost vzorku 78%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	2,014	0,92	183
Mg	0,338	0,15	3842
Ca	3,190	1,45	242
Na	3,122	1,42	2365
K	1,895	0,86	144

Tabulka 22: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku Fish with herbs (vlhkost vzorku 77%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	0,933	0,41	81
Mg	0,265	0,12	2878
Ca	0,995	0,43	72
Na	2,072	0,90	1501
K	2,027	0,88	147

Tabulka 23: Naměřené koncentrace makroprvků ve vzorku G.G. s lososem a kuřetem (vlhkost vzorku 81,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	1,396	0,75	151
Mg	0,266	0,14	3594
Ca	1,438	0,78	130
Na	2,245	1,21	607
K	0,946	0,51	85

Tabulka 24: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku G.G. s tuňákem (vlhkost vzorku 77,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/g]	Obsah v sušině [%]	Splnění normy [%]
P	1,366	0,61	121
Mg	0,260	0,12	2893
Ca	1,408	0,63	104
Na	2,198	0,98	488
K	0,926	0,41	69

Z tabulek lze vyčíst, že polovina analyzovaných vzorků neplnila normy pro obsah draslíku. Nejnižší naměřená koncentrace byla 0,39 mg/kg sušiny (norma pro draslík je 0,6 mg/kg sušiny [15]). Dalšími deficitními prvky jsou fosfor a vápník. Koncentrace vápníku v suchém krmivu určené kočkám (průměr 10 ± 3 g/kg) se shodovala s hodnotami, které uvedli Paulelli et al. [21], kteří stanovili poměrný obsah vápníku na $15,6 \pm 7,5$ g/kg pro suché kočičí krmivo. Dále koncentrace hořčíku v suchém kočičím krmivu (průměr $1,5 \pm 0,2$ g/kg) se shodovala s hodnotami, které uvedli Paulelli et al. ($1,5 \pm 0,57$ g/kg) [21].

Průměrný obsah hořčíku ve vzorcích analyzovaného krmiva činil $0,14 \pm 0,02$ hm.% (obsah sušiny). Tyto koncentrace jsou přibližně 3,5 násobkem maximálního limitu (0,04% v přepočtu na sušinu) doporučeného Oborem veterinární medicíny [15]. Hořčík se přirozeně vyskytuje v mase a kostní moučce, ale přidáváním např. lněných semínek, moučky z mořských řas a minerálních směsí se jeho obsah v krmivu ještě zvyšuje. V krmivech pro kočky a psy byl také zaznamenán vysoký obsah sodíku (průměr $0,7 \pm 0,4$ hm. %). Jelikož požadavky na sodík jsou pro kočky a psy v různém věku velmi odlišné, byly i zde zaznamenány velké rozdíly v naměřených koncentracích sodíku v jednotlivých vzorcích. Vysoké koncentrace mohou být zapříčiněny vysokým obsahem sodíku v mase, ale také přidáváním sodíku v minerálních směsí ve formě chloridu sodného.

4.2 Stanovení mikroprvků

Naměřené koncentrace mikroprvků jsou uvedeny pro jednotlivé vzorky v následujících tabulkách. Koncentrace prvků byly opět přepočteny na koncentraci v sušině a hodnoty byly porovnány s normami uvedené v tabulce Tabulka 6.

Tabulka 25: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Dog adult small (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	16,57	18,03	247
Fe	172,3	187,5	234
Mn	73,64	80,12	1602
Zn	115,7	125,9	105
Co	2,230	2,150	n.d.

Tabulka 26: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Sterilised cat (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	16,51	17,91	358
Fe	199,2	216,1	270
Mn	76,84	83,35	1111
Zn	127,8	138,6	185
Co	2,026	1,940	n.d.

Tabulka 27: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Dog adult hypoallergic (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	20,27	22,08	302
Fe	254,3	267,2	334
Mn	81,05	88,27	1765
Zn	104,7	114,0	95
Co	1,929	1,860	n.d.

Tabulka 28: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Dog puppy large (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	19,25	20,88	286
Fe	153,0	166,0	208
Mn	81,90	88,87	1777
Zn	107,5	116,7	97
Co	1,290	1,240	n.d.

Tabulka 29: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Dog adult medium (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	16,38	17,83	244
Fe	145,7	158,5	198
Mn	73,45	79,96	1599
Zn	94,26	102,6	86
Co	1,167	1,120	n.d.

Tabulka 30: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Pacifica (vlhkost vzorku 12%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	3,79	4,320	86
Fe	38,51	43,86	55
Mn	4,59	5,230	70
Zn	21,06	23,99	32
Co	1,420	1,420	n.d.

Tabulka 31: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Natural Fish with fish skins (vlhkost vzorku 78%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	0,201	0,920	13
Fe	44,83	204,1	255
Mn	3,145	14,32	286
Zn	14,52	66,12	55
Co	0,933	2,750	n.d.

Tabulka 32: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku Multi Fish and Salmon Oil (vlhkost vzorku 77%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	1,228	5,330	73
Fe	38,36	166,6	208
Mn	2,30	10,00	200
Zn	19,68	85,46	71
Co	1,027	2,930	n.d.

Tabulka 33: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku G.G. s lososem a kuřetem (vlhkost vzorku 81,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	2,467	13,36	267
Fe	52,61	285,0	356
Mn	2,274	12,32	164
Zn	226,5	143,4	191
Co	1,033	3,390	n.d.

Tabulka 34: Naměřené koncentrace mikroprvků ve vzorku G.G. s tuňákem (vlhkost vzorku 77,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace v sušině [mg/kg]	Splnění normy [%]
Cu	9,609	41,71	853
Fe	61,85	268,5	343
Mn	22,90	99,39	1355
Zn	15,77	68,43	93,27
Co	0,398	1,150	n.d.

Z naměřených výsledků lze vyčíst, že nejvíce nedostatkovým prvkem v analyzovaných krmivech z hlediska doporučeného množství byl zinek. Celkem 7 z 10 vzorků nespĺnilo normu danou Oborem veterinární medicíny. Nejnižší koncentrace zinku byla naměřena ve vzorku Pacifica, přesně 23,99 mg/kg sušiny, což je přibližně třikrát méně než doporučená hodnota (75 mg/kg [15]).

Krmivo, které nespĺnilo normu ani u jednoho ze stanovovaných prvků, je právě vzorek Pacifica od firmy Acana. Jedná se o prémiové krmivo. Z výsledků vyplývá, že krmení tímto krmivem by mohlo způsobit deficienci mikroprvků a mohlo mít negativní vliv na vývoj zvířete.

Vysoké obsahy některých prvků v krmivech je ovlivněno přidáváním minerálních látek (síran mědnatým, oxidem manganitým atd.) pro splnění norem. Tyto sloučeniny mají horší vstřebatelnost, ale vzhledem k jejich vysokým koncentracím v krmivu, je zvířeti zajištěn dostatečný přísun těchto prvků. Vzorky granulovaných psích krmiv obsahovaly mangan o průměrné koncentraci 84 ± 5 mg/kg (přepočteno na sušinu). Tyto koncentrace jsou přibližně sedmnáctinásobkem maximálního limitu (5,0 mg/kg sušiny) doporučeného Oborem veterinární medicíny. Maximální limit obsahu manganu v krmivu není stanoven, ale uvádí se, že nadměrná suplementace manganu snižuje absorpci železa [22].

Mezi jednotlivými analyzovanými vzorky krmiv byly zaznamenány velké odchylky v obsahu mikroprvků, velké rozdíly mezi krmivy zaznamenali i Paulelli et al. Obsah mědi v suchém psím krmivu (průměr 18 ± 2 mg/kg) se shodoval s průměrnými hodnotami naměřenými Paulellim et al. (průměr $15,8 \pm 1,19$ mg/kg).

Veterinární a hygienické normy nestanovují doporučené hodnoty obsahu kobaltu v krmivech. Obecně lze říci, že suché vzorky průměrně obsahovaly 1,995 mg/kg kobaltu. Pokud je psem zajištěn dostatek příjmu vitamínu B12, není potřeba zvyšovat obsah kobaltu v krmivu.

4.3 Stanovení rizikových prvků

Naměřený obsah kontaminantů je uveden pro jednotlivé vzorky v následujících tabulkách. Výsledný obsah byl přepočten na koncentraci v krmivu o vlhkosti 12 %, jelikož limitní hodnoty jsou uvedeny v mg na kg krmiva o vlhkosti 12 %. Vlhkost vzorku byla zjištěna z deklarovaného obsahu vlhkosti uvedeného na obalu krmiva.

Tabulka 35: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Dog adult small (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	50,95	49,04
Cd	< 2,500	< 2,500
Cr	2,333	2,2500
Ni	4,884	4,700
Pb	3,100	2,980

Tabulka 36: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Sterilised cat (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	52,40	50,28
Cd	< 2,500	< 2,500
Cr	2,370	2,270
Ni	4,262	4,090
Pb	2,900	2,780

Tabulka 37: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Dog adult hypoallergic (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	46,48	44,78
Cd	< 2,500	< 2,500
Cr	2,009	1,940
Ni	4,397	4,240
Pb	< 2,500	<2,500

Tabulka 38: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Dog puppy large (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	90,06	86,42
Cd	< 2,500	< 2,500
Cr	1,659	1,590
Ni	3,982	3,820
Pb	< 2,500	<2,500

Tabulka 39: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Dog adult medium (vlhkost vzorku 8%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	66,97	64,49
Cd	< 2,500	< 2,500
Cr	1,530	1,47
Ni	3,168	3,05
Pb	< 2,500	<2,500

Tabulka 40: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Pacifica (vlhkost vzorku 12%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	20,26	20,31
Cd	< 2,500	< 2,50
Cr	1,347	1,35
Ni	3,556	3,56
Pb	< 2,500	< 2,50

Tabulka 41: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Natural Fish with fish skins (vlhkost vzorku 78%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	61,37	180,79
Cd	< 2,500	< 7,37
Cr	1,155	3,40
Ni	2,994	8,82
Pb	< 2,500	< 7,37

Tabulka 42: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku Multi Fish and Salmon Oil (vlhkost vzorku 77%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	20,30	57,93
Cd	< 2,500	< 7,14
Cr	1,417	4,04
Ni	2,753	7,86
Pb	< 2,500	< 7,14

Tabulka 43: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku G.G. s lososem a kuřetem (vlhkost vzorku 81,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	6,605	21,70
Cd	< 2,500	< 8,21
Cr	1,260	4,14
Ni	2,378	7,81
Pb	< 2,500	< 8,21

Tabulka 44: Naměřené koncentrace kontaminantů ve vzorku G.G. s tuňákem (vlhkost vzorku 77,5%)

	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %
Al	45,94	132,92
Cd	< 2,500	< 7,23
Cr	1,190	3,44
Ni	3,284	9,50
Pb	< 2,500	<7,23

Vyhláška ministerstva zemědělství 451/2000 Sb. určuje maximální přípustné hodnoty pouze pro arzen, olovo, kadmium, rtuť a fluor. Vzhledem k vysokým limitům detekce pro kadmium i olovo, nebylo možné stanovit koncentraci těchto prvků přesněji než jako < 2,500 mg/kg. Pouze u dvou vzorků byl naměřen vyšší obsah olova, a to u vzorku Dog adult small od firmy Akinu (3,100 mg/kg) a vzorku Sterilised cat od firmy Akinu (2,900 mg/kg). Oba tyto vzorky nepřekročili maximální limit stanovený ministerstvem zemědělství. Pro získání přesnějších výsledků by bylo vhodnější pro analýzu použít citlivější techniku např. ICP-MS. V případě této bakalářské práce nelze výsledky porovnat s vyhláškou ministerstva zemědělství.

Podobně jako u Paulelliho et al. [21] byly v této bakalářské práci v krmivu pro psy i kočky zaznamenány vysoké koncentrace hliníku. Nejvyšší koncentrace hliníku se nacházela ve vzorku

Natural Fish with fish skins od firmy Brit a to koncentraci 180,79 mg/kg krmiva o vlhkosti 12%. Vyhláška sice neupravuje maximální hodnoty pro tento prvek, ale již probíhají testy na zvířatech, aby se zjistil dopad nadměrné konzumace hliníku. EFSA-AFC stanovil nový tolerovatelný týdenní příjem hliníku ve výši 1 mg/kg tělesné hmotnosti [20]. V konzervovaných krmivech, byl medián koncentrace hliníku 95 mg/kg (krmivo o vlhkosti 12%), což je přibližně dvakrát více než u suchých granulovaných krmiv (50 mg/kg krmiva o vlhkosti 12%). Takto vysoký obsah hliníku v konzervovaných krmivech je s největší pravděpodobností zapříčiněn použitým obalovým materiálem (plechovka, Al-vanička, plast apod.), který obsahuje hliník ve vysokých koncentracích.

Z tabulky Tabulka 45 lze vyčíst naměřené koncentrace rtuti v osmi vzorcích. Veškeré koncentrace byly pod limitem daným vyhláškou [12]. Nejvyšší naměřený obsah rtuti se nacházel ve vzorku Tuna fillets od firmy Brit a to 0,417 mg/kg krmiva o vlhkosti 12%, v rámci odchylky je vzorek v limitu s maximální přípustnou hodnotou (0,4 mg/kg krmiva o vlhkosti 12% [12]).

V krmivech, jejichž hlavní složkou byly ryby, byl medián koncentrace rtuti 0,050 mg/kg, což bylo více než u krmiv na bázi drůbeže a červeného masa (medián 0,017 mg/kg), podobnou korelaci zaznamenali i Kim et al. [23]. Některá krmiva (bez obsahu rybiho masa) vykazovali vyšší koncentrace rtuti než krmiva s vysokým obsahem ryb, tato odchylka může být způsobena přidáváním moučky z mořských řas a sledě do krmiv.

Tabulka 45: Naměřené koncentrace rtuti ve vzorcích

Vzorek	Koncentrace ve vzorku [mg/kg]	Koncentrace [mg/kg] krmiva o vlhkosti 12 %	Relativní směrodatná odchylka [%]
Dog adult small	0,023	0,022	6,88
Sterilised cat	0,023	0,024	12,60
Dog puppy large	0,010	0,009	8,18
Dog adult medium	0,012	0,011	8,00
Paciifika	0,093	0,093	7,10
Tuna fillets	0,118	0,417	2,67
With salmon fillets	0,002	0,007	1,82
Caty	0,002	0,007	7,96

5 ZÁVĚR

Používání krmných směsí zjednodušuje krmení psů a koček, a to díky své nenáročnosti na skladování i přípravu krmné dávky. Krmiva by měla být schopna pokrýt potřebu živin zvířete s přihlédnutím k jejich fyziologickým potřebám, jako je např. věk.

Tato bakalářská práce se zabývá laboratorním stanovením prvků v krmivech, které jsou pro výživu zvířete nezbytné. Získané výsledky byly porovnány s normami vydanými Oborem veterinární medicíny. Byla vybrána hlavně prémiová krmiva v různých formách (konzerva, paštika, granule a kapsičky) a také krmiva obsahující větší množství ryb a výrobků ryb. Při porovnání normovaných hodnot s výsledky chemických analýz byly zjištěny nedostatky. Mezi makroprvky byl v krmivech nejvíce deficitní draslík, polovina krmiv nesplnila normu pro tento prvek. U dvou vzorků byl zjištěn také nedostatek vápníku a fosforu. Tyto prvky jsou velmi důležité pro správný vývoj zvířete a jejich deficit může způsobit problémy v jejich vývoji.

Dále byl v krmivech zjišťován obsah prvků, u kterých se denní potřeba pohybuje řádově v μg až mg . Nejvíce nedostatkovým prvkem v analyzovaných krmivech byl zinek. Celkem 7 z 10 vzorků nesplnilo normu danou Oborem veterinární medicíny. U krmiva Pacifica od firmy Acana byly naměřeny nejnižší koncentrace zinku, manganu, mědi i železa. Tento vzorek nesplnil ani jednu normu pro dané prvky. U vzorku Fish with fish skins od firmy Brit byl naměřen nejnižší obsah mědi a to $0,92 \text{ mg/kg}$ sušiny, což je pouhých $12,5\%$ z požadovaného množství udávaného normou. Při dlouhodobém krmení tímto krmivem by mohlo u zvířete dojít k deficienci mědi v organismu, a k následným zdravotním problémům.

Vyhláška ministerstva zemědělství 451/2000 Sb určuje maximální přípustný obsah rizikových prvků v krmivech, proto bylo ve vzorcích krmiva stanoveno i množství těchto prvků. Vzhledem k vysokým limitům detekce pro kadmium i olovo, nebylo možné stanovit koncentraci těchto prvků přesněji než jako $< 2,500 \text{ mg/kg}$. Pouze u dvou vzorků byl naměřen vyšší obsah olova, a to u vzorku Dog adult small ($3,100 \text{ mg/kg}$) a vzorku Sterilised cat ($2,900 \text{ mg/kg}$) oba od firmy Akinu. Pro získání přesnějších výsledků by bylo vhodnější pro analýzu použít citlivější techniku např. ICP-MS. Kromě olova a kadmia byl zjištěn obsah rtuti v krmivech. Žádný ze zkoumaných vzorků nepřekročil maximální přípustné hodnoty. Nejvyšší naměřená koncentrace rtuti byla naměřena ve vzorku Tina filets od firmy Brit a to $0,4167 \text{ mg/kg}$ krmiva o vlhkosti 12% . U vzorku s vysokým obsahem ryb nebo výrobků z ryb byly zaznamenány vyšší koncentrace rtuti.

Prvek, který se ve vzorcích nacházel ve vysokých koncentracích, byl hliník. Vyhláška sice neupravuje maximální hodnoty pro tento prvek, ale již probíhají testy na zvířatech, aby se zjistil dopad nadměrné konzumace hliníku. EFSA-AFC stanovil nový tolerovatelný týdenní příjem hliníku ve výši 1 mg/kg tělesné hmotnosti. Nejvyšší koncentrace hliníku byla zjištěna ve vzorku Natural Fish with fish skins od firmy Brit a to koncentraci $180,79 \text{ mg/kg}$ krmiva o vlhkosti 12% . V konzervovaných krmivech byly zaznamenány vyšší koncentrace hliníku oproti suchým granulovaným krmivům.

Závěrem lze konstatovat, že u analyzovaných vzorků byly pozorovány nedostatky v obsahu makroprvků i mikroprvků, tudíž by zvíře těmito krmivy nedostalo kompletní přísun živin. Vhodné by bylo do krmiv přidávat více minerálních látek, ale zároveň nepřekračovat maximálními doporučené limity, jelikož i prospěšné prvky ve vyšších dávkách mohou poškozovat zdraví zvířete. Vyšší pozornost by se také měla věnovat hliníku a měl by být stanoven maximální přípustný limit pro tento prvek.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] UHLÍŘOVÁ, Gabriela. *Kompletní granulovaná krmiva pro psy* [online]. České Budějovice, 2016 [cit. 2021-11-27]. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, zemědělská fakulta. Vedoucí práce Doc. Ing. František Lád, CSc.
- [2] ŠTERC, Jan. *Potřeba vitamínů a minerálních látek*. Dromy [online]. Žižice: Dromy Vet s.r.o, 2018 [cit. 2021-11-27]. Dostupné z: <https://www.dromy.cz/potreba-vitaminu-a-mineralnich-latek/>
- [3] Minerální krmění psů. *Zvěrokruh* [online]. Lomnice nad Popelkou: Sanohýl group, 2014 [cit. 2021-11-27]. Dostupné z: <https://www.zverokruh-shop.cz/informace-a-akce/ve-znamení-dobře-rady/mineralni-latky-v-krmení-psu>
- [4] Vápník a fosfor. *Vse-o-krmivech.cz* [online]. 2021 [cit. 2021-12-01]. Dostupné z: <https://vse-o-krmivech.cz/krmivo-pro-psy/factory-hodnoceni/obsah-zivin/vapnik-fosfor>
- [5] Obecná pravidla výživy koček. *Veterinární péče* [online]. Plzeň: Penecos-N spol. s.r.o [cit. 2021-12-01]. Dostupné z: <https://www.veterinaripece.cz/obecná-pravidla-vyzivy-kocek-3382.html>
- [6] BOBROVSKÁ, Pavla. *Výživa koček* [online]. Brno, 2013 [cit. 2021-12-01]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/23356129-Mendelova-univerzita-v-brne-agronomicka-fakulta-ustav-vyzivy-zvirat-a-picninarstvi-vyziva-kocek-bakalarska-prace.html>. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně Agronomická fakulta Ústav výživy zvířat a pícninářství. Vedoucí práce Doc. Ing. Pavel Veselý, CSc.
- [7] STUHLÝ, Ivan. *Kolik vápníku potřebuje pes? Veterina-info: katalog veterinárních ordinací, klinik a nemocnic v ČR* [online]. Praha 6: MVDr. Michal Čáp, 1998, 10.05.2006 [cit. 2021-12-02]. Dostupné z: <http://www.veterina-info.cz/odborne-clanky/kolik-vapniku-potrebuje-pes-220.html>
- [8] HOFMEISTEROVÁ, Leona. *Vliv vybraných složek prostředí na kvalitu vody a potravin*. Pardubice, 2019. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce Doc. Dr. Ing. Ladislav Novotný, DrSc.
- [9] ŠIROKÁ, Zuzana, Zdeňka SVOBODOVÁ, Petr MARŠÁLEK, Nikola HODKOVICOVÁ a Josef VÁCLAVÍK. *Poruchy zdraví související s otravami zvířat*. Brno, 2018. Skripta. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Vedoucí práce Prof. MVDr. Augustin Buš, CSc., MVDr. Jiří Škaloud, CSc.
- [10] VOMELOVÁ, Lucie. *Stanovení výživové hodnoty granulovaných krmných směsí pro psy*. České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, zemědělská fakulta. Vedoucí práce Doc. Ing. František Lád, CSc.
- [11] ŠEVČÍKOVÁ, Kateřina. *Koloběh arsemu a jeho specií v životním prostředí*. Brno. Bakalářská práce. Vysoké učení technické, fakulta chemická. Vedoucí práce Prof. RNDr. Hana Dočekalová CSc.
- [12] Vyhláška. In: . Praha: Ministerstvo zemědělství, 2000, ročník 2000, číslo 451.
- [13] HALAŠKOVÁ, Nela. *Stanovení arsemu v povrchových a podzemních vodách*. Pardubice. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce Ing. Radovan Metelka, Ph.D.
- [14] Analyzátor rtuti AMA 254. *Přírodovědecká fakulta: Univerzita Karlova* [online]. Praha: Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova [cit. 2022-02-02]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/geologie/laboratore/laboratore-a-metody/analyzator-rtuti-ama-254>
- [15] Veterinární a hygienické normy a požadavky na kvalitu krmiv pro zvířata v zájmovém chovu. In: . *Obor veterinární medicíny*, 1997, 13-7-2/1010.

- [16] SVOBODA, Ilona. Základní charakterizace vybraných vzorků krmiv živočišného původu. Brno, 2016. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, fakulta chemická. Vedoucí práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [17] ŠTERCOVÁ, Eva, Eva STRAKOVÁ, Lucie RUSNÍKOVÁ a Petra HUDEČKOVÁ. Chemická analýza krmiv: Multimediální studijní materiál. Brno: Veterinární univerzita Brno, 2017.
- [18] HRSTKA, Miroslav, Lenka SOMROVÁ a Pavel DIVIŠ. Praktikum z analytické chemie potravin. Brno, 2019. Skripta. Vysoké učení technické v Brně, fakulta chemická.
- [19] MOTLOVÁ, Tereza. Analýza prvků v potravních doplňcích. Brno, 2008. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, fakulta chemická. Vedoucí práce Ing. Eva Vítoulová, Ph.D.
- [20] KVASNIČKOVÁ, Alexandra. Nadměrný příjem hliníku ze stravy. In: *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Ministerstvo zemědělství, 2021, 16.7. 2008 [cit. 2022-05-16]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/nadmerny-prijem-hliniku-ze-stravy.aspx>
- [21] PAULELLI, Ana Carolina Cavalheiro, Airton Cunha MARTINS, Eloísa Silva DE PAULA, Juliana Maria Oliveira SOUZA, Maria Fernanda Hornos CARNEIRO, Fernando Barbosa JÚNIOR a Bruno Lemos BATISTA. Risk assessment of 22 chemical elements in dry and canned pet foods. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* [online]. 2018, 13(4), 359-365 [cit. 2022-05-20]. ISSN 1661-5751. Dostupné z: doi:10.1007/s00003-018-1178-5
- [22] Výživový význam manganu. In: *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Ministerstvo zemědělství, 2021, 1.9. 2009 [cit. 2022-05-21]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/vyzivovy-vyznam-manganu.aspx>
- [23] KIM, Hyun-Tae, John P. LOFTUS, Sabine MANN a Joseph J. WAKSHLAG. Evaluation of Arsenic, Cadmium, Lead and Mercury Contamination in Over-the-Counter Available Dry Dog Foods With Different Animal Ingredients (Red Meat, Poultry, and Fish). *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2018, 5 [cit. 2022-05-21]. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2018.00264

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
ADF	Acidoterní vláknina
ADP	Adenosindifosfát
AMA 256	Jednouúčelový atomový absorpční spektrometr s generováním studených par (Advance Mercury Analyser 254)
ATP	Adenosintrifosfát
CNS	Centrální nervová soustava
-COOH	karboxylová skupina
ČR	Česká republika
DMA	Dimethylarsenitá kyselina
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EFSA-AFC	Evropský úřad pro bezpečnost potravin, komise pro potravinářské přídatné látky, látky určené k aromatizaci, pomocné látky a materiály přicházející do styku s potravinami
ETA-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s elektronovou atomizací
EU	Evropská unie
F-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
GIT	Gastrointestinální trakt
HG-AAS	Hydridová technika atomové absorpční spektrometrie
HgCl ₂	Chlorid rtuťnatý
Hg(CN) ₂	Kyanid rtuťnatý
Hg(NO ₃) ₂	Dusičnan rtuťnatý
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
LD ₅₀	Dávka způsobující úhyn 50% testovaných živočichů do 24 hodin od expozice
MMA	Monomethylarsenitá kyselina
NAD ⁺	Oxidovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
n.d.	Není definováno
NDF	Detergentní vláknina
PDH	Pyruvátdehydrogenázový komplex
-SH	Sulfanylová skupina