

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Sledování těžkých látek v granulovaném krmivu pro psy**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Lenka Šímová**

**Vedoucí práce: Ing. Pavel Nový, Ph.D.**

© 2016 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Sledování těžkých látek v granulovaném krmivu pro psy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 6. 4. 2016

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Pavlovi Novému, Ph.D. a doc. Ing. Lence Kouřimské Ph.D. za odborné vedení této práce a za cenné připomínky a rady. Velký dík patří mé kamarádce a chovatelce Věře Dvořákové za její ochotu při realizaci preferenčního testu a mé rodině za podporu při studiu.

# Sledování těkavých látek v granulovaném krmivu pro psy

## Souhrn

Předmětem této práce bylo zhodnocení vlivu aromatických látek v suchém průmyslovém krmivu pro psy na atraktivitu tohoto krmiva pro psy. Předpokladem byla skutečnost, že u psů ovlivňují atraktivitu krmiva především aromatické látky.

V úvodu této práce je stručně popsána fyziologie trávicí soustavy a nutriční požadavky psa spolu s přehledem používaných krmiv včetně postupů jejich výroby a surovinového složení. Výčet možných aromatických látek, které byly v suchém průmyslovém krmivu identifikovány spolu s přehledem analytických metod používaných pro analýzu těchto látek, je rovněž součástí této práce.

V experimentální části byl proveden preferenční test, kterým byly stanoveny preference psů ke krmivu. Na základě výsledků tohoto testu byla u psů zjištěna jednoznačná preference jednoho z testovaných krmiv (21:79 %).

Chemická analýza pomocí plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie následně odhalila u vybraných krmiv rozdíl v profilu obsažených aromatických látek. Látka, která by mohla být zodpovědná za zvýšenou atraktivitu jednoho z testovaných krmiv, byla identifikována jako 3-tert-butyl-4-hydroxyanisol, který je součástí syntetického antioxidantu BHA.

**Klíčová slova:** krmivo pro psy, preferenční test, aromatické látky, GC-MS, BHA

# Monitoring of Volatile Compounds in Dry Dog Foods

## Summary

The aim of this study was to explore the influence of volatile compounds in dry dog food on its attractiveness for dogs. The assumption was that the attractiveness is mainly affected by volatile compounds presented in the feed.

This study brings overall information about dog's digestive system and its nutritional requirements with the summary of available feeds including the production process and list of the customary ingredients. A survey of the most common volatile compounds including appropriate analytical methods is also part of this study.

A feed preference test was performed in experimental part of this study. The preference ratio of two dry dog diets was set to 21:79 % that shows clear preference for one of the feeds.

Chemical analysis using gas chromatography-mass spectrometry revealed distinctions in the volatile compounds profile of the tested feeds. 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole that is part of synthetic antioxidant BHA was identified to be the main volatile compound that could possibly be responsible for feed preferences observed in this study.

**Keywords:** dry dog food, preference test, volatile compounds, GC-MS, BHA

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Vědecká hypotéza.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Cíl práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární řešerše .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Domestikace psa z pohledu výživy.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Čich - nejdůležitější smysl psa .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3 Trávicí soustava psa .....</b>	<b>12</b>
<b>3.4 Nutriční požadavky ve výživě psa.....</b>	<b>15</b>
3.4.1 Bílkoviny .....	16
3.4.2 Tuky .....	17
3.4.3 Sacharidy .....	18
3.4.4 Voda.....	19
3.4.5 Minerální látky.....	19
3.4.6 Vitamíny .....	20
3.4.7 Energie .....	21
<b>3.5 Krmiva pro psy.....</b>	<b>21</b>
3.5.1 Průmyslová krmiva pro psy .....	22
3.5.2 Technologie výroby suchých průmyslových krmiv.....	23
3.5.3 Složení suchých průmyslových krmiv pro psy .....	23
3.5.4 Antioxidanty v suchých průmyslových krmivech pro psy .....	27
<b>3.6 Senzoricky významné látky v suchém krmivu pro psy.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7 Metody stanovení aromatických látek .....</b>	<b>32</b>
3.7.1 Vhodné metody extrakce .....	32
3.7.2 Vhodné separační metody.....	33
3.7.3 Plynová chromatografie.....	34
3.7.4 Detekční metody .....	34
3.7.5 Speciální způsoby stanovení těkavých látek.....	35
3.7.5.1 Systém GC/O.....	35
3.7.5.2 Elektronický nos .....	36

<b>4</b>	<b>Materiál a metody .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Experiment – preferenční testy.....</b>	<b>37</b>
4.1.1	Popis vzorků .....	37
4.1.2	Přístroje a zařízení .....	37
4.1.3	Použité metody .....	39
<b>4.2</b>	<b>Chemická analýza .....</b>	<b>40</b>
4.2.1	Popis vzorků .....	40
4.2.2	Přístroje a zařízení .....	43
4.2.3	Chemikálie a roztoky .....	43
4.2.4	Použité metody .....	43
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1</b>	<b>Preferenční testy.....</b>	<b>44</b>
<b>5.2</b>	<b>Chemická analýza .....</b>	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>49</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury.....</b>	<b>53</b>

# 1 Úvod

Pes domácí provází člověka již více než 32 000 let a je prokazatelně nejstarším domestikovaným zvířetem v historii lidstva. V současné době je pes považován za plnohodnotného člena domácnosti a jeho výživě je věnována značná péče. Přestože je k dispozici mnoho poznatků z oblasti výživy psů, existuje mezi chovateli i další odbornou veřejností řada nejasností, omylů a mýtů. Psi jsou ve výživě velmi přizpůsobiví, a přestože se vyvinuli z masožravého vlka, prospívají na celé řadě různých diet. Obecně lze říci, že by psi měli být krmeni plnohodnotnými krmivy, ať už se jedná o stravu připravovanou doma nebo komerčně vyráběné krmivé směsi, a to vždy zejména s ohledem na jejich věk a pohybovou aktivitu.

Nejvíce psů je v současnosti krmeno suchými průmyslovými krmivy, která jsou hlavním tématem této diplomové práce. Nejdůležitějšími parametry průmyslových krmiv je kromě jejich výživové hodnoty a složení jejich chutnost a ochota psů krmivo přijímat. Protože pes se při příjmu potravy orientuje hlavně čichem, hraje aromatické (těkavé) látky v krmivu klíčovou roli.

Chutnost krmiva pro psa tak ovlivňuje ochotu majitele psa znovu krmivo zakoupit. Tím se stává atraktivita krmiva pro psy klíčovým předpokladem úspěchu výrobce průmyslových krmiv a měla by jí být věnována patřičná pozornost.



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

### **2.1 Vědecká hypotéza**

Aromatické látky ovlivňují přijatelnost krmiva pro psy.

### **2.2 Cíl práce**

Cílem diplomové práce je stanovit profil těkavých látek a zhodnotit jejich vztah k atraktivitě krmiva pro psy, respektive zjistit preference psů ke krmivu a zhodnotit rozdíly v profilu aromatických látek vedoucí k této preferenci.

### 3 Literární rešerše

Literární rešerše se krátce zaměřuje na psa domácího z pohledu domestikace i jeho trávicí soustavy, zabývá se jeho smysly důležitými pro příjem potravy a posuzuje současné nutriční požadavky při jeho výživě. Z možných způsobů krmení psa se zaměřuje na suchá průmyslová krmiva, která jsou hlavním tématem této diplomové práce. Suchá krmiva pro psy jsou popsána z pohledu jejich výroby, složení a obsahu sensoricky významných látek. Poslední kapitola se věnuje nastínění problematiky stanovování aromatických látek v potravinách chemickou analýzou i v kombinaci s olfaktorickými metodami.

#### 3.1 Domestikace psa z pohledu výživy

Pes domácí, *Canis lupus familiaris*, patří do čeledi psovitých šelem Canidea, do které patří i vlci, šakali, lišky, dingo aj. (Procházka, 2005). K domestikaci psa a jeho oddělení od vlka došlo podle současných poznatků někdy před 18 000 až 32 000 lety, možná i dříve. Pes je tedy prokazatelně nejstarším domestikovaným zvířetem (Šterc a Štercová, 2014a). Dnešní pes je zcela odkázán na člověka, který mu zajišťuje potřebnou dávku nutričně plnohodnotné potravy. Ta je spolu s vhodným režimem krmení základním předpokladem dobrého zdraví a celkové spokojenosti psa (Mudřík a kol., 2007).

Postavení psa v lidské společnosti a jeho označování za nejlepšího přítele člověka ukazuje, že pes domácí vyvolává mnohem více emocí než ostatní domestikovaná zvířata. Faktem zůstává, že pes byl prvním domestikovaným zvířetem v historii lidstva a měl významný vliv na vývoj lidské společnosti jako celku (Wang and Tedford, 2008).

Za společného předka všech psích plemen je v současné době považován vlk obecný (*Canis lupus*), který je z pohledu výživy druhem hyperkarnivorním. Základní složkou jeho potravy jsou těla velkých býložravců. Vlk je ale mimořádně přizpůsobivý podmínkám prostředí i úspěšnosti lovu. Skutečné složení potravy vlka může být velmi variabilní a zahrnuje kromě velké kořisti i drobné obratlovce, bezobratlé, ale i ovoce a jiný rostlinný materiál. V průběhu domestikace došlo u psa ke genetickým změnám v jeho loveckém chování a do určité míry i ve stavbě a funkci trávicího traktu. Ve srovnání s vlkem má pes domácí slabší čelisti, menší zuby, méně objemný žaludek a delší střevo. Zdivočelí psi se obecně živí spíše sběrem odpadků než lovem živé kořisti. Ze současných studií porovnávajících genom vlka a psa domácího vyplývá, že schopnost trávit efektivně škrob a další sacharidy je jedním z klíčových

znaků, který významně ovlivnil proces domestikace a oddělil psa od vlka. Genom psa domácího obsahuje v porovnání s genomem vlka více genů kódujících produkci amylázy a maltázy, což jsou dva nejdůležitější enzymy umožňující trávení škrobu. Schopnost využívat rostlinné složky potravy představovala v počátku domestikace velkou výhodu, neboť takoví jedinci dokázali lépe využívat zbytky lidské potravy. V porovnání s vlkem tedy pes domácí dokáže lépe zpracovat a využít rostlinnou potravu a vyžaduje menší zastoupení živočišných složek v dietě. Ve své současné podobě je pes domácí spíše mezokarnivorním druhem, jako jsou lišky nebo kojot (Šterc a Štercová, 2014a).

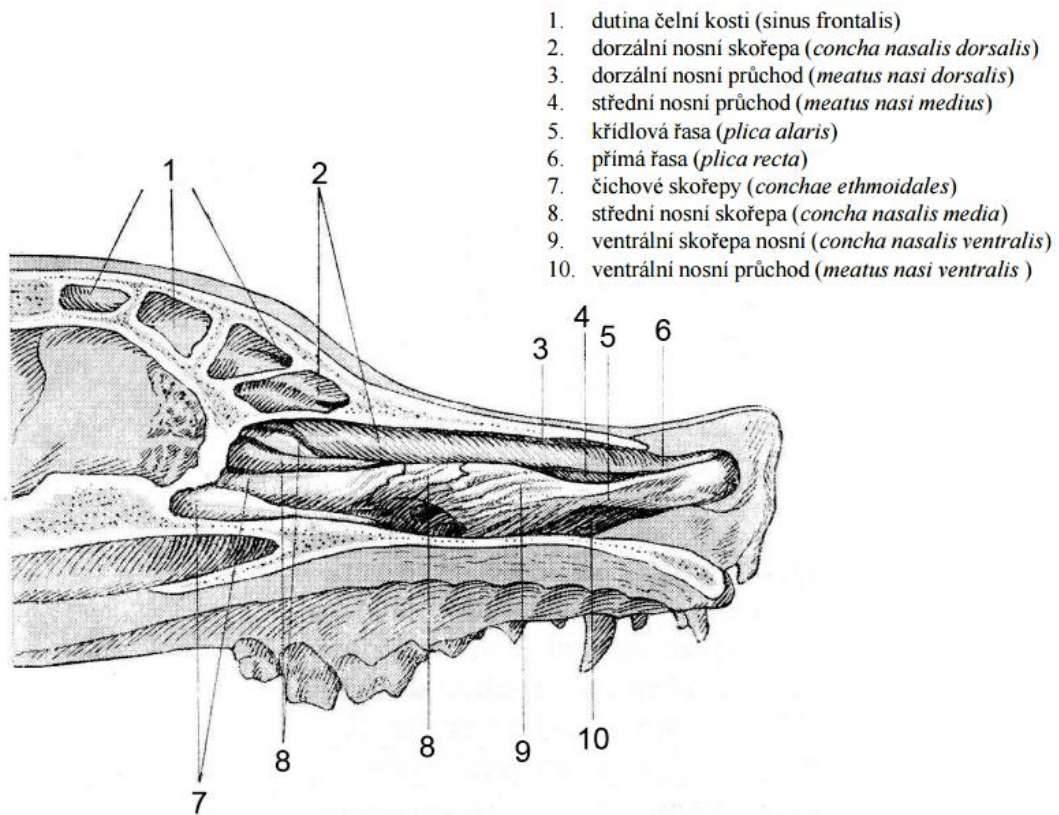
### 3.2 Čich - nejdůležitější smysl psa

Tak jako člověk poznává okolní svět hlavně zrakem, pes svět doslova cítí svým citlivým čichem. Rozdíl mezi člověkem a psem je nejen ve velikosti čichové sliznice, ale i v oblastech mozku, kde jsou vjemy zpracovávány (Horowitz et al., 2013). Čichové vnímání je nejdůležitějším způsobem komunikace psa s okolím. Čichem pes vyhledává potravu, určuje příslušníky své smečky nebo nepřítel, orientuje se v době říje. Přestože je jazyk psa vybaven chuťovými pohárky k vnímání chuti, orientuje se pes i při přijímání potravy především čichem (Procházka, 2005).

Čichové receptory psa nejsou pravděpodobně citlivější než ty lidské, ale větší plocha čichové části nosní sliznice (u člověka asi 5 cm<sup>2</sup>, u psa dle plemene 60 až 170 cm<sup>2</sup>) umožňuje psovi ucítit pach látky tisíckrát zředěnější, než dokáže člověk (Reece, 2011). Horowitz (2013) ve své práci uvádí, že pes by byl teoreticky schopen ucítit jeden miligram kyseliny máselné na ploše o velikosti rozlohy města Filadelfie (369 km<sup>2</sup>).

Sídlem čichového ústrojí je dutina nosní, ve které jsou v každé polovině uloženy dvě tenké kostěné skořepky. Obrázek 1 představuje mediální pohled do nosní dutiny psa. Horní skořepa je potažena čichovou sliznicí a je tak sídlem čichu psa. Kromě tohoto prostoru je ale u psa v přední části dutiny nosní ještě speciální dutinka, která je také vystlána čichovou sliznicí a je slepě zakončena. Tato dutinka se nazývá větřící ústrojí neboli Jakobsonův orgán. Větřící ústrojí není za normálních okolností používáno, ale pokud pes intenzivně nasává vzduch při pachovém ověřování, má tato dutinka velký význam (Procházka, 2005). Při opakovaném turbulentním víření vzduchu v dutině se zvyšuje pravděpodobnost, že čichově aktivní látka přejde do roztoku a vyvolá čichový vjem (Reece, 2011). Předpokládá se, že pes používá

Jakobsonův orgán výhradně pro čichové vjemy spojené se sociálním chováním a k posuzování potravy jej nevyužívá (Di Donfrancesco et al., 2012).



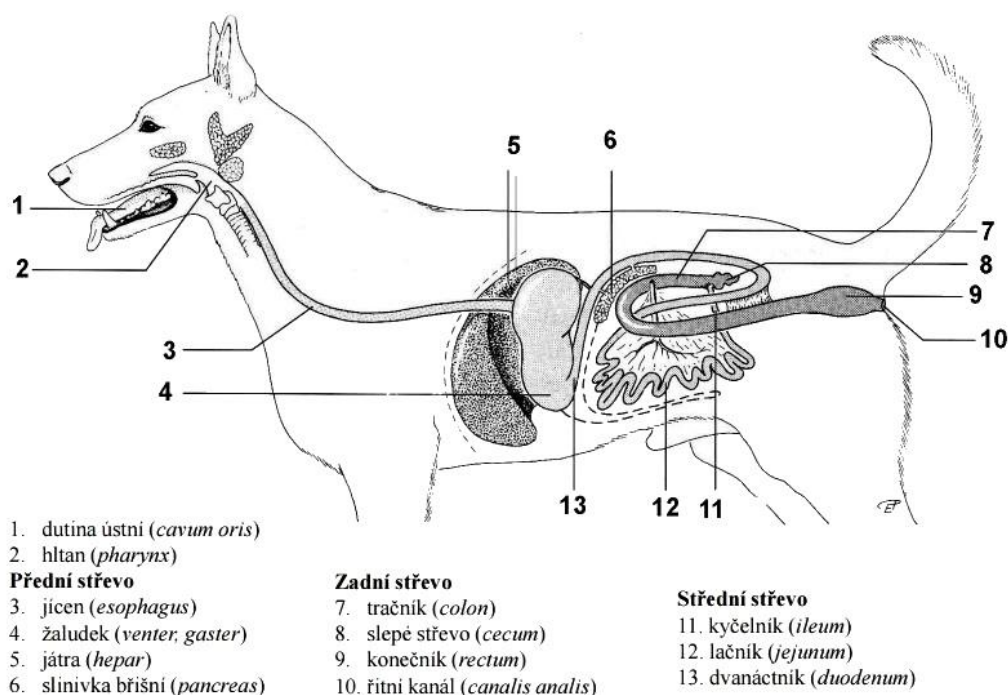
Obrázek 1 - Schéma nosní dutiny psa (mediální pohled). Zdroj: Rozinek a Jeřeta, 2012.

### 3.3 Trávicí soustava psa

Trávicí soustava psa, jejíž schéma je zobrazeno na obrázku 2, začíná dutinou ústní se zuby a jazykem. Z tvaru zubů psa a jejich vzájemného postavení je zřejmé, že pes nemůže potravu žvýkat, ale jen ji požvykuje a „stříhá“ na menší kusy, které by mohl spolknout (Procházka, 2005). Za dutinou ústní je umístěn hltan. Je to trubice, kde se kříží trávicí a dýchací cesty a přechází v jícn. Jícen je svalová trubice, která spojuje hltan se žaludkem. Potrava a voda jsou v jícnu transportovány pomocí peristaltických vln, které vznikají činností jeho svaloviny (Reece, 2011). Dalším orgánem trávicí soustavy psa je žaludek, což je poměrně velký a snadno roztžitelný vak, jehož vnitřní stěna je tvořena z hladké svaloviny a sliznice. V žaludku začíná vlastní trávicí proces. Zásadou vysoké koncentrace kyseliny chlorovodíkové a vysokého obsahu dalších trávicích látek je pes schopen rychle strávit i poměrně velké kusy potravy (Procházka, 2005). Na žaludek navazuje tenké střevo, které přechází ve střevo tlusté. Ve střevech je potrava trávena střevními šťávami. Sliznice tenkého

střeva vytváří řasy, který zvyšují vnitřní povrch střeva. Zde probíhá trávení sacharidů, tuků a bílkovin a následné vstřebávání konečných produktů trávení. V tlustém střevě dochází k fermentaci obsahu a dochází ke zpětnému vstřebávání vody a elektrolytů. Trávicí soustava končí konečníkem. Slinné žlázy, játra a slinivka břišní zásobují trávicí soustavu svými sekrety a umožňují tak trávení potravy v dutině žaludku a střeva (Reece, 2011).

Morfologické uspořádání chrupu psa napovídá, že patří mezi masožravce. Hlavním zdrojem potravy prehistorického psa byli především malí býložravci, velmi často ovce. Psi konzumovali celá těla ulovených zvířat včetně značného množství natrávených rostlinných materiálů. U psů domácích došlo během domestikace vlivem změny složení stravy k prodloužení trávicí trubice. Došlo ke zvýšení vzájemného poměru délky těla k délce trávicí trubice z původního poměru 4:1 na poměr 5 až 6:1. Délka trávicí trubice přitom mezi současnými plemeny psů kolísá. Nejkratší je u chrtů a severských plemen psů (Procházka, 2005).

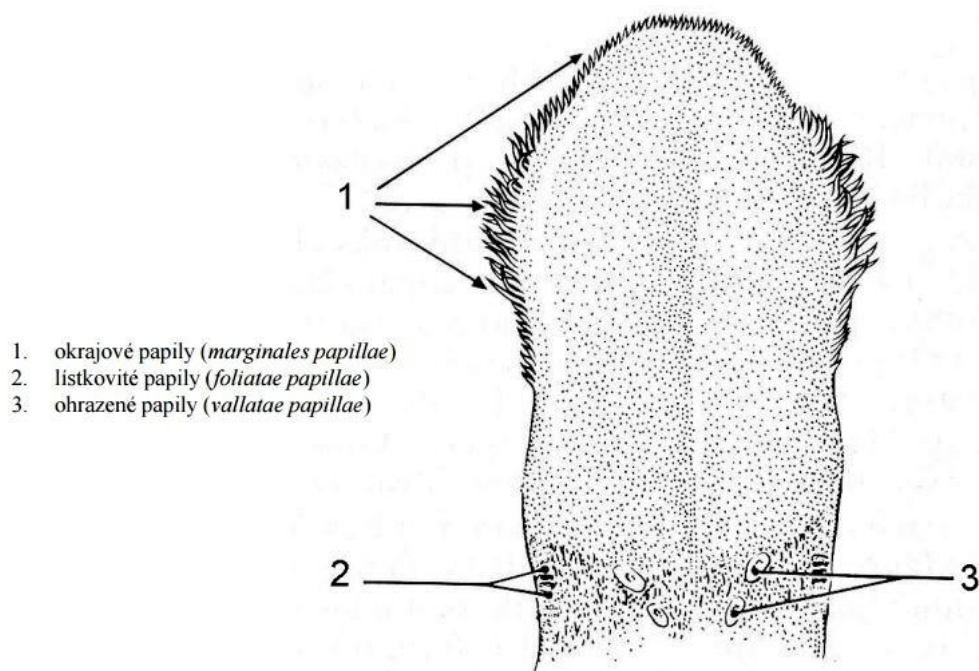


Obrázek 2 - Schéma zaživacího traktu psa. Zdroj: Rozinek a Jeřeta, 2012.

Ve slinách psů se na rozdíl od všežravců nenachází enzym amyláza, který pomáhá štěpit rostlinné škroby. Z hlediska svého zoologického zařazení do řádu Carnivora (šelmy), podřádu Caniformia a čeledi Canidae (psovití) i z hlediska stavby trávicího traktu je pes domácí stále

masožravcem. Z hlediska výživy ale může být považován za všežravce, i přesto, že jeho schopnost zpracovávat rostlinné složky potravy je menší než u pravých všežravců. Pes má totiž vyšší nároky na obsah živočišných bílkovin v dietě a proto je možná vhodnější označovat ho jako fakultativního nebo mezokarnivorního masožravce (Šterc a Štercová, 2014a).

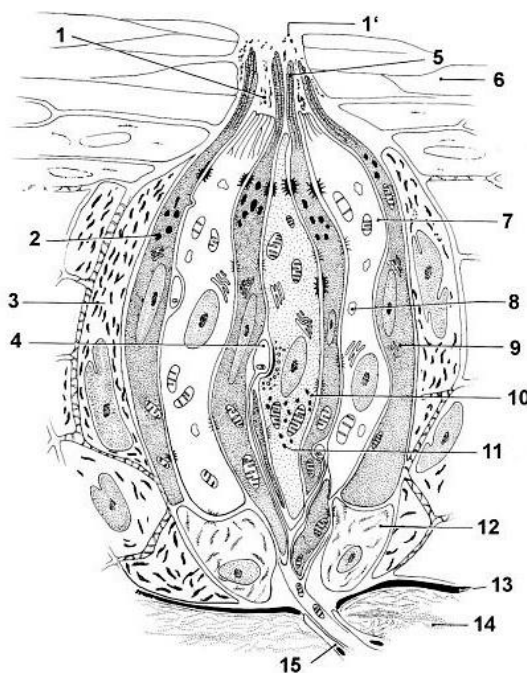
Chuťové ústrojí psa je soustředěno hlavně do jazyka. Rozložení chuťových receptorů, které jsou schopny reagovat na různé chuťové vjemy, není na jazyku rovnoměrné. Jak je vidět na obrázku 3, jsou tyto receptory soustředěny do několika míst v podobě jazykových bradavek (papil) (Reece, 2005).



Obrázek 3 - Jazyk štěněte a jazykové papily (dorzální pohled). Zdroj: Rozinek a Jeřeta, 2012.

Receptorovým orgánem chuti je chuťový pohárek, který se skládá z několika chuťových a několika podpůrných buněk. Řez chuťovým pohárkem je zobrazen na obrázku 4. Chuťové buňky jsou receptory citlivé na chuť. Na konci každé chuťové buňky vystupuje tenké nervové vlákno, které vyčnívá do chuťové jamky (póru) pohárku. Jamka chuťového pohárku je otevřená do dutiny ústní. Každá látka, která se má ochutnat, se musí nejprve převést do roztoku (Reece, 2005).

1. chuťová jamka - 1'. Chuťový pór
2. tmavá korová tělíska
3. pigmentová buňka
4. nervové zakončení
5. mikrokilky
6. povrchový epitel jazyka
7. světlá buňka II. typu
8. vakuolky
9. tmavá buňka I. typu
10. buňka III. typu
11. malá tmavá tělíska
12. bazální buňka
13. bazální membrána
14. vazivová tkáň
15. nerv



Obrázek 4 - Podélný řez chuťovým pohárkem jazyka psa. Zdroj: Rozinek a Jeřeta, 2012.

Chuťové preference pro maso u psů byly určeny s klesající preferencí takto: hovězí > jehněčí > kuřecí > koňské (v syrovém stavu). Pokud bylo podáváno maso v celku vařené, pořadí se změnilo takto: hovězí = vepřové > jehněčí = kuřecí > koňské. Kromě toho psi preferují konzervované nebo vařené maso před syrovým. Některé studie poukazují na možné vlivy použitých surovin (obsah sóji, natrávené krmění pro slepice, sacharidy) a způsobu zpracování (obsah vlhkosti) na chutnost krmění pro psy (Koppel, 2014).

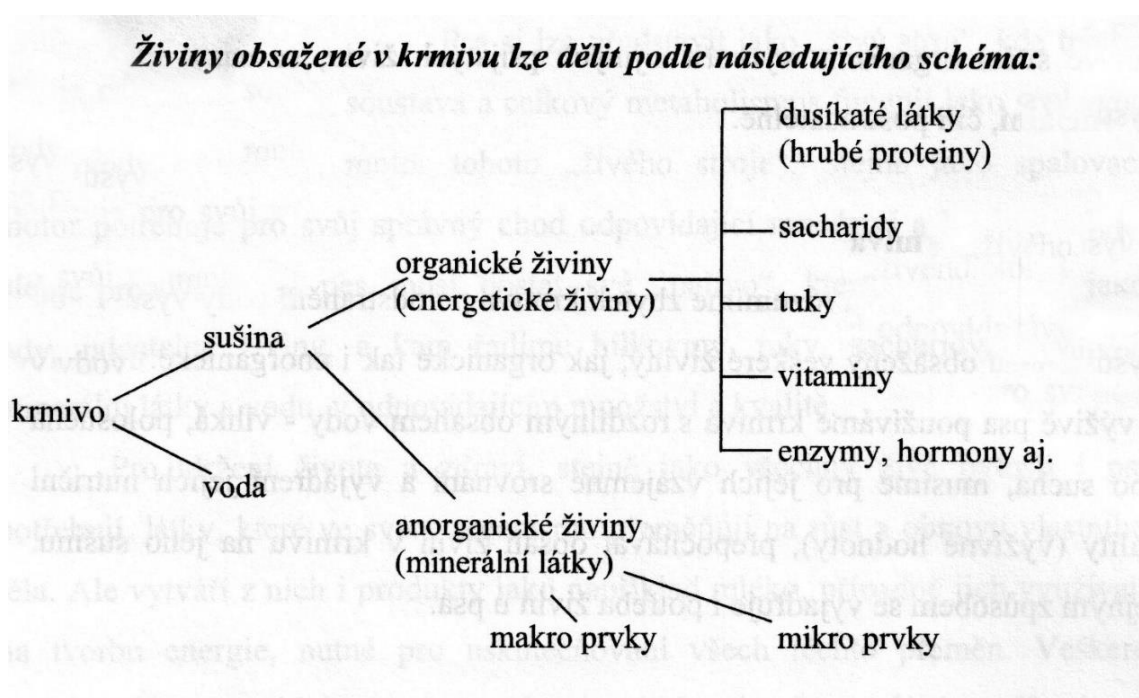
### 3.4 Nutriční požadavky ve výživě psa

Výživa je jedním z nejvýznamnějších faktorů vnějšího prostředí představující 70 % z celkových vnějších vlivů působících na zvíře. Správná výživa je založena na přísunu všech potřebných živin a energie, nutných nejen pro zachování základních životních funkcí organismu psa, ale i pro udržení jeho dobrého zdravotního stavu a optimálního pracovního výkonu (Suchý a kol., 2007).

Psi jsou ve výživě velmi přizpůsobiví, proto mohou přežívat a někdy i prosperovat na široké škále různých typů diet, od čistě vegetariánských až po výhradně masitou stravu. Žádný z těchto extrémů ale nepředstavuje optimální způsob výživy psa. Vzhledem k obrovské variabilitě současných plemen psů, která se vyvíjela v odlišných podmínkách, existují mezi

plemeny určité rozdíly v optimálním zastoupení živočišných a rostlinných krmiv v dietě (Šterc a Štercová, 2014a).

Šest základních složek potravy se podle jejich chemického složení rozděluje na bílkoviny, tuky, sacharidy, vodu, minerální látky a vitamíny. Tyto látky se v přijaté potravě nacházejí v různém množství a vyvážená krmná dávka musí obsahovat všechny z nich v určitém poměru (Reece, 2011). Živiny obsažené v krmivu lze dělit dle schéma na obrázku 5. Jednotlivé složky potravy nejsou vzájemně zaměnitelné ani nahraditelné. Základní výživné látky (bílkoviny, tuky a sacharidy) jsou složité organické sloučeniny, které mají vysoký obsah energie (Procházka, 2005).



Obrázek 5 - Dělení živin obsažených v krmivu. Zdroj: Mudřík a kol., 2007.

### 3.4.1 Bílkoviny

Bílkoviny jsou základními stavebními kameny živého organismu (Mudřík a kol., 2007). Mají pro organismus specifický význam, protože jsou jedinou živinou, která je sama nebo společně s vodou, minerálními látkami a vitamíny schopna vyživovat živočišné buňky (Suchý a kol., 2007). Jsou to makromolekulární látky a skládají především z dusíku, uhlíku, vodíku, kyslíku, síry a fosforu. Jejich základní stavební jednotkou jsou aminokyseliny, z nichž některé jsou tzv. esenciální (pro život nezbytné) (Procházka, 2005). Z hlediska výživy je dle posledních výzkumů rozhodující vzájemný poměr jednotlivých aminokyselin. Hlavní esenciální (nepostradatelné) aminokyseliny ve výživě psa jsou lyzin, tryptofan, histidin, fenylalanin,



leucin, izoleucin, treonin, metionin, valin a arginin. Tyto aminokyseliny musí být v potřebném množství stálou složkou diety. Semiesenciální (částečně nepostradatelné) aminokyseliny mohou být do určité míry syntetizovány v rámci metabolismu z jiných aminokyselin (arginin, cystin a tyrozin). Neesenciální (postradatelné) aminokyseliny jsou rovněž důležitými složkami tělesných bílkovin, ale organismus si je dokáže v potřebném množství vytvářet z jiných aminokyselin nebo i jiných zdrojů dusíku sám (Suchý a kol., 2007).

Za plnohodnotné bílkoviny pro psy považujeme především bílkoviny živočišného původu. Většina živočišných bílkovin má vyšší stravitelnost a příznivější zastoupení esenciálních aminokyselin než bílkoviny rostlinné. U rostlinných bílkovin snižuje jejich využitelnost přítomnost vlákniny a obsah antinutričních látek, které inhibují trávení bílkovin (např. inhibitory proteáz). Rostlinné bílkoviny mají méně příznivé aminokyselinové složení (Šterc a Štercová, 2014a). Nedostatečný obsah bílkovin v dietě psa má různou odezvu a nejčastěji vede k pomalejšímu růstu nebo ke ztrátě hmotnosti a kondice, k vyčerpání tělesných bílkovin a ztrátě svaloviny, ke snížení syntézy a přeměny bílkovin, ke snížení imunity a zvýšené náchylnosti k infekcím (Mudřík a kol., 2007).

#### 3.4.2 **Tuky**

Tuky jsou pro psy hlavním zdrojem energie a patří k nejlépe stravitelným živinám. Jejich stravitelnost se pohybuje přes 90 % (Šterc a Štercová, 2014a). Tuk jako takový má v organismu celou řadu funkcí. Jsou známy tepelné a izolační funkce, tuky jsou součástí buněčných membrán. Z chemického hlediska se skládají z mastných kyselin a glycerolu (trojsytný alkohol). Na jednu molekulu glycerolu se váží stejné nebo i rozdílné mastné kyseliny. Mastné kyseliny dělíme dle vazby, která spojuje uhlíky v molekule na nasycené (jednoduchá vazba) a nenasycené (dvojná nebo trojná vazba) (Mudřík a kol., 2007).

V současné době jsou tuky hodnoceny podle obsahu nenasycených a nasycených mastných kyselin. Nenasycené mastné kyseliny jsou považovány za esenciální živiny. Kyselina linolová je považována za nejdůležitější esenciální mastnou kyselinu, ze které je organismus psa schopen syntetizovat i další nenasycené mastné kyseliny (linolenová a arachidonová). Nedostatek kyseliny linolové vyvolává poruchy látkové výměny, pokles růstu, patologické změny na kůži, špatné hojení ran, poruchy zraku a poruchy v chování a psychice zvířat

(Suchý a kol., 2007). Tuky jsou rovněž nosičem vitamínů rozpustných v tucích (A, D, E a K) (Mudřík a kol., 2007).

V neposlední řadě tuky zvyšují chutnost krmiva a tím i atraktivitu krmiva pro psy (Šterc a Štercová, 2014a). Zvýšený obsah nenasycených mastných kyselin v krmivu se ovšem může projevat i negativně. Tyto kyseliny jsou totiž snadněji oxidovatelné, žluknou a to vede ke znehodnocování jich samotných, ale i dalších živin v krmivu. Velmi důležitou a přirozenou látkou, která chrání nenasycené mastné kyseliny před jejich oxidací je vitamín E (Mudřík a kol., 2007). Výrobci průmyslových krmiv pro psy často používají účinné syntetické antioxidanty, které oxidaci zabraňují (Suchý a kol., 2007).

### 3.4.3 Sacharidy

Sacharidy jsou podobně jako tuky pro psa zdrojem energie. Obsah energie je v sacharidech nižší než v tucích (Mudřík a kol., 2007). Stravitelné sacharidy (monosacharidy) představují pohotovostní zdroj energie pro organismus (Šterc a Štercová, 2014a). Hlavním zdrojem sacharidů jsou rostlinné komponenty krmiva, a protože se v těle ukládají jen omezeně jako glykogen ve svalech a v játrech, jsou jejich nevyužité zbytky přeměněny na tuk a volné mastné kyseliny. Sacharidy lze dělit podle jejich struktury a vlastně i stravitelnosti na monosacharidy, tvořené jednou molekulou uhlíkového řetězce, oligosacharidy, složené ze dvou až deseti monosacharidů a polysacharidy, které mají více než deset monosacharidových jednotek. Nejdůležitějším metabolicky aktivním monosacharidem je glukóza (Mudřík a kol., 2007).

Psi, stejně jako ostatní příslušníci řádu Carnivora, dokážou účinně využívat aminokyseliny z bílkovin k syntéze glukózy v játrech (glukoneogeneze) a jsou tak relativně nezávislí na příjmu sacharidů v potravě. Přesto je přiměřený obsah sacharidů v dietě pro psy výhodný (Šterc a Štercová, 2014a). Bylo prokázáno, že se zvyšujícím se obsahem sacharidů v dietě klesá potřeba bílkovin (Mudřík a kol., 2007). Výsledky výzkumu ukazují, že u psů krmených bez sacharidů je nutné dodat minimálně 33 % bílkovin, aby organismus získal potřebné prekurzory glukózy (Šterc a Štercová, 2014a). Vyšší oligosacharidy (inulin, fruktooligosacharidy) slouží rovněž jako zdroj energie a navíc mají kladné dietetické a zdravotní účinky na organismus. Polysacharidy lze z výživového hlediska dělit na stravitelné (škrob a glykogen) a nestravitelné (vláknina). Nadměrný příjem vlákniny (více než 5 %

obsahu v krmivu) působí negativně, protože snižuje stravitelnost ostatních složek krmiva (Suchý a kol., 2007).

#### 3.4.4 **Voda**

Voda je pro psy minimálně stejně důležitá jako kterákoli jiná živina, a jestliže bez potravy lze přežít i několik týdnů, bez vody pes přežije jen několik dnů a někdy jen pár hodin. Živý organismus obsahuje okolo 60 % vody. Vodu psi přijímají v podobě napájecí vody, poměrně velká část může do organismu přicházet s krmivem a část vody vzniká jako endogenní (metabolická) voda při oxidaci (odbourávání) živin, zejména tuků (Mudřík a kol., 2007). Význam vody pro organismus spočívá především v tom, že je důležitá pro trávicí pochody, pro vstřebávání živin, je významným rozpouštědlem a nosičem řady důležitých látek (Suchý a kol., 2007).

Dostatek pitné, zdravotně nezávadné a přiměřeně teplé vody je základním požadavkem pro zdraví a pohodu (welfare) zvířat. Voda musí být k dispozici neustále. Denní potřeba vody dospělého psa je asi 35 – 50 ml na 1 kg živé hmotnosti. Potřeba vody ale závisí na mnoha faktorech, jako je obsah vody v krmivu, teplota prostředí, pohybová aktivita nebo aktuální zdravotní kondice psa (při průjmech nebo horečnatých stavech se potřeba vody podstatně zvyšuje). Voda hraje velmi významnou roli při regulaci příjmu krmiva. Pes musí na 100 g přijaté sušiny přijmout 250 až 300 g vody. V případě, že pes nemá k dispozici potřebné množství vody, snižuje se u něho ochota krmivo přijímat (Mudřík a kol., 2007).

#### 3.4.5 **Minerální látky**

Minerální látky jsou látky anorganického původu obsažené v krmivu. Představují většinu z obsahu popela (tzn. hodnoty po spálení krmiva při vysoké teplotě). Uvádí se, že savci potřebují celkem 18 minerálních látek, které jsou pro ně esenciální. Dělíme je do dvou skupin na 7 makroprvků (vápník, fosfor, hořčík, sodík, draslík, chlór a síra), které zvířata vyžadují v relativně velkých množstvích (g/den) a 11 mikroprvků (železo, zinek, měď, jód, selen, mangan, kobalt, molybden, fluór, bór a chróm), které jsou vyžadovány v relativně malých množstvích (mg a µg/den) (Šterc a Štercová, 2014a). V tělních tkáních a tekutinách se tyto látky vyskytují v elektrolytické formě jako soli. Jejich úloha v organismu je mnohostranná. Jsou důležité pro správný vývoj kostry, jsou významným faktorem intermediálního metabolismu, podílejí se na udržování acidobazické rovnováhy a stálosti vnitřního prostředí, účastní se tvorby enzymů, hormonů, vitamínů a jiných pro život nezbytných látek. Rozlišují

se tři základní stupně uspokojení potřeby minerálních látek. Optimální příjem minerálních látek je z hlediska zdraví zvířete ideální, nedostatečný i nadměrný příjem, stejně jako nevyvážený poměr mezi jednotlivými prvky, vedou v poměrně krátké době k vážným zdravotním problémům (Suchý a kol., 2007).

Jsou-li některé minerální prvky zkrmovány ve větším množství, mohou u zvířat působit toxicky. Úroveň tolerance se u jednotlivých prvků liší. Arsen, vanad, fluor a molybden jsou více toxické, relativně větší množství niklu a chromu může být v organismu vstřebáno bez jakýchkoliv nepříznivých účinků (Mudřík a kol., 2007). V poslední době se ve zvýšené míře začínají používat stopové prvky vázané ve formě organických sloučenin. Ty se souborně označují jako cheláty stopových prvků a jsou podstatně lépe organismem vstřebávány, než jejich čistě anorganické formy (Suchý a kol., 2007).

#### 3.4.6 Vitamíny

Vitamíny jsou látky organického původu, které se účastní celé řady metabolických pochodů v organismu. Vitamíny rovněž plní funkci katalyzátorů biochemických reakcí. Řadí se mezi esenciální živiny, neboť až na malé výjimky, je organismus nedokáže v potřebné míře syntetizovat a musí být přijímány v krmivu. Vitamíny dělíme do dvou skupin. První jsou vitamíny rozpustné ve vodě (vitamíny skupiny B a vitamín C). Druhou skupinou jsou vitamíny rozpustné v tucích (vitamíny A, D, E a K). U zvířat je třeba zajistit pravidelný přísun vitamínů rozpustných ve vodě, neboť ty se v těle většinou neukládají a jejich přebytek je rychle vylučován z těla močí. Některé vitamíny skupiny B jsou syntetizovány bakteriemi, které osidlují zažívací trakt zvířat. Naproti tomu vitamíny rozpustné v tucích se v těle zvířat ukládají, a proto jejich občasný nedostatek v krmivu nemusí být nebezpečný. Potřebné denní dávky vitamínů jsou relativně nízké a jsou uváděny v mg/kg hmotnosti zvířete. Některé vitamíny jsou v nadbytku toxické. Nejvyšší toxicitu vykazují vitamín A a vitamín D, které jsou rozpustné v tucích a mohou se tak v organismu zvířat kumulovat (Mudřík a kol., 2007).

Vitamín E, který se vyskytuje ve formě  $\alpha$ -tokoferolu, patří mezi přírodní antioxidanty. V organismu ochraňuje fosfolipidové membrány před peroxidací. Podávání vitamínu E zvyšuje produkci protilátek (IgA, IgG, IgM), zlepšuje integritu neutrofilů, napomáhá proliferaci lymfocytů (Suchý a kol., 2007).

### 3.4.7 Energie

Výživnou hodnotu krmiva můžeme vyjádřit zastoupením jednotlivých živin, ale i společným ukazatelem, energetickou hodnotou krmiva. Organismus získává energii oxidací chemických vazeb energetických živin obsažených v krmivu. Žádné zvíře není schopno využít veškerou energii obsaženou v krmivu. Stravitelná energie je množství energie získané z živin krmiva, které jedinec po předchozím strávení vstřebá do svého těla. Metabolizovatelná energie je část energie obsažená v krmivu, která je využitelná v buněčném metabolismu a je rozhodující pro posouzení kvality krmiva. Obsah stravitelné a metabolizovatelné energie v krmivu je ovlivňován především složením krmiva, druhem zvířete a typem zátěže (Mudřík a kol., 2007).

Mnoho chorob je spojeno s příjmem nadměrného množství energie v potravě a bylo prokázáno, že neomezený příjem potravy zkracuje život psa až o 1,8 roku v porovnání se psy, jejichž příjem potravy je omezen a přijatá energie je tak o 25 % nižší (Kealy et al., 2002).

Potřeba energie se běžně udává ve vztahu k tělesné hmotnosti, která je nejsnadněji měřitelná. Avšak tepelné ztráty kolísají nikoliv v závislosti na tělesné hmotnosti, ale v závislosti na velikosti povrchu těla, a proto je obtížné tyto ztráty přesně stanovit. Energetické rovnováhy dosáhneme vyrovnaným příjmem a výdejem energie. I velmi malá nevyrovnanost může vést k obezitě (Mudřík a kol., 2007).

## 3.5 Krmiva pro psy

Domácí psi dnes žijí déle a jsou živeni lépe, než kdy v historii. Trendem dnešní doby je považovat psy za členy rodiny a majitelé pečlivě zvažují, čím budou své domácí mazlíčky krmit, aby jim zajistili dlouhý a spokojený život (Bontempo, 2005).

Psy můžeme krmit třemi základními způsoby. Výhradně průmyslově vyráběnými krmivy (suchými nebo vlhkými), doma připravovanou stravou (vařenou nebo syrovou) nebo jejich kombinací (Šterc a Štercová, 2014b). Psi a kočky využívají čich a chuť při výběru krmiva (Di Donfrancesco et al., 2012). Vzhledem k velké variabilitě plemen psů i jejich individuálních potřeb nelze jednoznačně říci, který ze způsobů je nejlepší. Vždy ale platí, že by se krmná dávka měla skládat ze surovin, které jsou pro psa vhodné a měla by psovi poskytovat potřebné množství energie a živin. Živiny musí být ve využitelné formě a ve vhodném poměru. Nejdůležitější je, aby vybraný způsob krmení vyhovoval konkrétnímu psovi. Ve studii provedené nedávno v Německu bylo zjištěno, že cca 58 % sledovaných psů je krmeno

výhradně průmyslovými krmivy (suchými i vlhkými) a 35 % dostává průmyslová krmiva v kombinaci s dalšími duhy potravy (Šterc a Štercová, 2014b).

### 3.5.1 Průmyslová krmiva pro psy

Průmyslově vyráběná krmiva pro psy jsou jednoduchým a ekonomicky výhodným způsobem, jak domácím psům zajistit potřebnou výživu. 90 % psů v Severní Americe, Japonsku, Severní Evropě, Austrálii a Novém Zélandu je krmeno průmyslovými krmivy (Zicker, 2008).

Tato krmiva pro psy lze dělit dle obsahu živin na kompletní krmiva, doplňková krmiva a příkrmy. Kompletní krmivo musí obsahovat veškeré potřebné živiny ve vyváženém množství a představuje tak z výživového hlediska kompletní krmnou směs. Doplňková krmiva je třeba doplnit o další složky, abychom vyhověli nutričním potřebám psa. Maso z konzervy nebo otruby jsou příkladem doplňkového krmiva. Samy o sobě neobsahují dostatečné množství živin pro plnohodnotnou výživu psa. Příkrmy reprezentují různé pamlsky a pochoutky, které by měly být zkrmovány pouze příležitostně jako odměna, zpestření nebo pro zábavu (Laukner, 2006). Je dobré dodržovat pravidlo, že kalorický příjem, který pes denně získá v podobě příkrmů (pamlsků) by neměl přesáhnout 10 % celkového doporučeného denního příjmu psa (PETMD, 2016b).

Z hlediska vlhkosti lze průmyslová krmiva pro psy rozdělit dle obsahu vody (sušiny) na krmiva suchá (granule), polosuchá (tzv. masovky v celofánovém obalu – podobně jako párky) a krmiva vlhká (konzervy, kapsičky). Suchá krmiva mají do 11 % obsahu vody, polosuchá mezi 25 a 35 % vody a mokrá krmiva mezi 60 a 87 % vody (Zicker, 2008).

Primárním úkolem kompletního krmiva je dodat dostatek živin a energie pro metabolické pochody probíhající v organismu. Kromě této základní funkce se ukazuje, že krmivo může přinášet i další benefity jako je ochrana organismu před různými nemocemi nebo uspokojení z jídla (Bontempo, 2005).

Suchá krmiva se převážně vyrábí jako kompletní krmiva nejčastěji rozdělená a orientovaná na specifická životní období jako je období březosti, laktace, štěněte, růstu, dospělosti a stáří. Často se dělí i dle obsahu energie na krmení vhodná pro psy s vysokou pracovní aktivitou nebo naopak pro psy, kteří potřebují snížit svou váhu. V současné době se na trhu objevují krmiva nejen pro malá a velká plemena, ale i pro konkrétní plemena psů. Existuje mnoho

speciálních receptur pro psy alergické nebo vyžadující speciální dietu odpovídající jejich onemocnění (Mudřík a kol., 2007).

### 3.5.2 Technologie výroby suchých průmyslových krmiv

Kousky suchého krmení (granule) většinou vznikají procesem extruze. Existují i další metody, jako je pečení, odlupování, peletování a drolení. Všechny mají ale společný cíl a to je dosažení vysušeného produktu, který se dobře skladuje a málo se kazí. Vysušené krmivo je chráněno proti kažení nízkou vodní aktivitou a přidané antioxidanty chrání produkt před oxidací. Před vlastní extruzí je třeba smíchat všechny suroviny a protlačit je přes extrudér. V extrudéru na směs působí hned několik sil a to tlak, teplo a tření. Dochází k rychlému „uvaření“ surovin a k jejich usušení. Odkrajovací nůž na konci extrudéru formuje konečnou podobu granulí. Extrudér pracuje s teplotami mezi 100 a 200 °C a s tlaky okolo hodnoty 3,5 MPa. Tím se dosáhne dostatečné tepelné úpravy surovin i jejich hygienické bezpečnosti. Směs surovin před extruzí obsahuje nejčastěji 25 % vody. Produkt vzniklý extruzí obsahuje od 8 do 10 % vody. Takový obsah vody působí jako dostatečná ochrana proti rozmnožení jakýchkoli plísní (Zicker, 2008).

Proces extruze má v krmivech pro masožravce klíčový význam, neboť žádná jiná úprava nezajistí takovou úroveň stravitelnosti rostlinných surovin. Na povrch krmiv mohou být po extruzi aplikovány látky, které zvyšují jejich chutnost. Tato zchutňovadla jsou většinou hydrolyzované formy živočišných tkání, jako jsou játra nebo střeva kuřat. Pro zvýšení chutnosti může být na povrch granulí po extruzi nastříkán rovněž tuk (Mudřík a kol., 2007).

### 3.5.3 Složení suchých průmyslových krmiv pro psy

Mnoho veterinářů i majitelů psů chce vědět, z čeho jsou vlastně granule vyráběny a proč jsou tyto suroviny vhodné pro výživu psů. Výživoví specialisté musí při sestavování receptury posuzovat vhodnost suroviny z několika pohledů. Zajímá je její výživová hodnota, funkčnost, chutnost, stravitelnost a v neposlední řadě její cena. Každá surovina musí být zároveň bezpečná. Každá použitá přísada má své opodstatnění a plní v dietě nějakou funkci (Thompson, 2008). Je důležité si uvědomit, že pro dosažení požadované nutriční hodnoty lze použít různé kombinace vstupních surovin (Zicker, 2008).

Výroba krmiv pro domácí zvířata podléhá v Evropské unii evropské i národní legislativě. Kontrolní činnost vykonávají příslušné kontrolní orgány (v ČR je to Ústřední kontrolní a

zkušební ústav zemědělský - ÚKZÚZ). Označení krmiva jako premium, superpremium, economy, holistic nebo natural nemá žádný legislativní význam. U levného krmiva nelze očekávat vysokou kvalitu prakticky nikdy, ale drahé krmivo nemusí mít nutně kvalitní složení. Často se platí za značku a reklamu (Šterc a Štercová, 2014b).

Pro všechny výrobce je závazný Zákon o krmivech č. 91/1996 Sb. a navazující prováděcí vyhlášky. Tyto legislativní dokumenty stanovují, jaké suroviny a doplňkové látky mohou být v krmivech použity a jaké údaje musí výrobce uvádět na obalu (Mudřík a kol., 2007). Musí být uveden seznam použitých surovin, deklarovaný obsah živin a doporučené dávkování. Z obsahu živin je uveden obsah bílkovin (hrubý protein), tuku, vlákniny, základních minerálních látek a vitamínů (A, D3, E). Často bývá uveden i obsah energie. Dále je zde možné nalézt údaje o výrobci (Šterc a Štercová, 2014b). Příklad etikety uvedené na obalu kompletního suchého granulovaného krmiva pro psy je zobrazena na obrázku 6.

Výrobci krmiv pro domácí zvířata používají suroviny živočišného původu (svalovina, vnitřnosti, vedlejší živočišné produkty většinou ve formě masokostních mouček, odstředěné mléko, syrovátka a podmásli), obiloviny a zeleninu, které jsou téměř vždy vedlejšími produkty potravinářského průmyslu nebo se jedná o přebytky z produkce potravin pro lidskou výživu (Thompson, 2008). Renomovaní výrobci nikdy nepoužívají jako suroviny tkáň nemocných zvířat nebo takové suroviny, které byly vyloučeny z lidské výživy pro svou závadnost. Nepoužívají ani produkty, které pocházejí z těch živočišných druhů, které nejsou využívány pro výživu člověka. Receptury pro výrobu krmiv pro psy se u jednotlivých výrobců liší a dokonce bývají předmětem patentní ochrany (Mudřík a kol., 2007).

Stravitelnost je základní vlastnost krmiva být v procesu trávení rozloženo na jednodušší látky, které se pak ve vstřebatelné formě dostávají až do jednotlivých buněk těla a jejich metabolických pochodů. Stravitelnost je ukazatelem využitelnosti krmiva. Analyticky zjištěný obsah živin v krmivu neposkytuje dostatečné informace o jejich stravitelnosti. Skutečnou stravitelnost krmiva lze zjistit pouze krmným testem na zvířatech. Stanoví se rozdíl mezi množstvím živin podávaných v krmivu a množstvím nestrávených živin obsažených ve výkalech. Stravitelnost se vyjadřuje v % (Mudřík a kol., 2007).

Stravitelnost živin je nejvíce ovlivněna obsahem vlákniny v krmivu. Nízký příjem pro psy nestravitelné vlákniny vede ke snížení peristaltiky střev a je dáván do souvislosti s řadou dietetických poruch. U psů je potřeba vlákniny 2 – 3 % v dietě. Vyšší než 5% zastoupení



vlákniny v krmivu způsobuje u psů snížení stravitelnosti ostatních živin. Zvýšený obsah vlákniny lze ale využít i kladně např. při onemocnění žaludku a trávicí soustavy, diabetu, obezité a v dietách pro staré psy (9 – 10 % i více) (Suchý a kol., 2007).

s tím nejlepším!  
**Analýza:** hrubý protein 25%, hrubý tuk 18%, hrubý popel 6,5%, hrubá vláknina 2,4%, vápník 1,4%, fosfor 1%, omega-3 0,91%, omega-6 3,1%, taurin 1000 mg/kg, L-karnitin (50 mg/kg).  
**Složení:** kuřecí masová moučka (26%), rýže (26%), kukuřice, kuřecí tuk, řepné řízky, čerstvé kuřecí maso (5%), kuřecí výtažek, celá sušená vejce, kvasnice, rybí moučka, lněné semínko, rybí tuk, prebiotika FOS, prebiotika MOS, brusinky, glukosamin (370 mg/kg), MSM (370 mg/kg), Chondroitin (260 mg/kg), extrakt z juky, nukleotidy, extrakt ze zeleného čaje (100 mg/kg), quercitin (100 mg/kg), extrakt z jader hroznového vína (100 mg/kg).  
**Doplňkové látky (na kg)**  
**Nutriční doplňkové látky**  
**Vitamíny:** vitamín A 24 000 MJ, vitamín D3 1 733 MJ, vitamín E 750 MJ.  
**Stopové prvky:** chelát zinku a aminokyselin n-hydrát 333 mg, síran zinečnatý monohydrát 278 mg, síran železnatý monohydrát 167 mg, síran manganatý monohydrát 116 mg, pentahydrát síranu měďnatého 40 mg, chelát mědi a aminokyselin n-hydrát 33 mg, chelát železa a aminokyselin n-hydrát 21 mg, jodičnan vápenatý bezvodý 2,4 mg, seleničitan sodný 0,7 mg. Antioxidanty (výtažky z rozmarýnu a výtažky bohaté na tokoferoly).  
**Doporučené dávkování:** kromě tělesné hmotnosti může mít na krmnou dávku vliv také věk, úroveň aktivity, temperament, trávení a rychlost metabolismu. Doporučené dávkování najdete v níže uvedené tabulce. **Vždy zajistěte, aby měl pes k dispozici dostatek čerstvé čisté pitné vody. SKLADUJTE V CHLADU A SUCHU.**  
**Datum minimální trvanlivosti a číslo šarže jsou uvedeny v horní části obalu.**  
**STAZ, s.r.o**  
**†: +420 553 610 385**  
**www.ardengrange.cz**

Obrázek 6 – Konkrétní ukázka etikety na obalu kompletního suchého granulovaného krmiva pro psy.

V průmyslových krmivech se obsah bílkovin z ekonomických důvodů stanovuje analyticky jako dusíkaté látky nebo hrubý protein (crude protein) metodou podle Kjeldahla nebo Dumase. Principem těchto analytických metod je stanovení celkového dusíku v krmivu, který je pro účely zjištění obsahu hrubého proteinu v krmivu vynásoben koeficientem (zpravidla 6,25). Z toho vyplývá, že údaje o obsahu bílkovin, uváděné na obalech průmyslových krmiv, neodpovídají skutečnému obsahu bílkovin v krmivu, ale pouze obsahu dusíku přepočítaného dle koeficientu na obsah bílkovin bez rozlišení jeho původu. Ze samotné hodnoty udávající obsah bílkovin nelze určit ani jejich kvalitu a ani to, zda se opravdu jedná o bílkoviny nebo

anorganicky vázaný dusík. Pro objektivní posouzení kvality bílkovin by bylo třeba provést analýzu aminokyselin, což se ale vzhledem k ceně běžně neprovádí (Šterc a Štercová, 2014a). Znalost potřeby jednotlivých aminokyselin je z dietetického hlediska důležitější, než je obsah dusíkatých látek nebo hrubého proteinu v krmivu (Suchý a kol., 2007).

Sacharidy jsou z výživového hlediska především zdrojem pohotové energie. Pro volně žijící masožravce jsou sacharidy méně významnou živinou. Přirozená krmiva masožravců obsahují jen zanedbatelné množství sacharidů v podobě glykogenu ve svalovině a játrech kořisti. U průmyslových krmiv pro psy je situace poněkud jiná. Nejrozumnější cereálie a cereální produkty tvoří poměrně velkou část krmiva zejména u lacinějších produktů. Psi ale nedokáží tak efektivně trávit polysacharidy jako praví všežravci a proto se musí krmiva technologicky upravovat, nejčastěji extruzí (Suchý a kol., 2007). Psi, tak jako lidé, jsou vnímaví k obsahu mono- a disacharidů, zvláště pak fruktózy a sacharózy nebo náhradních sladidel v potravě (Di Donfrancesco et al., 2012). U psů proto zvyšují sacharidy chutnost krmiva (Mudřík a kol., 2007).

Z uvedených hodnot analýzy základních živin na obalu krmení lze odhadnout, zda je krmivo vhodné pro konkrétního psa, ale jeho kvalita se podle nich nepozná. Pro posouzení kvality má větší vypovídající hodnotu seznam použitých surovin, kde jsou uvedeny všechny komponenty použité při výrobě krmiva, seřazené podle hmotnosti v sestupném pořadí. Pokud jsou na prvních místech seznamu uvedeny jednodruhové živočišné produkty, bude mít vyšší kvalitu, než krmivo, u kterého na počátečních místech seznamu převládají obiloviny nebo vedlejší živočišné produkty (Šterc a Štercová, 2014a).

Výrobci průmyslových krmiv pro psy často směsi obohacují o další zdraví prospěšné látky, jako je například L-karnitin (hraje klíčovou roli v metabolismu kosterní svaloviny a srdečního svalu, je vhodný pro psy v zátěži, sportovní, lovecké, služební, pro psy seniory a pro psy obézní), antioxidanty, lecitin (přírodní směs fosfolipidů pro správnou funkci nervového systému, zlepšení kondice, má antioxidační účinky),  $\beta$ -karoten (působí na zvýšení reprodukčních schopností), oligosacharidy (pozitivní působení na střevní mikroflóru), chondroprotektiva (glukosamin a chondroitin pro správnou funkci kostí a chrupavek) a desodorázu (směs přírodních látek extrahovaných z rostliny rodu *Yucca* pro snížení zápachu psích výkalů a snížení produkce škodlivého amoniaku ve střevech) (Suchý a kol., 2007).

### 3.5.4 Antioxidanty v suchých průmyslových krmivech pro psy

Suché průmyslové krmivo je chráněno proti kažení už svým nízkým obsahem vody, ale aby vydrželo rok i déle čerstvé a nedocházelo k oxidaci (žluknutí) tuků, používají výrobci různé antioxidanty (Zicker, 2008). Butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), tokoferoly a organické kyseliny stejně jako výtažky z koření a dalších rostlin jsou společně nejčastěji používanými antioxidanty v suchém průmyslovém krmivu pro domácí mazlíčky (Koppel et al., 2013). Směsi tokoferolů lze považovat jen za velmi slabé antioxidanty, proto se ke zvýšení jejich antioxidačního účinku přidávají kyselina citronová, vitamín C, lecitin, rozmarýnový extrakt apod. (Suchý a kol., 2007). Antioxidanty chrání krmivo před kažením a mají příznivý vliv na zdraví. Neutralizují volné radikály, které se do organismu dostávají externě nebo vznikají i interně. K externím zdrojům volných radikálů patří například UV záření, radiace, některé léky, anestetika a celá řada dalších látek. Volné radikály způsobují v organismu zvířete snížení integrity biologických membrán a snižují jejich propustnost, čímž narušují funkci buněk, a tím je poškozují. Dochází k tzv. oxidačnímu stresu (Suchý a kol., 2007).

Antioxidanty fungují nejlépe, pokud jsou přidávány již na počátku procesu výroby krmiva. Další výhodou je jejich schopnost synergického účinku, pokud je zvolena jejich vhodná kombinace. Přírodní antioxidanty jako je například vitamín E (směs tokoferolů), vitamín C nebo bylinky (např. rozmarýn) lze do krmiva přidat i ve formě ovoce a zeleniny (brusinky, jablka, rajčata, borůvky apod.). Syntetické antioxidanty jako BHA, BHT a etoxyquin jsou velmi účinné a vysoce stabilní i během procesu zpracování surovin (PETMD, 2016a).

Vitamín E byl z přírodních antioxidantů prozkoumán nejvíce. V roce 1985 byl považován za ideální obsah vitamínu E 22 mg/kg diety. Pokud však dieta obsahovala vyšší podíl polynenasycených mastných kyselin (PUFA), bylo třeba zvýšit množství vitamínu E až na 100 mg/kg diety a vzájemný poměr vitamínu E k obsahu PUFA měl být minimálně 0,6:1. V dnešní době je obsah vitamínu E v dietě poměrně variabilní od 14 do 400 mg/kg. V roce 2000 bylo oznámeno, že množství vitamínu E 500 mg/kg může mít příznivý vliv na antioxidační kapacitu organismu (Bontempo, 2005).

Komerční BHA je směsí dvou izomerů. Asi 90 % představuje 3-tert-butyl-4-hydroxyanisol (3-BHA) a 10 % jeho isomer 2-tert-butyl-4-hydroxyanisol. BHA je účinný zejména pro ochranu tuků obsahující mastné kyseliny s kratším řetězcem (kokosový, palmojádrový olej),

vůně a barvy silic. Stejně jako BHT se často používá v obalových materiálech, odkud může migrovat do potravin. Obě sloučeniny se mohou projevovat pachem připomínající fenoly. BHT je ve srovnání s BHA poněkud účinnější jako antioxidant živočišných tuků. BHA vykazuje synergismus s BHT. Nejvyšší povolená množství jsou stanovena legislativou a uvedena v tabulce 1 (Velíšek a Hajšlová, 2009). Jeden z nejučinnějších syntetických antioxidantů je etoxyquin (dříve santokin) na bázi chinolinového dusíkatého heterocyklu 6-etoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydrochinolin. Často jsou diskutovány jeho neurotoxické a kancerogenní účinky. Dlouhodobé studie u psů ale ukazují, že tyto negativní účinky vznikají jen při nestandardně vysokých dávkách této látky (Suchý a kol., 2007).

Tabulka 1- Nejvyšší povolená množství BHA, BHT, etoxyquinu v krmivech.

Č. EU	Doplňková látka	Chemický vzorec, popis	Druh nebo kategorie zvířat	Max. stáří	Obsah v mg/kg kompletního krmiva max.	Jiná ustanovení
<b>E320</b>	butylhydroxyanisol (BHA)	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	psi	-	150 samotný nebo dohromady s E321	směs etoxyquinu s BHA a/nebo BHT nesmí překročit 150 mg v 1 kg kompletního krmiva
<b>E321</b>	butylhydroxytoluen (BHT)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	psi	-	150 samotný nebo dohromady s E320	směs etoxyquinu s BHA a/nebo BHT nesmí překročit 150 mg v 1 kg kompletního krmiva
<b>E324</b>	etoxyquin	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> ON	psi	-	100	směs etoxyquinu s BHA a/nebo BHT nesmí překročit 150 mg v 1 kg kompletního krmiva

Zdroj: Vyhláška č. 295/2015 Sb. o provedení některých ustanovení zákona o krmivech, 2015.

### 3.6 Senzoricky významné látky v suchém krmivu pro psy

Současné výzkumy ukazují, že suché krmivo pro psy je produktem s kompletní aromatickou charakteristikou. Při chemické analýze 14 druhů suchých průmyslových krmiv s obilninami a bez obilnin pro psy bylo identifikováno až 54 různých aromatických látek uvedených v tabulce 2, které byly rozděleny do deseti skupin na alkoholy (6 sloučenin), aldehydy (15 sloučenin), ketony (11 sloučenin), estery (1 sloučenina), sirné látky (1 sloučenina), pyraziny (7 sloučenin), furany (2 sloučeniny), alkany (1 sloučenina), deriváty benzenu (6 sloučenin) a terpeny (4 sloučeniny). Suchá krmiva s obilninami vykazovala vyšší obsah aromatických látek (průměrně 22,07 µg/kg) než krmiva bez obilnin (průměrně 13,63 µg/kg). Suchá krmiva pro psy obsahují suroviny s rozdílnou aromaticností. Z obilnin se používá ječmen, oves, rýže, pšenice a kukuřice, z masa hovězí, kuřecí, vepřové, kachní, krůtí, jehněčí, zvěřina, buvol atd., živočišné tuky nebo rostlinné oleje, vitamíny a minerály, antioxidanty a další složky (Koppel et al., 2013).

Busko et al. (2010) prokázali, že z obilnin má nejnižší aromaticnost rýže, přičemž tvrdá pšenice vykazuje naopak aromaticnost nejvyšší. Koppel et al. (2013) ale zjistili, že vzorek krmení, který z obilnin obsahoval pouze rýži, vykazoval druhý nejvyšší obsah aromatických látek. Tento výsledek ukazuje na obsah dalších aromatických látek a také na fakt, že látky významné pro celkový aromatický profil vznikají při tepelném zpracování surovin procesem extruze (tzv. Maillardovy reakce) a další při oxidaci tuků.

Maillardovy reakce jsou reakce ne-enzymatického hnědnutí při tepelném zpracování potravin, kdy dochází k reakcím mezi sacharidy a aminokyselinami obsaženými v potravíně. Vzniká skupina produktů, z nichž některé jsou nízkomolekulární aromatické látky a vzniká i skupina látek polymerního charakteru, které mají vliv na barvu a texturu potraviny. Zejména melanoidiny, které vznikají v pozdějším stádiu reakce, mají největší vliv na výslednou barvu potraviny (Patrignani et al., 2016).

Více než 50 % aromatických látek identifikovaných ve 14 druzích granulí pro psy byly aldehydy. Živočišný tuk, zejména kuřecí, je jednou z nejčastějších složek suchého krmení pro psy, přičemž aldehydy představují nejčastější produkt oxidace tuků. Kromě toho se ukázalo, že právě proces extruze přispívá ke vzniku aldehydů a ketonů z tukových složek směsi. Aldehydy, ketony a alkoholy patří mezi nejčastější aromatické látky přítomné v běžných obilninách. Aldehydy hrají významnou roli v kvalitě obilovin a mají významný vliv na

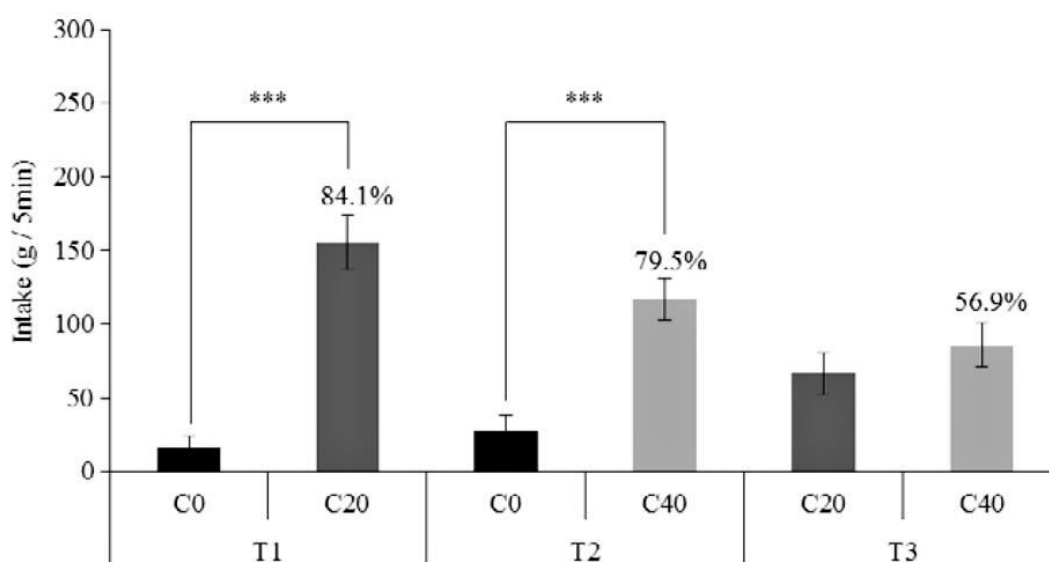
aromatický profil obilných produktů. Aldehydy byly v současné době určeny jako nejbohatší skupina sensoricky významných látek v potravinách z obilnin (Koppel et al., 2013).

Tabulka 2 – seznam 54 aromatických sloučenin v suchém krmivu s obilovinami pro psy.  
Zdroj: Koppel et al., 2013.

<b>Aldehydy</b>	<b>Ketony</b>	<b>Pyraziny</b>
hexanal	1-(2-furanyl)ethanon	methylpyrazin
furfural	6-methyl-2-heptanon	2,5-dimethylpyrazin
2-methyl-2-pentenal	2,6-oktandion	2,3-dimethylpyrazin
2-hexenal	6-methyl-5-hepten-2-on	Trimethylpyrazin
heptanal	2-heptanon	2-ethenyl, 6-methylpyrazin
3-methylthiopropenal	5-methyl-2-(1-methylethyl)cyklohexanon	tetramethylpyrazin
2-heptenal	(E,E)-3,5-oktadien-2-on	2-ethyl, 3,5-dimethylpyrazin
benzaldehyd	2-nonanon	<b>Alkoholy</b>
oktanal	2,2-dihydroxy-1-phenylethanon	1-methylcyklohexanol
2-oktenal	3,5-oktadien-2-on	1-pentanol
nonanal	3-okten-2-on	3-propyl-2,4-pentadien-1-ol
2-butyl-2-oktenal	<b>Deriváty benzenu</b>	1-okten-3-ol
benzenacetaldehyd	styren	2-furanmethanol
2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-karboxaldehyd	1-methyl-4-(1-methylethyl)1,4-cyklohexadien	borneol
3-phenyl-2-propenal	1,2,3-trimethylbenzen	<b>Sirné sloučeniny</b>
<b>Alkany</b>	butylhydroxytoluen (BHT)	dimethyldisulfid
3-methylheptan	fenol	<b>Terpeny</b>
<b>Furany</b>	1-ethyl-2-methylbenzen	1 (R) - $\alpha$ -pinen
2-butylfuran	<b>Estery</b>	$\beta$ -pinen
2-pentylfuran	ethylester kyseliny kaprinové	limonen
		eukalyptol

Většina současných poznatků o sensorických vjemech zvířat je založena na pozorování jejich chování. Běžnou metodou studia chuťových vjemů u zvířat je preferenční test. Reakce se klasifikují jako vjem příjemný, nepříjemný a indiferentní (neutrální). Chuťové schopnosti zvířat se liší jak mezidruhově tak i mezi jednotlivci. Látka považovaná za příjemnou jedním psem, může být druhým hodnocena jako nepříjemná nebo indiferentní (Reece, 2005).

V roce 2015 byla zveřejněna studie, která zkoumala preference psů k suchému krmivu, obohacenému o esterifikované mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem, které jsou považovány za zvláště vhodné pro prevenci nebo léčbu obezity. Jedná se hlavně o kyselinu kaprylovou (C8:0) a kyselinu kapronovou (C10:0), které patří mezi mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem. Jako zdroj těchto dvou kyselin byl zvolen sójovo – řepkový a kokosový olej. Skupina 18 beaglů (10 kastrováných psů a 8 kastrováných fen) byla rozdělena do tří skupin. Experiment měl podobu preferenčního testu, kdy bylo psům individuálně předkládáno současně krmivo bez a s přidanými mastnými kyselinami (8 %). Byly prováděny tři různé experimenty dle vzájemného poměru přidaného sójovo – řepkového a kokosového oleje. C0 byla dieta bez přidaného oleje, dieta C20 byla obohacena o olej smíchaný z 80 % sójovo – řepkového a 20 % kokosového oleje a dieta C40 byla obohacena o olej smíchaný z 60 % sójovo – řepkového a 40 % kokosového oleje. Psům byly v době krmení nabídnuty dvě misky vždy s C0 a C20, C0 a C40 nebo C20 a C40. Testovaným psům bylo podáváno 500 g každé z diet a měli přístup ke krmivu po dobu 5 minut. Zbylé krmivo bylo zváženo a preference vypočtena z poměru jednotlivých diet k celkově spotřebovanému krmivu. Bylo prokázáno, že psi preferují dietu obohacenou o olej (84,1% preference C20:C0, 79,5% preference C40:C0), ale nedělají velké rozdíly mezi oběma dietami obohacenými olejem v různém poměru (56,9% preference diety C40:C20) jak je vidět z grafu na obrázku 7 (Fragua et al., 2015).



Obrázek 7 – příjem jednotlivých diet (g) C0, C20 a C40 během 3 preferenčních testů (T1, T2, T3). Zdroj: Fragua et al., 2015.

Senzorické vlastnosti krmiva, jako je vzhled, vůně, textura a chuť jsou nejdůležitějšími znaky, které určují chutnost krmiva. Metody senzorické analýzy mohou pomoci výrobcům krmiva pochopit nákupní chování majitelů psů a akceptovatelnost krmiva samotnými psy. Senzorická analýza má dvě hlavní skupiny metod: laboratorní (popisnou a rozlišovací) a konzumentské metody (stanovení preferencí, posouzení jakosti, atd.). Vzhled, vůně, chuť a textura krmení pro psy může být posouzena lidmi a přístroji, zatímco preference nebo konzumace může být zkoumána s využitím psů. Využití lidí při senzorickém hodnocení krmení pro psy má samozřejmě svoje limity, protože lidské vnímání chutě a vůně se od psiho liší (Koppel, 2014).

### **3.7 Metody stanovení aromatických látek**

Aromatické látky jsou látky, které působí na čichové receptory a vyvolávají tak dojem vůně. Mohou současně působit i na chuťové receptory a být tak zároveň látkami chuťovými. Z chemického hlediska se jedná o skupinu převážně málo polárních až nepolárních látek, které jsou ve vodě málo rozpustné až nerozpustné (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Pro stanovení aromatických látek lze využít buď metody olfaktometrické (čichové zkoušky) nebo metody chemické analýzy (nejběžněji plynová chromatografie) (Biniecka a Caroli, 2011). Čichové zkoušky patří k nejstarším způsobům hodnocení potravin a dnes patří spolu s dalšími testy, např. chuťovými, do oboru "Senzorická analýza potravin". Tento vědecký obor se zakládá na empirických zkušenostech proškolených hodnotitelů. Vědecké základy položili v 19. století němečtí fyziologové Weber a Fechner, kteří popsali závislosti mezi podněty a smyslovými orgány a přeměnu nervového vzruchu na smyslový vjem (Kraus et al., 2008). Olfaktometrické (čichové zkoušky) představují výzkumný přístup založený na posouzení a odhadu intenzity vůně složené ze skupiny látek. Na rozdíl od chemické analýzy nedokáží čichové zkoušky identifikovat a posoudit jednotlivé látky nebo skupiny látek odděleně. Přesto lze pomocí limitů detekce odhadnout koncentraci vůně (Biniecka a Caroli, 2011).

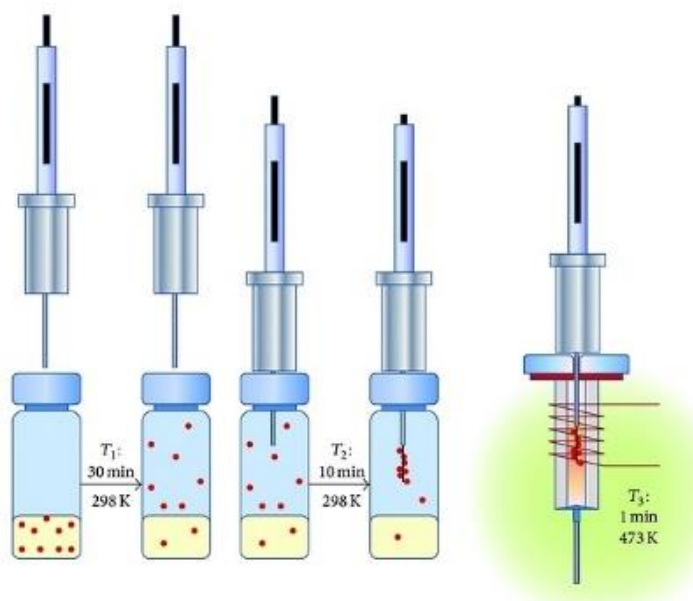
Níže jsou uvedeny informace o vhodných metodách chemické analýzy včetně speciální techniky GC/O, která kombinuje oba výše uvedené přístupy.

#### **3.7.1 Vhodné metody extrakce**

Mikroextrakce pevnou fází (Solid-Phase Micro-Extraction – SPME) je v současné době velmi oblíbenou metodou používanou při analýze těkavých látek. Hlavní výhodou této metody je absence rozpouštědla. Nejčastěji používaným extrakčním nosičem je vlákno z taveného



křemíku, který je chemicky inertním materiálem. Vlákno je chráněno proti rozbití pohyblivým krytem z polymeru. Při aplikaci vlákna do tekutého vzorku dochází k nachytání analytu na vlákno. Lze využít i modifikovaný způsob s tzv. headspace extrakcí, kdy není vlákno ponořeno přímo do kapalného vzorku, ale jímá odpařující se látky nad jeho povrchem. Princip Headspace SPME extrakce je zobrazen na obrázku 8. Analyt je poté přenesen přímo do zařízení pro separaci (plynový chromatograf) a detekován na detektoru (Biniacka a Caroli, 2011).



Obrázek 8 – Princip Headspace SPME extrakce. Zdroj: Indelicato et al., 2014.

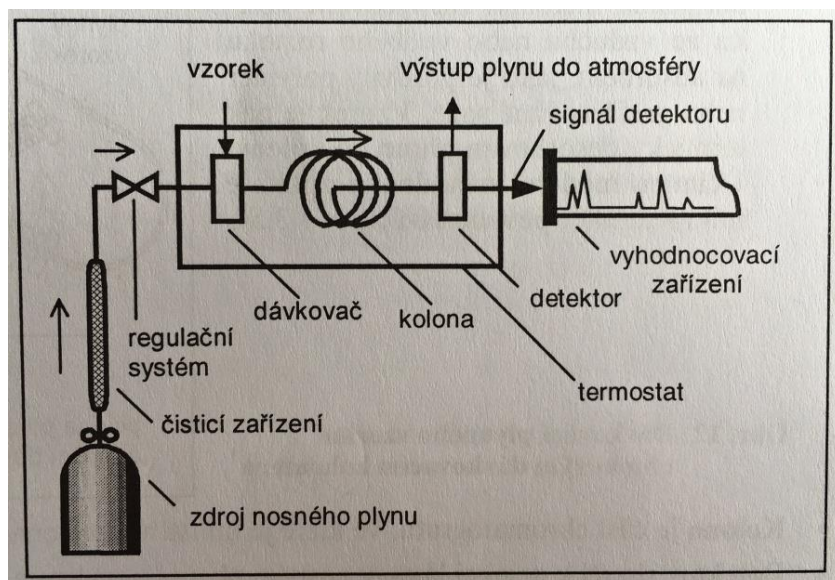
### 3.7.2 Vhodné separační metody

Separací je v analytické chemii myšlena operace, kdy se vzorek dělí na alespoň dva podíly odlišného složení. V chromatografii se vzorek vnáší mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá a mobilní fáze se pohybuje. Vzorek se umísťuje na začátek stacionární fáze (kolona) a je pohybem mobilní fáze přes fázi stacionární unášen soustavou. Jednotlivé složky vzorku mohou být stacionární fází různě silně zachycovány, a proto se při pohybu kolonou zdržují. Více se zdržují složky analytu, které jsou silněji poutány stacionární fází. Tím se postupně od sebe složky separují a na konec stacionární fáze doputují dříve složky méně zadržované (Klouda, 2003). Schéma plynového chromatografu je zobrazeno na obrázku 9.

### 3.7.3 Plynová chromatografie

Jedním ze základních předpokladů plynové chromatografie (GC) je, že látky, které chceme separovat a následně detekovat musí být tak těkavé, jak je potřeba s ohledem na provozní teploty zařízení, zatímco stacionární fáze musí být dostatečně netěkavá a teplotně stabilní. Molekulové hmotnosti látek vhodných pro separaci pomocí GC leží v intervalu mezi 2 – 2500 Da (Biniecka a Caroli, 2011).

V GC se vzorek dávkuje do proudu inertního nosného plynu (vodík, dusík, helium nebo argon), který jej unáší kolonou. Aby mohl být vzorek unášen kolonou, musí se ihned přeměnit na plyn, proto jsou pro analytické stanovení pomocí GC vhodné chemické látky, které mají dostatečný tlak syté páry a jsou tepelně stálé (Klouda, 2003).



Obrázek 9 - Schéma plynového chromatografu. Zdroj: Klouda, 2003.

### 3.7.4 Detekční metody

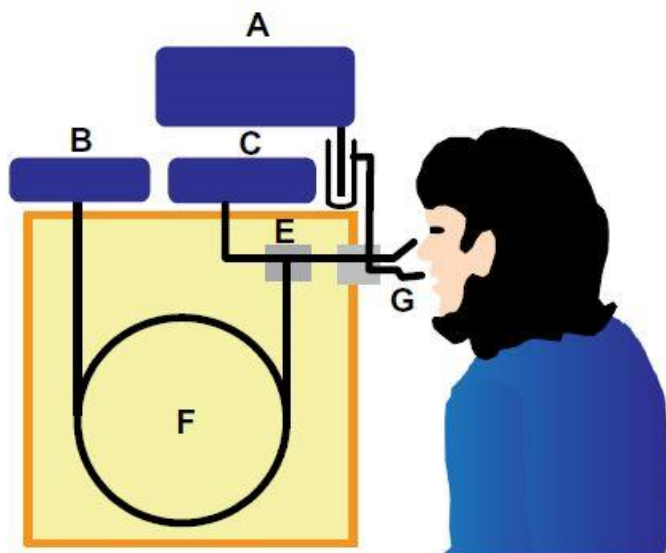
Běžným způsobem detekce používaným ve spojení s GC je metoda využívající hmotnostní spektrometrii. Jde o všestrannou, rychlou a citlivou analytickou metodu, která je často využívána v kvalitativní i kvantitativní chemické analýze, protože poskytuje velké množství informací o vzorku a jeho složení. Principem metody je převod vzorku na ionizovanou plynnou fázi a separace vzniklých iontů podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje  $m/z$ . Základními kroky metody jsou: odpaření vzorku → ionizace vzorku (ve spojení s GC se používají tzv. tvrdé ionizační techniky jako je elektronová ionizace a chemická ionizace) → akcelerace iontů do hmotnostního spektrometru → separace iontů hmotnostním analyzátozem

(sektorový, kvadrupólový, trojitý kvadrupól, iontová past, analyzátor doby letu, orbitrap) → detekce iontů (Faraday cup, elektronový násobič). Výstupem z hmotnostního spektrometru jsou chromatogramy a hmotnostní spektra (Klouda, 2003).

### 3.7.5 Speciální způsoby stanovení těkavých látek

#### 3.7.5.1 Systém GC/O

GC/O (plynová chromatografie/olfaktometrie) je velmi slibnou technologií, jejíž analytický potenciál nebyl ještě zcela odhalen. Byla představena v roce 1964 a v současnosti se jí dostává novému zájmu díky speciálnímu detektoru, se kterým je spojena – lidskému nosu. Na obrázku 10 je zobrazeno schéma tohoto přístroje (Biniecka a Caroli, 2011).

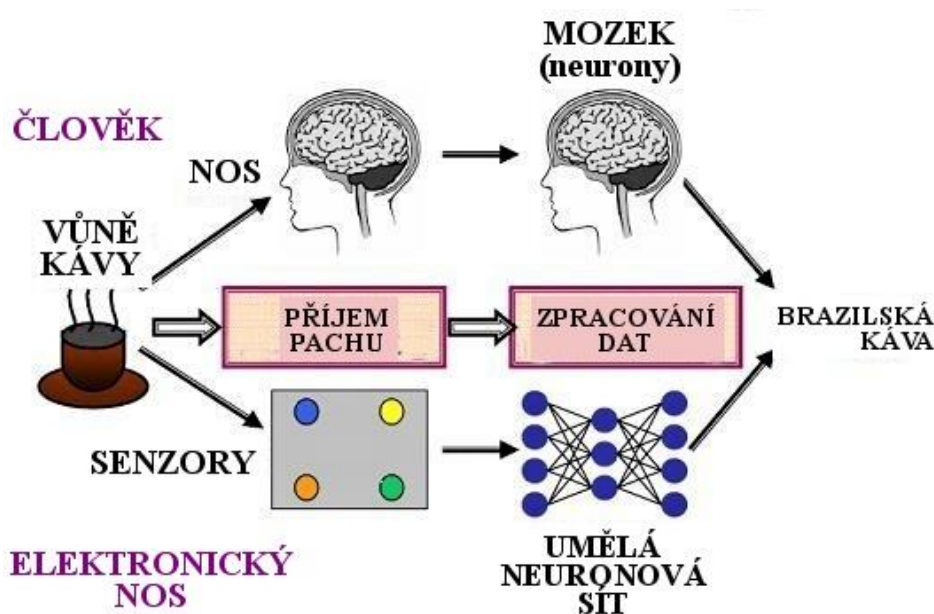


Obrázek 10 – Schéma systému MC/O: A – zvlhčovač vzduchu; B – injektor; C – detektor; E – splitter; F – GC kolona; G – číhací prostor. Zdroj: Biniecka a Caroli, 2011.

Tato metoda, která se nazývá Osme (řecky pach) spojuje GC, hmotnostní spektrometrii a jedinečný lidský nos. Analyt je na konci prostoru GC rozdělen na dvě části a je veden současně dvěma větvemi stejnou rychlostí. Jedna větev vede polovinu analytu na detekci pomocí hmotnostní spektrometrie a druhá polovina vede k číhacímu prostoru, kam je přikládán lidský nos. Pokud analytikův nos zachytí pach, vyšle manuálně signál, který označí odpovídající místo na výstupu z hmotnostního spektrometru. Intenzita a druh pachu jsou rovněž hodnoceny analytikem (Biniecka a Caroli, 2011).

### 3.7.5.2 Elektronický nos

Pro detekci a klasifikaci vůní a zápachů bylo v 80. letech 20. století vyvinuto zařízení, které se označuje jako elektronický nos (Loutfi et al., 2014). Toto zařízení se skládá z chemických senzorů, které jsou uspořádány do řady. Detekovaným chemickým signálům se přiřazují konkrétní pachy podle shody s vhodným vzorem. Elektronický nos se obecně skládá ze dvou částí: z prostoru, kde jsou umístěny senzory a z části, kde dochází ke zpracování získaných signálů a přiřazení konkrétních pachových vzorů (Ehret et al., 2011). Zjednodušené schéma příjmu a zpracování vůně člověkem a pomocí elektronického nosu je zobrazeno na obrázku 11. Využití elektronických nosů v praxi je velmi atraktivní hned z několika důvodů: rychlé vyhodnocení, kvantitativní výstupy a poměrně levné senzory, které lze lehce přizpůsobit pro konkrétní účel (Loutfi et al., 2014). V současné době jsou elektronické nosy využívány v celé řadě odvětví. Slouží ke kontrole kvality při produkci potravin a nápojů, ke kontrole kvality při výrobě aut, k vývoji nových vůní, k monitorování znečištění životního prostředí nebo v lékařství k diagnostice nemocí z dechu pacientů. Dalším vhodným využitím elektronických nosů je detekce nebezpečných látek, např. výbušnin a drog (Ehret et al., 2011).



Obrázek 11 – Zjednodušené schéma příjmu a zpracování vůně člověkem a pomocí elektronického nosu. Zdroj: <http://www.celebritydiagnosis.com/>.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Experiment – preferenční testy

Prvotním experimentem této diplomové práce bylo stanovení preferencí psů mezi dvěma dietami suchého průmyslového krmení na základě informací z chovatelské praxe.

#### 4.1.1 Popis vzorků

V maloobchodní síti specializovaných prodejen s krmivem pro domácí mazlíčky byla zakoupena dvě spotřebitelská balení suchého průmyslového krmení pro dospělé psy velkých plemen (26 až 44 kg v dospělosti) se zvýšeným obsahem energie (pro sportovní a pracovní psy, březí a kojící feny). Nutriční hodnoty a složení vzorků uvádí tabulka 3. Jednalo se o produkty dvou výrobců s mezinárodní působností.

#### 4.1.2 Přístroje a zařízení

Pro realizaci preferenčního testu formou „two-pan testu“ byla zvolena plastová dvojmiska o objemu 2 x 0,45 l od výrobce Hagen Deutschland GmbH, Německo zakoupená v řetězci obchodů chovatelských potřeb Super Zoo v Praze. Dvojmiska byla pro potřeby testu označena velkými písmeny A a B černou lihovou fixou jak je vidět na obrázku 12. K navažování 100 g suchého krmení byla používána digitální kuchyňská váha značky SilverCrest typ SKWD A1 od výrobce MGG Elektro GmbH, Německo s maximální váživostí 5 kg a s přesností vážení  $d = 1$  g. K měření času byla používána digitální kuchyňská minutka značky Tchibo GmbH, Německo.



Obrázek 12 – Dvojmiska se vzorky A1 a B1.

Pro potřeby experimentu bylo zvoleno šest fen plemene barzoi (ruský chrt) ve věku 1, 4, 6, 6, 8 a 12 let. Osmiletá fena byla v době testování již několik let po kastraci. Experiment byl realizován ve dvou domácnostech, kde jsou psi krmeni převážně suchými průmyslovými krmivy různé kvality a jsou přivyklí na jejich střídání. Psům není podávána žádná speciální dieta ani potraviny lidské výživy. Psi přijímají suchá průmyslově vyráběná krmiva bez problémů. V období před a v průběhu experimentu nebyly u vybraných jedinců pozorovány žádné zdravotní nebo zažívací potíže. Feny konzumovaly své běžné denní dávky krmiva bez problémů.

Tabulka 3 - Nutriční hodnoty a složení vzorků suchého krmení A1 a B1.

Kód	Hrubý protein (%)	Hrubý tuk (%)	Uvedené surovinové složení
A1	28	16	Kukuřice, drůbeží masová moučka, škvarky, hovězí tuk, drůbeží tuk, rýžová mouka, hemoglobin (sušený), jehněčí masová moučka, rybí moučka, cukrovarské řízky, játrový hydrolyzát, slunečnicový olej (0,75 %), jablečná matolína (sušená) (0,7 %), vejce sušená, chlorid sodný, droždí (sušené), chlorid draselný, řepkový olej (0,25 %), ječmen (fermentovaný) (0,2 %), mořské řasy (sušené) (0,15 %), lněné semínko (0,15 %), artyčoky, pampeliška, maso mořských mušlí (sušené) (0,02 %), zázvor, listy břízy, kopřiva, šalvěj, koriandr, rozmarýn, tymián, kořen lékořice, heřmánek, tavolník, medvědí česnek. (Bylinky celkem: 0,14 %). Antioxidanty: přírodní extrakty s vysokým obsahem tokoferolu.
B1	28	18	Rýže, dehydrované drůbeží maso, živočišné tuky, kukuřičný gluten, hydrolyzované živočišné proteiny, řepné řízky, izolát rostlinných proteinů*, rostlinná vláknina, rybí tuk, minerální látky, sójový olej, slupky a semena Psyllia, hydrolyzát droždí (zdroj manno-oligosacharidů), sušená vaječná hmota, olej z brutnáku lékařského (0,1 %), hydrolyzovaní korýši (zdroj glukosaminu), hydrolyzovaná chrupavka (zdroj chondroitinu). Konzervant: sorban draselný. Antioxidanty: propylgalát, BHA. * L.I.P.: vybrané, lehce stravitelné bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou.

Pozn.: údaje uváděné výrobcí.

#### 4.1.3 Použité metody

Experiment byl realizován metodou preferenčního testu a to formou modifikovaného „two-pan testu“ podle Fragua et al. (2015), kdy měli psi možnost svobodné volby a mohli se sami rozhodnout, kterému ze dvou současně předložených vzorků granulí dají přednost a kolik gramů vzorků zkonsumují během 1 minuty.

Před vlastním měřením probíhalo třídní přivykací období na krmení z dvojmisky. Pro tyto účely bylo použito jiné suché průmyslové krmení pro psy. 2 x 100 g vzorků v suchém stavu bylo psům předkládáno hodinu po jejich běžném nakrmení. Byla sledována jejich první volba (který vzorek ochutnají jako první) a byl jim ponechán čas v délce 1 minuty na konzumaci. Probíhající experiment je zachycen na obrázku 13. Pozice vzorků se vůči psovi každý den měnila v pozici opačnou. Po uplynutí doby bylo zváženo zkonsumované množství vzorku A1 a vzorku B1.

Experiment probíhal po dobu 5 dnů v řadě. Z některých měření byly pořizovány fotografie a video. Po každém měření byly zaznamenány tři údaje:

1. pozice vzorků,
2. první volba,
3. množství zkonsumovaného krmiva ve stanoveném časovém limitu.



Obrázek 13 – Jedna z fotografií zachycující probíhající preferenční test.

## 4.2 Chemická analýza

Chemická analýza senzoricky aktivních látek v krmivu pro psy, která měla za úkol nalézt rozdíly mezi nutričně srovnatelnými dietami od dvou mezinárodních výrobců, navazovala na realizovaný preferenční test.

### 4.2.1 Popis vzorků

Předmětem chemické analýzy bylo šest vzorků suchých průmyslových krmení pro psy velkých plemen (26 až 44 kg v dospělosti) od dvou zavedených výrobců s mezinárodní působností. Přehled vzorků je uveden v tabulce 4. V tabulce 5 jsou uvedeny nutriční hodnoty a surovinové složení vzorků. Vzorky byly vybrány na základě informací z chovatelské praxe. Vzorky A1 a B1 byly rovněž součástí vzorků zhodnocených pomocí chemické analýzy.

Tabulka 4 – Přehled vzorků a jejich určení.

Vzorek	Určení
<b>A1</b>	pro dospělé sportovní a pracovní psy, březí a kojící feny
<b>A2</b>	pro štěňata od 6. do 18. měsíce věku
<b>A3</b>	pro štěňata od 1. do 5. měsíce věku
<b>B1</b>	pro dospělé sportovní a pracovní psy, březí a kojící feny
<b>B2</b>	pro štěňata od 5. do 15. měsíce věku
<b>B3</b>	pro štěňata od 1. do 4. měsíce věku

Pozn.: údaje uváděné výrobcí.



Tabulka 5 - Nutriční hodnoty a složení šesti vzorků suchého krmení.

Kód	Hrubý protein (%)	Hrubý tuk (%)	Uvedené surovinové složení
A1	28	16	Kukuřice, drůbeží masová moučka, škvarky, hovězí tuk, drůbeží tuk, rýžová mouka, hemoglobin (sušený), jehněčí masová moučka, rybí moučka, cukrovarské řízky, játrový hydrolyzát, slunečnicový olej (0,75 %), jablečná matolína (sušená) (0,7 %), vejce sušená, chlorid sodný, droždí (sušené), chlorid draselný, řepkový olej (0,25 %), ječmen (fermentovaný) (0,2 %), mořské řasy (sušené) (0,15 %), lněné semínko (0,15 %), artyčoky, pampeliška, maso mořských mušlí (sušené) (0,02 %), zázvor, listy břízy, kopřiva, šalvěj, koriandr, rozmarýn, tymián, kořen lékořice, heřmánek, tavolník, medvědí česnek. (Bylinky celkem: 0,14 %). Antioxidanty: přírodní extrakty s vysokým obsahem tokoferolu.
A2	23	15	Kukuřice, drůbeží masová moučka (14 %), drůbeží tuk, hovězí lůj, jehněčí masová moučka (4 %), škvarky, rybí moučka (3 %), rýžová mouka (3 %), játrový hydrolyzát, cukrovarské řízky, jablečná matolína (sušená) (1 %), sušená vejce, chlorid sodný, droždí (sušené), chlorid draselný, ječmen (fermentovaný) (0,2 %), mořské řasy (sušené) (0,15 %), lněné semeno (0,15 %), droždí (extrahované), artyčoky, pampeliška, zázvor, list břízy, kopřiva, šalvěj, koriandr, rozmarýn, tymián, kořen lékořice, mořské měkkýše (sušené) (0,01 %), heřmánek, tužebník, medvědí česnek. (Bylinky celkem: 0,14 %). Antioxidanty: přírodní extrakty s vysokým obsahem tokoferolu.
A3	29	15	Kukuřičná mouka, drůbeží masová moučka (14 %), škvarky, drůbeží tuk, hovězí lůj, jehněčí masová moučka (4 %), rybí moučka (4 %), rýžová mouka (4 %), játrový hydrolyzát, cukrovarské řízky, sušená vejce, jablečná matolína (sušená) (0,6 %), chlorid sodný, droždí (sušené), chlorid draselný, ječmen (fermentovaný) (0,2 %), mořské řasy (sušené) (0,15 %), lněné semeno (0,15 %), droždí (extrahované), artyčoky, pampeliška, zázvor, listy břízy, kopřiva, šalvěj, koriandr, rozmarýn, tymián, kořen lékořice, mořské měkkýše (sušené) (0,01 %), heřmánek, tužebník, medvědí česnek. (Bylinky celkem: 0,14 %). Antioxidanty: přírodní extrakty s vysokým obsahem tokoferolu.

Pozn.: údaje uváděné výrobcí.

Pokračování tabulky 5.

Kód	Hrubý protein (%)	Hrubý tuk (%)	Uvedené surovinové složení
<b>B1</b>	28	18	Rýže, dehydrované drůbeží maso, živočišné tuky, kukuřičný gluten, hydrolyzované živočišné proteiny, řepné řízky, izolát rostlinných proteinů*, rostlinná vláknina, rybí tuk, minerální látky, sójový olej, slupky a semena Psyllia, hydrolyzát droždí (zdroj manno-oligosacharidů), sušená vaječná hmota, olej z brutnáku lékařského (0,1 %), hydrolyzovaní korýši (zdroj glukosaminu), hydrolyzovaná chrupavka (zdroj chondroitinu). Konzervant: sorban draselný. Antioxidanty: propylgalát, BHA. *L.I.P.: vybrané, lehce stravitelné bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou.
<b>B2</b>	32	14	Kukuřice, dehydratované drůbeží maso, izolát rostlinných proteinů*, živočišné tuky, kukuřičný gluten, rýže, hydrolyzované živočišné proteiny, kukuřičná moučka, řepné řízky, minerální látky, sójový olej, sušená vaječná hmota, rybí tuk, frukto-oligosacharidy, slupka a semena Psyllia, hydrolyzát droždí (zdroj manno-oligosacharidů), hydrolyzovaní korýši (zdroj glukosaminu), výtažek z měsíčku lékařského (zdroj luteinu), hydrolyzovaná chrupavka (zdroj chondroitinu). Konzervant: sorban draselný. Antioxidanty: propylgalát, BHA. *L.I.P. : vybrané, lehce stravitelné bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou.
<b>B3</b>	30	22	Rýže, dehydrované kuřecí proteiny, živočišné tuky, izolát rostlinných proteinů*, hydrolyzované živočišné proteiny, kukuřice, řepné řízky, minerální látky, sójový olej, rostlinná vláknina, rybí tuk, sůl mastné kyseliny, frukto-oligosacharidy, slupky a semena Psyllia, hydrolyzát droždí (zdroj manno-oligosacharidů a beta-glukanů), výtažek z měsíčku lékařského (zdroj luteinu). Konzervant: sorban draselný. Antioxidanty: propylgalát, BHA. *L.I.P.: vybrané, lehce stravitelné bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou.

Pozn.: údaje uváděné výrobcí.

#### 4.2.2 **Přístroje a zařízení**

- laboratorní váhy FX-200-EC (e = 0,01 g, d = 0,001 g) - A&D Instruments Ltd
- keramická třecí miska
- plastové mikro-zkumavky (1,5 ml)
- třepačka CHS Vortex – ARGO LAB, Itálie
- laboratorní odstředivka EBA 21 - Andreas Hettich GmbH, Německo
- skleněné vialky o objemu 2 ml
- mechanická pipeta Eppendorf Research Plus - Eppendorf GmbH, Německo
- plynový chromatograf 7890A s hmotnostním detektorem 5975C (jednoduchý kvadrupól) - Agilent Technologies, Kalifornie
- kolona HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) - Agilent Technologies, Kalifornie

#### 4.2.3 **Chemikálie a roztoky**

Jako extrakční činidlo byl použit n-Hexan od výrobce MERCK KGaA, Darmstadt, Německo v čistotě pro GC.

#### 4.2.4 **Použité metody**

Pro extrakci látek byla zvolena metoda extrakce kapalinou, konkrétně n-Hexanem. Bylo naváženo 5 g každého ze vzorků na laboratorních vahách. Vzorky byly manuálně mělněny v keramické třecí misce. K 100 mg rozmělněného vzorku byl v plastové mikro-zkumavce o objemu 1,5 ml přidán 1 ml n-Hexanu. Vzorek byl následně mechanicky promíchán na třepačce CHS Vortex při frekvenci 2000 kmitů/min po dobu 1 minuty. Následovalo odstředění vzorků laboratorní odstředivkou při 15 000 otáčkách/minutu po dobu 5 minut. 1 ml supernatantu byl přepipetován do skleněné vialky o objemu 2 ml.

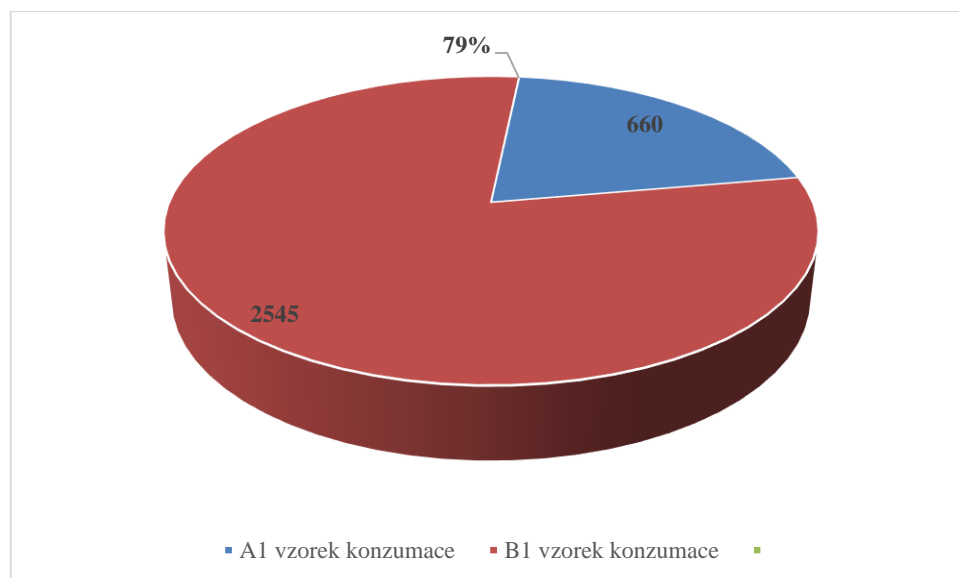
Extrakty byly analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Podmínky metody byly nastaveny následovně. Nástřík vzorku o objemu 1  $\mu$ l do nástřikové jednotky (injektoru) vyhřáté na 250 °C ve splitovém poměru 12:1. Nosným plynem bylo Helium o průtoku 1 ml/min. Teplotní program pro dělení látek kolonou byl nastaven na počátečních 60 °C po dobu prvních 3 minut a poté byla teplota zvyšována rychlostí 3 °C za minutu až po dosažení teploty 231 °C, která byla držena po dobu 10 minut. Celková doba analýzy jednoho vzorku byla 70 minut. Detekce látek byla prováděna v tzv. „full scan“ modu. Ionizační energie byla nastavena na 70 eV.

## 5 Výsledky

### 5.1 Preferenční testy

Výsledky preferenčních testů ukázaly jednoznačnou preferenci vzorku B1 před vzorkem A1.

Všechna zjištěná data zaznamenaná během experimentu jsou uvedena v tabulce 6 včetně celkové konzumace vzorků v průběhu experimentu a procentuálních preferencí. Preference byly vypočteny z poměru jednotlivých diet k celkově spotřebovanému krmivu při testech. Krmivo B1 bylo celkově preferováno ze 79 %, krmivo A1 z 21 %, jak je znázorněno grafem na obrázku 14.



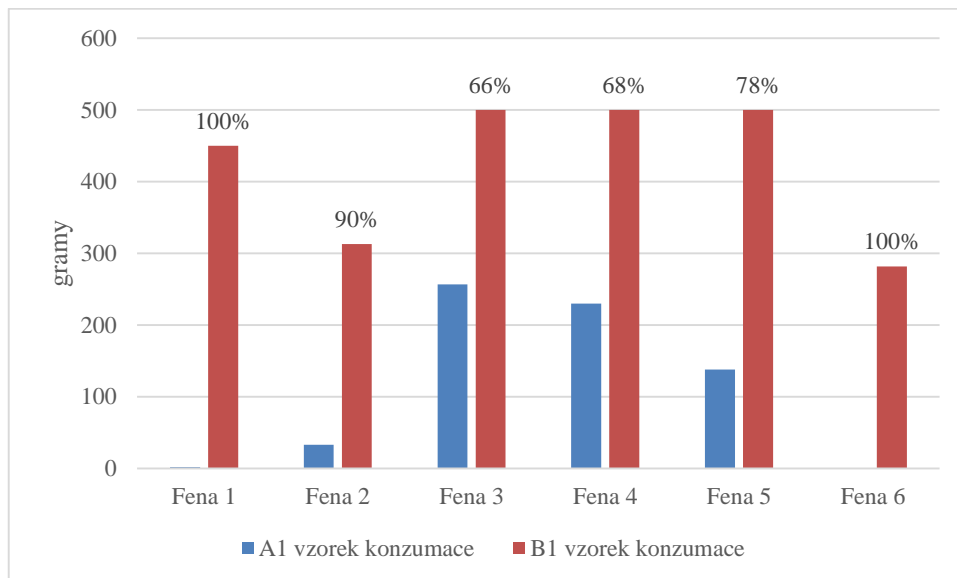
Obrázek 14 - Celkové preference vyjádřené v gramech a v %.

Z celkového počtu 30 testů byla 4 x první volba vzorek A1 a 26 x vzorek B1. Žádná fena nečinila dvakrát první volbu vzorku A1. Dvě testované feny volily vždy jen vzorek B1.

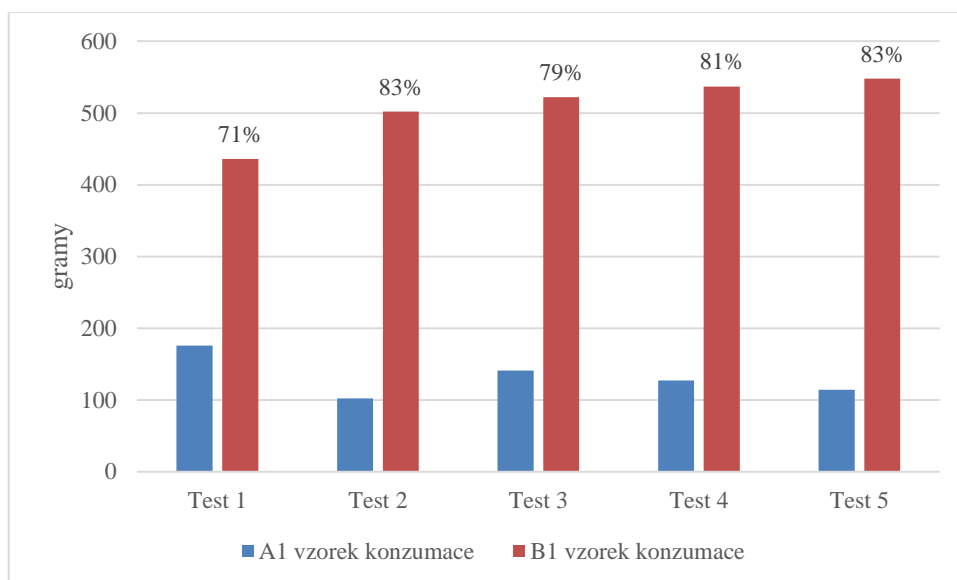
Tabulka 6 – Hodnoty zaznamenané při preferenčních testech.

test	pes	1. volba	konzumace vzorek A1 (g za 1 min)	konzumace vzorek B1 (g za 1 min)	konzumace celkem (g)	pozice vzorků (2 x 100 g)
Test 1	Fena 1	B	0	50	50	AB
	Fena 2	B	18	29	47	BA
	Fena 3	A	57	100	157	AB
	Fena 4	B	52	100	152	AB
	Fena 5	B	49	100	149	AB
	Fena 6	B	0	57	57	AB
Test 2	Fena 1	B	0	100	100	BA
	Fena 2	B	7	58	65	AB
	Fena 3	B	50	100	150	BA
	Fena 4	B	34	100	134	BA
	Fena 5	A	11	100	111	BA
	Fena 6	A	0	44	44	BA
Test 3	Fena 1	B	2	100	102	AB
	Fena 2	A	6	67	73	BA
	Fena 3	B	51	100	151	AB
	Fena 4	B	46	100	146	AB
	Fena 5	B	36	100	136	AB
	Fena 6	B	0	55	55	AB
Test 4	Fena 1	B	0	100	100	BA
	Fena 2	B	1	77	78	AB
	Fena 3	B	50	100	150	BA
	Fena 4	B	48	100	148	BA
	Fena 5	B	28	100	128	BA
	Fena 6	B	0	60	60	BA
Test 5	Fena 1	B	0	100	100	AB
	Fena 2	B	1	82	83	BA
	Fena 3	B	49	100	149	AB
	Fena 4	B	50	100	150	AB
	Fena 5	B	14	100	114	AB
	Fena 6	B	0	66	66	AB
<b>Celkem (g)</b>			<b>660</b>	<b>2545</b>	<b>3205</b>	
<b>Celkem (%)</b>			<b>21</b>	<b>79</b>	<b>100</b>	

Individuální rozdíly v konzumaci a tím i v preferencích mezi fenami znázorňuje graf na obrázku 15. Konzumaci i preference všech fen v součtu v jednotlivých testech znázorňuje graf na obrázku 16.

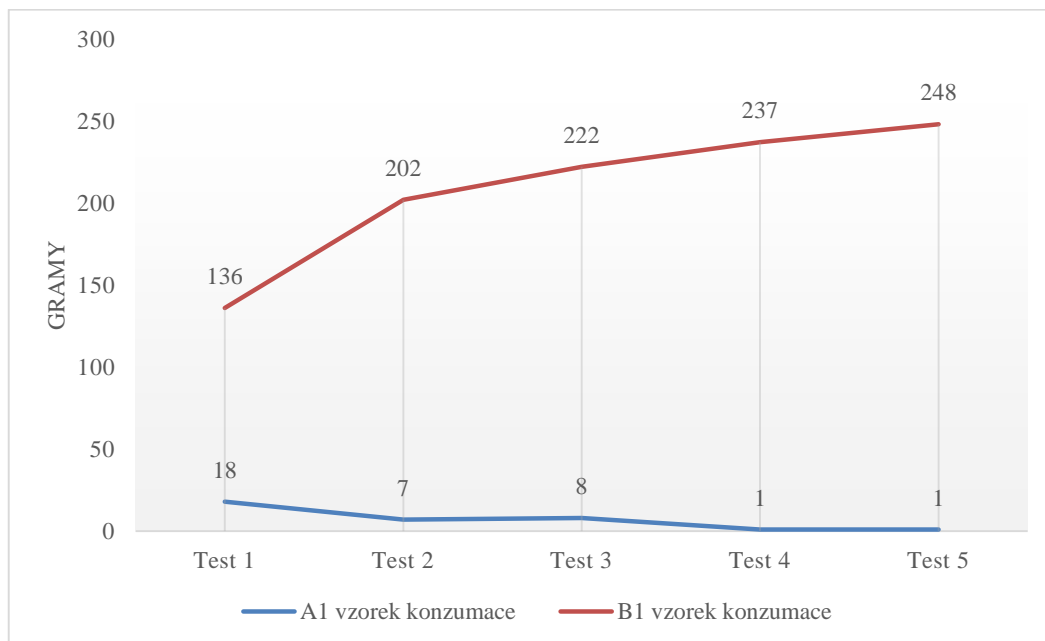


Obrázek 15 - Celkové preference jednotlivých fen v %.



Obrázek 16 – Preference všech fen v součtu v jednotlivých testech v %.

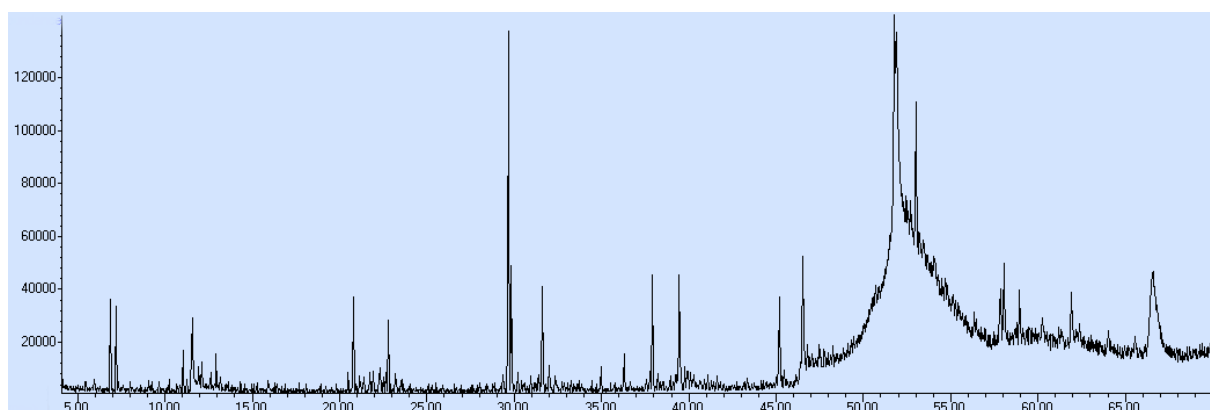
Feny 1, 2 a 6 vykazovaly podprůměrné hodnoty konzumace. Vývoj jejich konzumací je znázorněn grafem na obrázku 17.



Obrázek 17 - Konzumace Feny 1, Feny 2 a Feny 6 v součtu dle testů.

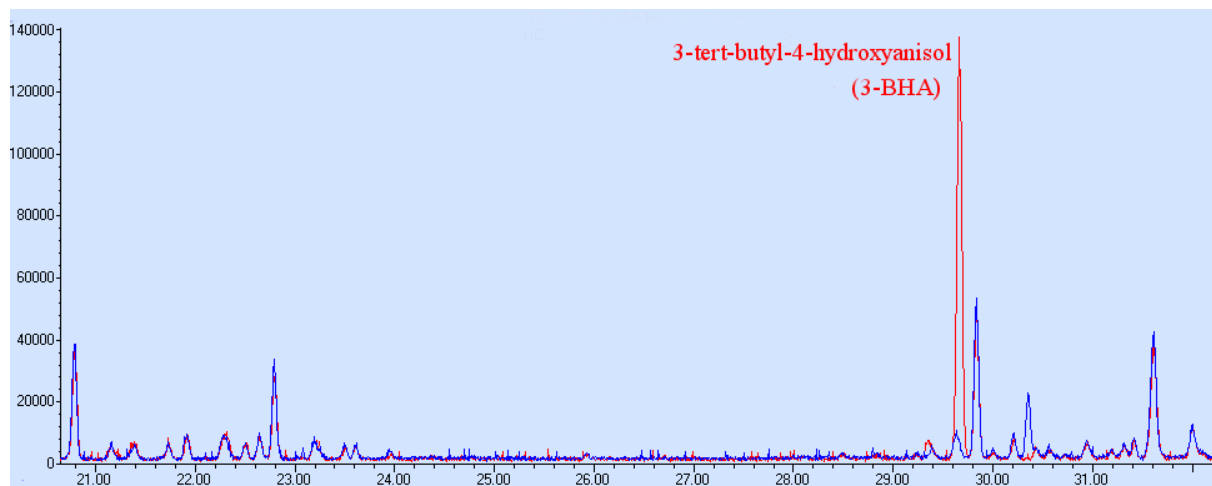
## 5.2 Chemická analýza

Chemická analýza šesti vzorků suchého krmení pro psy byla zaměřena především na hledání hlavních rozdílů v sensoricky aktivních látkách. Na obrázku 18 je zobrazen celkový chromatogram vzorku B1.



Obrázek 18 – Celkový chromatogram vzorku B1.

Obrázek 19 zobrazuje srovnání chromatogramů vzorku A1 (modře) a B1 (červeně), ze kterého je zřetelný hlavní rozdíl v profilu aromatických látek, který lze pozorovat zejména u látky s retenčním časem 29,665 minut. Tato látka byla identifikována jako 3-tert-butyl-4-hydroxyanisol (3-BHA).



Obrázek 19 – Překryv chromatogramů vzorku A1 (modře) a B1 (červeně).

3-BHA byl nalezen ve všech třech vzorcích krmiva B jako jedna z majoritních složek aromatických látek. V tabulce 7 jsou uvedena relativní procentuální zastoupení této látky na základě poměrů k celkové ploše pík aromatických látek zaznamenaných na chromatogramu.

Tabulka 7 - relativní procentuální zastoupení 3-BHA na základě poměrů k celkové ploše pík.

vzorek	zastoupení 3-BHA v %	vzorek	zastoupení 3-BHA v %
A1	0,16	B1	8,03
A2	0,13	B2	5,16
A3	0,09	B3	8,46



## 6 Diskuse

Z výsledků vyplývá, že psi preferují granule B1 s 79% preferencí, což potvrdilo informace z chovatelské praxe. Pokud spočítáme průměrnou preferenci z uvedených údajů vztažených na feny (obrázek 15), kdy preference jednotlivých fen byly v pořadí Fena 1 až Fena 6 100, 90, 66, 68, 78 a 100 %, získáme celkovou preferenci krmiva B1 o hodnotě 84 %, což je o 6 % vyšší hodnota. Ve skutečnosti je však preference ještě vyšší. Z pozorování chování fen během experimentu bylo patrné, že Fena 3 (66% preference krmiva B1) a Fena 4 (68% preference krmiva B1) zkonsumovaly nejprve 100% krmiva B1 a ve zbylém čase začaly konzumovat i krmivo A1, než jim bylo odebráno z důvodu uplynutí stanoveného časového limitu v délce 1 minuty. Lze tedy říci, že Fena 3 i Fena 4 vykazovaly 100% preferenci krmiva B1. Pokud bychom přepočítali preference znovu s hodnotami preferencí jednotlivých fen v pořadí Fena 1 až Fena 6 100, 90, 100, 100, 78 a 100 %, získáme průměrnou preferenci krmiva B1 ve výši 95 %. Lze tedy s jistotou tvrdit, že psi skutečně preferují krmivo B1, pokud mají možnost výběru mezi krmivem A1 a B1.

Je třeba zdůraznit, že výběr psů pro experiment byl velmi důležitý. Vybrané feny nejsou zvyklé na lidskou stravu a konzumují suché průmyslové krmivo bez problémů. Důležitým faktorem bylo rovněž testování v domácích podmínkách, které eliminovalo vliv změny prostředí, který by mohl působit jako silný stresový faktor a výsledky experimentu negativně ovlivnit. Fragua et al. (2015) ve svém preferenčním testu použili 18 psů plemene beagle. Jednalo se o skupinu laboratorních psů na universitě v Barceloně, kteří měli pro testování ideální předpoklady. V našich podmínkách nebyla taková skupina psů k dispozici. Výběrem vhodných psů bylo třeba co možná nejlépe napodobit podmínky experimentu.

Během testování byla rovněž patrná zvyšující se preference diety B1 s přibývajícím počtem testů, jak je vidět na grafu na obrázku 16. Preference diety B1 v prvním testu odpovídala 71 %, ve druhém testu vyskočila na 83 %, ve třetím mírně poklesla na 79 %, ale v následujících testech postupně stoupala přes 81 % ve čtvrtém testu na konečných 83 % v posledním, pátém testu. Je možné předpokládat, že by s přibývajícím počtem testů preference B1 rostla až k odhadovaným 95 %. Feny pravděpodobně s opakováním testů získaly zkušenosti, které se promítaly do jejich preferencí, přičemž množství zkonsumovaného krmiva zůstávalo na průměrné hodnotě 641 g na jeden test. Množství krmiva, které je fena schopná zkonsumovat za 1 minutu se může značně lišit a úzce souvisí s individualitou feny. Nejmenší množství zkonsumovala Fena 6 (celkově 282 g) a naopak nejvyšší množství zkonsumovala Fena 3

(celkově 757 g). Zjištěná průměrná konzumace krmiva na jednu fenu za celé testování byla 534 g.

První volba fen během experimentu (který ze vzorků fena ochutnala jako první), byla zhodnocena poměrem 4 x A1:26 x B1 (ve 4 případech z 30 testů fena jako první ochutnala krmivo A1). Tento poměr jasně dokazuje, že feny preferují krmivo B1 čichem. Z pečlivého pozorování chování fen v průběhu experimentu bylo zjištěno, že pokud fena ochutnala krmivo A1 jako první, často ihned přešla na krmivo B1, které konzumovala až do vypršení časového limitu nebo se vrátila ke konzumaci krmiva A1 až po zkonsumování celého vzorku B1.

Z uvedeného složení testovaných a analyzovaných krmiv v tabulce 6 vyplývá, že dominantní složkou vybraných krmiv nebylo maso (lépe řečeno masová moučka), ale obiloviny. U krmení A se jednalo o kukuřici a u krmení B o rýži (u vzorku B2 kukuřice). Vzorek A1 z kukuřice byl testován vůči vzorku B2, jehož podílově největší složkou je rýže. Busco et al. (2010) sice zjistili, že z obilnin má rýže nejnižší aromaticnost, ale Koppel et al. (2013) prokázali, že vzorek krmení, který z obilnin obsahoval pouze rýži, vykazoval druhý nejvyšší obsah aromatických látek ze 14 druhů analyzovaných granulí. Tento výsledek ukazuje také na fakt, že látky významné pro celkový aromatický profil vznikají při tepelném zpracování surovin procesem extruze (tzv. Maillardovy reakce) a další při oxidaci tuků. Z uvedených zjištění vyplývá, že kompletní suché krmivo z převahou rýže může být aromatictější než krmivo s převahou kukuřice.

Při chemické analýze byl stanoven aromatický profil všech šesti vzorků krmení v podobě celkových chromatogramů. Při porovnávání celkových profilů vzorku A1 ku B1, vzorku A2 ku B2 a vzorku A3 ku B3, byl identifikován jeden výrazný rozdílný pík v retenčním čase odpovídající 29,665 minut. Látka byla identifikována jako 3-BHA, známá jako součást syntetického antioxidantu BHA. Velíšek a Hajšlová (2009) uvádějí, že komerčně používaná směs BHA je tvořena z 90 % isomerem 3-BHA a z 10 % isomerem 2-terc-butyl-4-hydroxyanisolem. BHA se může projevovat pachem připomínajícím fenoly. Některé zdroje uvádějí, že syntetické antioxidanty jsou účinnější a stabilnější než antioxidanty přírodní, které mohou být zejména při tepelném opracování surovin zničeny (Bontempo, 2005; Suchý a kol., 2007). Lze tedy říci, že syntetické antioxidanty, v našem případě BHA, lépe chrání aroma použitých surovin a samy zároveň mohou mít aroma vlastní, jak prokázala chemická analýzy senzoricky aktivních látek na plynovém chromatografu.

Vzorky A a B se od sebe lišily hlavně druhem přidaných antioxidantů, jejichž použití bylo v souladu s legislativou uvedeno na obalu. Krmení A deklarovalo použití pouze přírodních antioxidantů (bylinky 0,14 %) a krmení B uvádělo použití antioxidantů propylgalát a BHA. Z výsledků měření a z preferenčních testů lze usuzovat, že právě BHA hraje klíčovou roli v atraktivitě krmiva pro psy, buď tím, že lépe ochraňuje sensorické látky přirozeně obsažené v použitých surovinách nebo je samo o sobe sensoricky atraktivní látkou pro psy.

Použití syntetických antioxidantů jako je BHA, je nicméně stále sporným tématem mezi výrobci, veterináři, odbornou veřejností a majiteli psů. Přestože výzkumy poslední doby ukazují, že se není třeba obávat zdravotního rizika v podobě karcinogenních účinků (Suchý a kol., 2007), vzbuzují syntetické antioxidanty stále obavy a je možné, že zodpovědní majitelé psů dávají přednost krmivům s přírodními antioxidanty.

Je možné, že realizovaná extrakce a analýza plynovou chromatografií nezachytila všechny aromatické látky v krmivu. Právě metodu extrakce by bylo v budoucnu možné realizovat formou Headspace SPME, která byla použita při analýzách 14 druhů suchých průmyslových krmiv pro psy a při které Koppel et al. (2013) identifikovali až 54 různých aromatických látek. Další navrhovanou metodou je využití sensorické analýzy v kombinaci s chemickou analýzou aromatických látek v krmivu. Takovou metodou je zmiňovaný systém GC/O (plynová chromatografie/olfaktometrie) zachycená na obrázku 10, která by mohla pomoci objasnit, jaké sensorické látky jsou v krmivu pro psy atraktivní.

Preferenčním testem, které by bylo zajímavé v budoucnu realizovat, by byl test preferencí mezi krmivem A a vzorkem krmiva A obohaceným o přídavek BHA. Tak by bylo možné s jistotou říci, že je BHA skutečným atraktantem v krmivu pro psy.

Závěrem je třeba podotknout, že průmysl krmiv pro domácí mazlíčky je rychle rostoucím odvětvím a například v roce 2014 dosáhly v USA prodeje krmiv pro domácí mazlíčky hodnoty 21,4 biliónů USD a mají rostoucí tendenci (Pet Food Institute, 2015). Chutnost krmiva je jedním z klíčových faktorů, který ovlivňuje spotřebu krmiva a vede k opakovanému nákupu buď stejného produktu, nebo alespoň stejné značky a je tudíž předmětem zájmu výrobců.

## 7 Závěr

Suché krmivo pro psy je produktem s komplexním aromatickým profilem. Vzhledem ke skutečnosti, že se psi při vyhledávání potravy orientují hlavně čichem, hrají aromatické látky důležitou roli v ochotě psa krmivo přijímat.

Výsledky této práce ukázaly významné rozdíly v preferencích testovaných suchých průmyslových krmiv, které se zároveň odpovídajícím způsobem lišily profilem aromatických (těkavých) látek. Chemický rozbor naznačuje, že hlavní aromatickou složkou, která by mohla být zodpovědná za atraktivitu krmiva pro psy ve sledovaných vzorcích je 3-tert-butyl-4-hydroxyanisol (3-BHA), který je majoritní složkou komerčně používaného syntetického antioxidantu BHA.

Naše hypotéza byla potvrzena, neboť sledované vzorky suchých průmyslových krmiv pro psy se odlišovaly svým aromatickým profilem, což také pravděpodobně u těchto krmiv způsobuje odlišné preference u psů, jak bylo prokázáno v realizovaném preferenčním testu.

Do budoucna bude jistě zajímavé prokázat dalšími preferenčními testy, že 3-BHA je pro psy významným atraktantem a výrazně zvyšuje ochotu psů krmivo přijímat.

## 8 Seznam literatury

Bienicka, M., Caroli, S. 2011. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. *Trends in Analytical Chemistry*. 30 (11). 1756 – 1770.

Bontempo, V. 2005. Nutrition and Health of Dogs and Cats: Evolution of Petfood. *Veterinary Research Communications*. 29 (2). 45 – 50.

Busko, M., Jelen, H., Goral, T., Chmielewski, J., Stuper, K., Szwajkowska – Michalek, L., Tyrakowska, B., Perkowski, J. 2010. Volatile metabolites in various cereal grains. *Food Additives and Contaminants*. 27 (11). 1574 – 1581.

Česko. Vyhláška č. 295/2015 Sb. ze dne 27. 10. 2015 o provedení některých ustanovení zákona o krmivech. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2015. Částka 123. s. 3818 – 3875. Dostupné také z [http://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/legislativa/chronologicky-prehled-pravnich-predpisu/\\_obsah\\_cz\\_mze\\_ministerstvo-zemedelstvi\\_legislativa\\_Legislativa-MZe\\_puvodni-zneni\\_vyhlaska-2015-295.html](http://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/legislativa/chronologicky-prehled-pravnich-predpisu/_obsah_cz_mze_ministerstvo-zemedelstvi_legislativa_Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2015-295.html).

Di Donfrancesco, B., Koppel, K., Chambers IV, E. 2012. An Initial Lexicon for Sensory Properties of Dry Dog Food. *Journal of Sensory Studies*. 27. 498 – 510.

Ehret, B., Safenreiter, K. Lorenz, F., Biermann, J. 2011. A new feature extraction method for odour classification. *Sensors and Actuators B*. 158. 75 – 88.

Fragua, V., Barroeta, A. C., Manzanilla, E. G., Codony, R., Villaverde, C. 2015. Evaluation of the use of esterified fatty acid oils enriched in medium-chain fatty acids in weight loss diets for dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 99. 48 – 59.

Horowitz, A., Hecht, J., Dedrick, A. 2013. Smelling more or less: Investigating the olfactory experience of the domestic dog. *Learning and Motivation*. 44. 207 – 217.

Indelicato, S., Bongiorno, D., Indelicato, S., Ceraulo, L., Tranchina, E., Avellone, G., Arcadipane, C., Giambartino, F. Halogenated Anesthetics Determination in Urine by SPME/GC/MS and Urine Levels Relationship Evaluation with Surgical Theatres Contamination [online]. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2014 [cit. 2016-03-16]. Dostupné z <http://www.hindawi.com/journals/jamc/2014/753237/>.

Kealy, R. D., Lawler, D. F., Ballam, J. M., Mantz, S. L., Biery, D. N., Greeley, E. H., Lust, G., Segre, M., Smith, G. K., Stowe, H. D. 2002. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 220 (9). 1315 – 1320.

Klouda, P. 2003. *Moderní analytické metody*. 2. vydání. Pavel Klouda. Ostrava. 132 s. ISBN: 8086369072.

Koppel, K. 2014. Sensory analysis of pet foods. *J Sci Food Agric*. 94. 2148 – 2153.

Koppel, K., Adhikari, K., Di Donfrancesco, B. 2013. Volatile Compounds in Dry Dog Foods and Their Influence on Sensory Aromatic Profile. *Molecules*. 18. 2646 – 2662.

Kraus, R., Chládek, L., Češpiva, M., Příkryl, M. 2008. Olfaktometrie a možnosti jejího využití pro stanovení emisí v pivovarnictví. *Kvasný průmysl*. 54 (9). 269 – 274.

Laukner, A. 2006. *Pes – správné krmení, jednoduše, chutně, zdravě*. Grada Publishing, a.s. Praha. 64 s. ISBN: 8024717611.

Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G. K., Shankar, P., Rayappan, J. B. B. 2014. Electronic noses for food quality: A review. *Journal of Food Engineering*. 144. 103 – 111.

Mudřík, Z., Podsedníček, M., Hučko, B. 2007. *Základy výživy a krmení psa*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 128 s. ISBN: 9788021316591.

Patrignani, M., Rinaldi, G. J., Lupano C. E. 2016. In vivo effects of Maillard reaction products derived from biscuits. *Food Chemistry*. 196. 204 – 210.

Pet Food Institute. Pet Food Sales [online]. Pet Food Institute. 2006 - 2016. [cit. 2016-03-31]. Dostupné z <<http://www.petfoodinstitute.org/?page=PetFoodSales>>.

PETMD, LLC. Antioxidants and their Use in Dog Food [online]. Pet360, Inc. 1999 – 2016a. [cit. 2016-02-16]. Dostupné z <[http://www.petmd.com/dog/nutrition/evr\\_dg\\_antioxidants\\_and\\_their\\_use\\_in\\_dog\\_food](http://www.petmd.com/dog/nutrition/evr_dg_antioxidants_and_their_use_in_dog_food)>.

PETMD, LLC. Dog Not Eating? Maybe Your Pet Food Smells or Tastes Bad. [online]. Pet360, Inc. 1999 – 2016b. [cit. 2016-02-16]. Dostupné z

<[http://www.petmd.com/dog/centers/nutrition/evr\\_dg\\_dog-not-eating-maybe-your-pet-food-smells-or-tastes-bad](http://www.petmd.com/dog/centers/nutrition/evr_dg_dog-not-eating-maybe-your-pet-food-smells-or-tastes-bad)>.

Procházka, Z. 2005. Chov psů. 3. vydání. Paseka. Praha. 320 s. ISBN: 8071857688.

Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada Publishing, a.s. Praha. 480 s. ISBN: 9788024732824.

Rozinek, J., Jeřeta, M. 2012. Praktická anatomie psa [CD-ROM]. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 350 ks. ISBN: 978802117093.

Suchý, P., Straková, E., Suchý ml., P. 2007. Výživa psů, potřeba živin a dietetické účinky krmiv. Veterinářství. 57 (6). 343 – 350.

Šterc, J., Štercová, E. 2014a. Výživa a potřeba živin u psů. Veterinářství. 64 (8). 583 – 589.

Šterc, J., Štercová, E. 2014b. Výživa a možnosti krmení psů. Veterinářství. 64 (8). 590 – 598.

Thompson, A. 2008. Ingredients: Where Pet Food Starts. Topics in Companion Animal Medicine. 23 (3). 127 – 132.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. Chemie potravin II. OSSIS. Tábor. 644 s. ISBN: 9788086659169.

Wang, X., Tedford, R. H. 2008. Dogs – Their fossil relatives and evolutionary history. Columbia University Press, USA. p. 219. ISBN: 9780231135290.

Zicker, S. C. 2008. Evaluating Pet Food: How Confident Are You When You Recommend a Commercial Pet Food? Topics in Companion Animal Medicine. 23 (3). 121 – 126.