

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv průběhu fermentace v závislosti na obsahu
bílkovinných krmiv ve fermentu**

Diplomová práce

Bc. Barbora Rázgová

Výživa zvířat

doc. Ing. Jaroslav Čítek, Ph. D

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv průběhu fermentace v závislosti na obsahu bílkovinných krmiv ve fermentu" 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 19.04.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala **doc. Ing. Jaroslavu Čítkovi, Ph.D.** za pomoc, cenné rady a odborné vedení při zpracování mé diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala **Ing. Kateřině Zadinové, Ph.D.** za pomoc a asistenci u provedení mého výzkumu v laboratoři. A v neposlední řadě bych také chtěla poděkovat rodičům za podporu a oporu, kterou pro mě byli při studiu a při psaní této práce.

Vliv průběhu fermentace v závislosti na obsahu bílkovinných krmiv ve fermentu

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá hodnocením fermentovaného krmiva, způsobů jeho výroby, složení a následného vlivu na výživu prasat. Jsou zde sumarizace různých druhů fermentovaných krmiv a jejich vliv na trávicí systém a mikrobiotu prasat. Dále jsou zde definovány anatomické a fyziologické aspekty trávicího traktu a charakteristiky jednotlivých složek krmiva.

Práce se dále zabývá různými metodami fermentace a podrobně popisuje faktory ovlivňující průběh a kvalitu fermentace, jako je např. teplota fermentace, fáze fermentace a využití inokula. Dále je zde popsán postup fermentace, technika a technologie krmení a výhody a nevýhody krmení fermentovaným tekutým krmivem.

V závěru literárního přehledu jsou shrnuty účinky na trávicí trakt včetně benefitů i negativních dopadů užívání fermentovaných krmiv ve výkrmu prasat.

Experimentální část měla za cíl ověřit fermentační procesy ve fermentech složených z různých komponent a s rozdílným obsahem bílkovinných složek. Dále byl hodnocen průběh a rychlost fermentace při nestandardních teplotních podmínkách.

Bylo prokázáno, že vzorky spolehlivě prošly fermentací, ať už v prostředí bez tepelné izolace, v termoboxu s pasivní izolací, nebo optimálně v termostatu udržujícím teplotu kolem 35 °C, kde došlo k nejrychlejšímu poklesu pH pod 4,5.

Úspěšnou fermentací prošly i vzorky obsahující vyšší podíl sacharidových nebo bílkovinných složek. Vzorky testované za nestandardních počátečních teplotních podmínek rovněž dosáhly úspěšné fermentace, s výjimkou vzorků skladovaných v chladničce, které vykazovaly minimální pokles pH.

Klíčová slova: prase, výživa, fermentace, bílkovinná krmiva

Effect of the fermentation process as a function of the protein feed content of the ferment

Summary

This thesis deals with the evaluation of fermented feed, its production methods, composition and subsequent effect on pig nutrition. Different types of fermented feeds and their effect on the digestive system and microbiota of pigs are described. Furthermore, the anatomical and physiological aspects of the digestive tract and the characteristics of the different feed ingredients are defined.

The thesis also discusses the different fermentation methods and describes in detail the factors affecting the course and quality of fermentation, such as fermentation temperature, fermentation phase and inoculum use. The fermentation process, feeding technique and technology and the advantages and disadvantages of feeding fermented liquid feed are also described.

The literature review concludes with a summary of the effects on the digestive tract and the advantages and disadvantages of using fermented feeds in finishing pigs.

The experimental part aimed to verify the fermentation processes in fermented feeds composed of different components and with different protein contents. The course and rate of fermentation under non-standard temperature conditions were evaluated.

It was shown that the samples passed reliably through fermentation, either in an environment without thermal insulation, in a thermobox with passive insulation, or optimally in a thermostat maintaining a temperature around 35 °C, where the fastest pH drop below 4.5 occurred.

Samples containing a higher proportion of carbohydrate or protein components were also successfully fermented. Samples tested under non-standard initial temperature conditions also achieved successful fermentation, with the exception of those stored in a refrigerator, which showed a minimal drop in pH.

Keywords: pig, nutrition, fermentation, protein feeds

Obsah

ÚVOD	9
VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	10
LITERÁRNÍ REŠERŠE	11
1.1 TRÁVICÍ TRAKT PRASAT	11
1.1.1 <i>Žaludek</i>	11
1.1.2 <i>Střevo</i>	11
1.1.3 <i>Slinivka břišní (pankreas)</i>	12
1.2 VÝŽIVA PRASAT.....	13
1.2.1 <i>Živiny ve výživě prasat</i>	13
1.2.2 <i>Prebiotika</i>	13
1.2.3 <i>Probiotika</i>	13
1.3 KOMPONENTY V KRMNÉ DÁVCE	14
1.3.1 <i>Pšenice</i>	14
1.3.2 <i>Ječmen</i>	14
1.3.3 <i>Tritikále</i>	15
1.3.4 <i>Sójový extrahovaný šrot</i>	15
1.3.5 <i>Hrách</i>	16
1.3.6 <i>Řepkový extrahovaný šrot</i>	16
1.4 TECHNOLOGIE KRMENÍ.....	16
1.4.1 <i>Systém mokrého krmení</i>	17
1.5 FERMENTACE	19
1.5.1 <i>Fáze fermentace</i>	20
1.5.2 <i>Fermentace zrnové frakce</i>	21
1.5.3 <i>Spontánní fermentace</i>	21
1.5.4 <i>Kontinuální fermentace</i>	22
1.6 TECHNOLOGIE FERMENTOVANÉHO TEKUTÉHO KRMENÍ POMOCÍ LAB	22
1.7 VYBRANÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH FERMENTACE	22
1.7.1 <i>Teplota</i>	22
1.7.2 <i>Inokulum</i>	23
1.8 VLIV BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ NA ORGANISMUS PRASAT	23
1.8.1 <i>Vliv na zdraví GIT</i>	24
1.9 VLIV MYKOTOXINŮ NA PRASATA	25
1.9.1 <i>Aflatoxiny</i>	25
1.9.2 <i>Deoxynivalenol</i>	26
1.9.3 <i>Fumonisin</i>	27
1.9.4 <i>Mnohonásobná toxicita mykotoxinů</i>	27
1.10 VÝHODY TEKUTÉHO FERMENTOVANÉHO KRMENÍ	28
1.11 NEVÝHODY TEKUTÉHO FERMENTOVANÉHO KRMENÍ.....	30
METODIKA	32
1.12 PŘÍPRAVA VZORKŮ	32
1.12.1 <i>Vliv počáteční teploty na průběh fermentace</i>	33
VÝSLEDKY	35
1.13 VLIV INOKULA NA PRŮBĚH FERMENTACE	35
1.14 VLIV PROSTŘEDÍ NA POKLES PH.....	35
1.15 VLIV ZASTOUPENÍ BÍLKOVINNÉHO A SACHARIDOVÉHO KRMIVA NA RYCHLOST FERMENTACE	39
1.16 VLIV POČÁTEČNÍ TEPLoty NA PH	41
DISKUZE	43

1.17	VLIV ZASTOUPENÍ BÍLKOVINNÉHO A SACHARIDOVÉHO KRMIVA NA RYCHLOST FERMENTACE	43
1.18	VLIV POČÁTEČNÍ TEPLoty	44
ZÁVĚR	45
LITERATURA	46
SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	I

Úvod

Tato diplomová práce se zaměřuje na využití fermentovaných krmiv jako prostředku k optimalizaci složení krmiva. Chov prasat představuje v zemědělství stěžejní odvětví, zejména v produkci vepřového masa, což s sebou nese značné ekonomické důsledky. Zajištění správné výživy zvířat je prvořadé pro dosažení maximální produkce, zachování zdraví zvířat a zajištění vysoké kvality masné produkce. Dalším významným aspektem ve výživě prasat je výběr vhodných krmných technik a technologií.

V poslední době se stále více používají fermentovaná krmiva, která nabízejí četné výhody ve srovnání s tradičními krmivy. Tyto výhody zahrnují zvýšenou stravitelnost živin, delší životnost krmiva a modulaci mikrobiálního složení trávicího traktu zvířat. Fermentovaná krmiva však také s sebou nesou několik nevýhod, které mohou vyplynout ze suboptimálních fermentačních procesů. Mezi tyto nevýhody patří snížená chutnost, ztráta základních živin nebo nástup poruch gastrointestinálního traktu u prasat.

Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je vytvoření literární rešerše popisující problematiku výživy prasat, složení krmné dávky. Podrobně bude popsána problematika fermentovaných krmiv a podmínky řízené fermentace. Bude ověřena schopnost samovolné a řízené fermentace u komponent používaných pro výkrm prasat. Dále bude ověřena schopnost fermentace za nestandardních podmínek teploty při založení fermentu. Ve výkrmu prasat budou vyhodnoceny růstové parametry při využití fermentovaného krmiva.

Hypotéza:

Krmiva i s vysokým obsahem bílkovinných krmiv budou díky inokulu fermentovat spolehlivě. Nestandardní teplotní podmínky budou mít vliv na horší průběh fermentace.

Literární rešerše

1.1 Trávicí trakt prasat

System výživy prasat souvisí se stavbou a funkcí trávicí soustavy, která je tvořena trubicí (dutina ústní, hltan, jícn, žaludek, tenké a tlusté střevo) společně s přídatnými žlázami (slinné žlázy, slinivka břišní, játra střevní žlázy). Přídatné žlázy do trávicího prostoru vylučují své výměšky a napomáhají tak ke zpracování potravy, enzymatickému trávení a ochraňují trakt před mechanickým i chemickým poškozením (Kodeš *et al.* 2001).

Trávicí trakt prasat je velmi složitý a neustále se měnící orgán. U mladých prasat v době odstavu dochází k rychlým změnám ve velikosti a taktéž dochází k rychlé změně v počtu mikrobioty. Probíhají rychlé a významné změny v trávení a absorpci živin, bariérových a imunitních funkcích. Optimálně fungující gastrointestinální trakt má velký význam pro celkovou fyziologii, metabolismus a užítkovost prasat ve všech fázích růstu a vývoje. (Pluske *et al.* 2018)

Prase se řadí mezi všežravce. Tento fakt naznačuje schopnost střeva vstřebávat jak živočišnou tak i rostlinou potravu. Prase ovšem není schopné trávit celulózu (Stupka *et al.* 2013).

1.1.1 Žaludek

Prasata mají jednokomorový žaludek a jeho objem se s věkem prasat postupně zvětšuje (objem žaludku selata je 30 ml, dospělých prasat 3550 ml). Příčinou změn je rozdílná potřeba četnosti příjmu krmiva v průběhu dne (Kodeš *et al.* 2001).

V žaludku dochází k promísení potravy s žaludečními šťávami a vzniku tráveniny. Potrava bohatá na bílkoviny zůstává v žaludku 4-6 hodin. Potrava bohatá na tuky setrvává v žaludku 5-7 hodin. Sacharidová potrava prochází žaludkem nejrychleji (3-4 hodiny) (Stupka *et al.* 2013).

Trávení v žaludku zajišťují žaludeční šťávy a z části i střevní lipáza a žluč, jelikož se část potravy vrací ze střeva zpět do žaludku. Amylolytické a další enzymy slin a krmiva štěpí škroby na cukry a mastné kyseliny, především na kyselinu mléčnou. V čerstvě přijatém krmivu tedy nejprve dochází k rozkladu sacharidů, teprve poté dochází k trávení žaludeční šťávou, obsahující enzymy štěpící bílkoviny (Kodeš *et al.* 2001).

1.1.2 Střevo

Střevo představuje nejdélší část trávicí trubice. Byložravci mají oproti masožravcům mnohem delší střevo. U prasat je délka střeva asi patnáctkrát delší než délka jejich těla. Střevo je rozděleno na tenké střevo, do kterého řadíme dvanáctník, lačník a kyčelník, a tlusté střevo, kde rozlišujeme slepé střevo, tračník a konečník. Střevo je upevněno na okruží, které zajišťuje přívod cév a nervů (Sláma *et al.* 2015).

1.1.2.1 Tenké střevo

Tenké střevo navazuje přímo na vrátník žaludku. Jeho délka se u prasat pohybuje mezi 15-20 metry. Do dvanáctníku ústí žlučovod a vývod slinivky břišní. Na dvanáctníku rozlišujeme esovitě kličky, vzestupnou a sestupnou část (Slám *et al.*, 2015).

Lačník představuje nejdelší část úseku tenkého střeva. Je zavěšen na okruží a vytváří četné kličky. Kyčelník představuje naopak nejkratší úsek tenkého střeva, který u prasat měří asi 40 centimetrů. Kvůli svému krátkému okruží nevytváří kličky a ústí do slepého střeva (Sláma *et al.* 2015).

Dutina tenkého střeva je vyplněna sliznicí, která v tenkém střevě vytváří klky. Ve sliznici se nacházejí střevní žlázy. Epitel sliznice střeva je tvořen jednovrstevným cylindrickým epitelem, ve kterém převažují enterocyty nad pohárkovými buňkami (Sláma *et al.* 2015).

Podle Marvana (2017) je tenké střevo nejdůležitějším úsekem pro trávení živin. Ve dvanáctníku dochází k promíchání a trávení živin. Hlavní štěpení živin pak probíhá v lačníku a kyčelníku za pomoci žluči, pankreatické a střevní šťávy. Pankreatická šťáva obsahuje trypsin, který štěpí bílkoviny na polypeptidy a oligopeptidy, stejně tak jako pankreatickou lipázu, amylázu a maltázu štěpící lipidy a sacharidy.

Pankreatická amyláza štěpí polysacharidy na glukózu a maltáza štěpí maltózu na glukózu. Pankreatická lipáza štěpí tuky na glyceroly a mastné kyseliny. Střevní šťáva je zásadité povahy a obsahuje anorganické kyseliny, které snadno vážou kyseliny. Mezi nejdůležitější z pohledu organických složek řadíme mucin a trávicí enzymy. Trávicí enzymy štěpí především štěpné produkty bílkovin až na aminokyseliny a dále štěpné produkty cukrů a tuků (Kodeš *et al.* 2001).

1.1.2.2 Tlusté střevo

Tlusté střevo je morfoloicky specifitější oproti tenkému střevu. U prasat dosahuje délky asi 5 metrů.

Slepé střevo je charakterizováno svým uzavřeným zakončením. Tračník se skládá ze tří částí – vzestupné, příčné a sestupné. U prasat vzestupný tračník tvoří kuželovitý tračnickový labyrint se čtyřmi dostředivými závity na povrchu a čtyřmi odstředivými závity uvnitř (Sláma *et al.* 2015).

Konečník je posledním úsekem tlustého střeva, který u prasat dosahuje délky přibližně 20 centimetrů. Konečník se rozšiřuje do konečnickové výdutě, která se zužuje v řitní kanál, který je zakončen řitním otvorem. Řitní otvor je opatřen svěračem (Sláma *et al.* 2015).

V tlustém střevě se zbylé, nevyužité živiny tráví působením enzymů mikroflóry, která se díky neutrálnímu prostředí mohou výrazně pomnožit. V důsledku toho dochází k rozkladu a částečnému trávení hrubé vlákniny a také absorpci vody a elektrolytů, což má za následek výrazné zahuštění obsahu (Stupka *et al.* 2013).

1.1.3 Slinivka břišní (pankreas)

Slinivka břišní se řadí mezi žlázy trávicího systému, které se nachází mimo stěnu trávicího traktu. Tělo slinivky břišní leží přímo na dvanáctníku. Z těla slinivky pak vystupuje

pravý a levý lalok. Žlázo­vý parenchym slinivky břišní je rozdělen na dvě části – endokrinní a exokrinní. Endokrinní část se nachází uvnitř exokrinní tkáně, a to ve formě pankreatických ostrůvku. Exokrinní tkáň je komplexní tubuloalveolární žláza složená ze sekrečních acinů (základní struktura žláz s vnitřní sekrecí). Tyto váčky jsou vystlány jednou vrstvou sekrečních buněk, které produkují pankreatickou šťávu (Sláma *et al.* 2015).

1.2 Výživa prasat

1.2.1 Živiny ve výživě prasat

Z funkčního hlediska se živiny dělí na energetické, neenergetické stavební a specifické. Při odbourávání energetických živin se uvolňuje energie, která se následně využívá k pohybu, vytváření tělního tuku a metabolickým procesům. Mezi tyto živiny řadíme alkoholy, sacharidy a nadbytečné dusíkaté látky. Do skupiny neenergetických živin řadíme minerální látky a vodu. Skupina stavebních živin zahrnuje dusíkaté látky, makroprvky a vodu. Tato skupina se podílí na tvorbě nové tělní hmoty, nebo na náhradě za opotřebované buňky. Z funkčního hlediska jako poslední skupinu řadíme specifické živiny, které chrání, katalyzují regulují a stimulují látkový a energetický metabolismus v buňkách. Do této skupiny řadíme enzymy, hormony, mikroprvky, vitaminy a další (Stupka *et al.* 2009).

Dle významnosti pro organismus dělíme živiny také na esenciální a neesenciální. Neesenciální živiny jsou v krmivu postradatelné, naopak esenciální živiny jsou k životu nezbytné. Tyto esenciální živiny si zvíře neumí syntetizovat samo a je proto nutné je dodávat v dostatečném množství v krmivu (Kodeš *et al.* 2001).

1.2.2 Prebiotika

Prebiotika poskytují především základní živiny a energii pro prospěšné střevní mikroby, tím zvyšují jejich počet a množství funkčních genů (Sánchez *et al.* 2017). Jsou odvozována od nestravitelných oligosacharidů, které díky tomu, že nejsou uloženy, ochotně nabízejí vhodný substrát těmto prospěšným bakteriím. Mezi nejběžnější prebiotika řadíme galaktooligosacharidy, fruktooligosacharidy a inulin. Tyto látky mohou poskytovat živiny a pozitivně regulovat složení a funkci střevní mikroflóry (Macfarlane *et al.* 2007). U pektinu, rezistentního škrobu a dalších složek vlákniny se také předpokládá, že mají prebiotický potenciál a stimulují ve střevě růst *Faecalibacterium prausnitzii* a *Bifidobacterium*, který produkuje butyrát v kaudální části střeva (Bird *et al.* 2010). Zkoumaná prebiotika ve studiích pro složení prasečí mikrobioty nejčastěji bývají fermentovatelné sacharidy, které bývají spjaty se zlepšením mikrobiální homeostázy v tenkém i tlustém střevě prasat (Roselli *et al.* 2017).

1.2.3 Probiotika

Probiotika jsou látky, které podporují růst a množení mikroorganismů v trávicím ústrojí a příznivě ovlivňují funkci živočišného organismu. Jsou tvořena stabilizovanou kulturou specifických živých symbiotických mikroorganismů, které se usazují na epitelu trávicího ústrojí, kde potlačují nežádoucí mikroorganismy. Po perorálním podání v krmivu v určitých

dávkách probiotika udržují nebo zvyšují příznivou a žádoucí mikroflóru v trávicím traktu a pomáhají tak předcházet kolonizaci trávicího traktu patogenními mikroorganismy (Maré 2009).

Probiotika konkurují v oblasti živin, a tím mohou zasahovat přímo do činnosti patogenních bakterií (Sánchez *et al.* 2017). Antimikrobiální látky jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) a bakteriociny inhibují růst potenciálních patogenů. Maghsood *et al.* (2018) uvádějí, že orgány v těle ovlivňují probiotické metabolity prostřednictvím produkce neurotransmiterů, a to především kyselinou γ – aminomáselnou nebo serotoninem. Kromě toho má také několik bioaktivních složek z probiotik protizánětlivé vlastnosti a možnost modulovat protizánětlivou odpověď. Peptidy krátkých řetězců, vzniklé mikrobiální degradací, hrají velmi důležitou roli při zlepšování stravitelnosti krmiva a antioxidačních funkcí (Gilbert *et al.* 2008). Wang *et al.* (2018) ve své studii uvádí, že probiotika zlepšila růstovou výkonnost zvířat zlepšením korelační sítě střevních bakterií a urychlením dozrávání střevní mikroflóry, zatímco antibiotika měla opačný účinek na hostitelskou střevní mikroflóru na úkor výkonnosti hostitele. Probiotika mohou přímo ovlivňovat střevní sliznici, střevní epiteliální buňky a lymfoidní tkáň asociovanou se střevem a využívat jejich prospěšné role (Sánchez *et al.* 2017). Jejich metabolity mají antioxidační, antimikrobiální a imunoregulační účinky.

Fermentovaná krmiva obsahují jak prebiotika, tak probiotika, o kterých se předpokládá, že jsou mnohem účinnější ve srovnání se samostatnými probiotiky či prebiotiky pokud se jedná o homeostázu a funkci střevní mikroekologie (Wang *et al.* 2018).

1.3 Komponenty v krmné dávce

1.3.1 Pšenice

Pšenice setá (*Triticum aestivum*) je jednou z hlavních krmných surovin pro prasata a může tvořit až polovinu celkové krmné dávky. Pokrývá významnou část denní potřeby dusíkatých látek a sacharidů. Složení pšeničného proteinu je velmi variabilní v závislosti na oblasti a způsobu pěstování. Proto je zapotřebí důkladný analytický rozbor makroživin i mikroživin dané pšenice pro konkrétní chov. Pšenice obsahuje lepek, který může ovlivňovat peristaltiku střev. Pšenici je proto vhodné kombinovat s ječmenem, který obsahuje vyšší množství vlákniny. (Jirout 2020)

Pšenice taktéž obsahuje významné množství fytázy, díky čemuž jsou živiny dobře využitelné. Důležité je pravidelně testovat pšenici na přítomnost mykotoxinů, které mohou představovat značné zdravotní riziko v krmné dávce (Vyskočil 2008).

1.3.2 Ječmen

Ječmen setý (*Hordeum vulgare*) spolu s pšenicí patří mezi nejčastěji využívané obiloviny v krmné dávce pro prasata. Ječmen je zařazován do krmných směsí v menším množství především kvůli vysokému obsahu vlákniny. Ta ovšem podporuje dobrou funkci střev. Vysoký obsah vlákniny může negativně ovlivnit vstřebatelnost živin. Ječmen má oproti pšenici či kukuřici vyšší biologickou hodnotu, tedy vhodnější zastoupení aminokyselin pro prasata (Vyskočil 2008).

1.3.3 Tritikále

Tritikále je obilovina, která vznikla mezigeneračním křížením odrůd pšenice (*Triticum spp.*) a žita setého (*Secale cereale*). Pěstitelé obilovin i chovatelé o tuto plodinu projevují zájem především díky její schopnosti růst v půdě v oblastech, které jsou pro pěstování pšenice okrajové, a díky vysokému obsahu bílkovin a aminokyselin (Villegas *et al.* 1970). Studie výživy ukázaly, že tritikále může nahradit ječmen a kukuřici (Shimada *et al.* 1974), aniž by byla ovlivněna růstová výkonnost prasat. Byly zveřejněny i případy snížení růstové výkonnosti, které však byli připisovány námelu (Harrold *et al.* 1971) nebo alkylresorcinolům (Hulse&Laing 1974).

Tritikále obsahuje až 13 % dusíkatých látek s významným obsahem aminokyselin limitujících pro prasata (lyzin). Obsahuje také anti-nutriční látku, která snižuje funkci proteáz, zejména trypsinu. Doporučuje se zařazovat do krmných dávek maximálně do 20 % v závislosti na věku zvířat. Je vhodné podávat ve formě šrotu (Vyskočil 2008).

1.3.4 Sójový extrahovaný šrot

Sójový extrahovaný šrot (SBM) a další sójové produkty přispívají k vysoké kvalitě bílkovin v krmivech pro prasata, neboť sójové bílkoviny jsou bohaté na limitující – esenciální aminokyseliny (lysin, treonin a tryptofan), které bývají v nejčastěji zkrmovaných krmivech přítomny v nízké koncentraci. Sójový extrahovaný šrot ovšem obsahuje mírný nedostatek sírných aminokyselin. Za předpokladu, že je dieta vyrovnaná a zachovaná struktura esenciálních aminokyselin je kvalita bílkoviny sójového šrotu zachována (Barnett& Batterham 1981). Aminokyseliny, které jsou obsaženy v sójové bílkovině jsou pro prasata lépe stravitelné, oproti aminokyselinám ve většině ostatních běžně zkrmovaných zdrojů bílkovin. Sójový šrot je také významným zdrojem energie v dietách zkrmovaných prasatům, obsah stravitelné a metabolizovatelné energie je srovnatelný s kukuřicí. Ačkoli je sója zkrmována většinou ve formě sójového šrotu, lze do krmiv zařadit i plnotučné sójové boby, aby se navýšila energetická hustota krmiva. Vzhledem k vysokému obsahu vlákniny sójových slupek je koncentrace energie v loupáných sójových produktech vyšší než u neloupaných sójových bobů nebo jejich výrobcích obsahujících slupky (Stein *et al.* 2013). Donovan *et al.* (1993) naopak tvrdí, že u rostoucích prasat, kterým byla podávána lupina s vyšší koncentrací vlákniny, došlo k poklesu příjmu krmiva a přírůstku. Většina fosforu je vázána na kyselinu fytovou, která je pro prasata nízce stravitelná. Pokud krmnou dávku doplníme mikrobiální fytázou, zvýší se stravitelnost fosforu až na 60 %. (Stein *et al.* 2013).

Antinutriční látky obsažené v sójových bobech mohou negativně ovlivňovat růst prasat. Aby se tyto účinky minimalizovaly nebo eliminovaly, byly vyvinuty různé technologické postupy. Všechny výrobky ze sóji musí projít tepelnou úpravou před použitím. Když je sója začleněna do krmiva pro prasata, pomáhá zmírnit inhibitory trypsinu a lektiny. Fermentací a enzymatickou úpravou lze snížit nebo odstranit alergenní proteiny a oligosacharidy. Oligosacharidy lze rovněž snížit nebo odstranit extrakcí sacharidů ze sójové moučky ve vodném roztoku. Díky nízké koncentraci oligosacharidů ve fermentovaném sójovém šrotu ho lze použít i pro prasata po odstavu (Stein *et al.* 2013).

1.3.5 Hrách

Hrách setý (*Pisum sativum*) má mezi používanými luskovinami nejnižší obsah dusíkatých látek (22 %). Oproti tomu ale disponuje relativně vysokým obsahem cukru a škrobu. Je charakterizován nízkým obsahem methioninu, cysteinu a tryptofanu, avšak může poskytovat nedegradovatelný protein, pokud je zahříván po delší dobu (Katalog krmiv 2007). Je vhodný pro pěstování v našich podmínkách a představuje cennou komoditu, která může částečně nahradit sójový protein a snížit celkovou cenu krmných směsí. Nevýhodou je nestálost výnosů, náchylnost k suchu a poléhání. Nicméně oproti jiným luskovinám je hrách pro prasata poměrně chutný a při nepřekročení doporučených dávek nemá vliv na příjem krmiva (Houba 2009).

1.3.6 Řepkový extrahovaný šrot

Semena řepky olejné (*Brassica napus*) mají černou barvu. Z těchto semen se získává olej extrakcí, zatímco zbývající extrahovaný šrot se využívá jako zdroj bílkovin. Řepkový šrot obsahuje 32 až 38 % sušiny. Jeho kvalita se liší podle pěstované odrůdy. Pro krmivářské účely se nejčastěji používá odrůda „00“, která obsahuje nízké množství kyseliny erukové a glukosinolátů. Tyto látky mohou ovlivnit funkci štítné žlázy a snížit chutnost krmiva.

Řepkový extrahovaný šrot je ve srovnání se sójovým extrahovaným šrotem chudší na lyzin, naopak ale obsahuje více sirných aminokyselin (Křížová 2018).

1.3.6.1 Pšeničné otruby

Pšeničné otruby vznikají jako vedlejší produkt při mletí pšenice na mouku. Obsahují více dusíkatých látek (14-19 % v sušině) a minerálních látek (zejména vápník a fosfor) oproti celému zrnu. Obsah vlákniny a škrobu se liší v závislosti na podílu endospermu a dalších frakcí, které zůstávají po výrobě.

U prasat vyšší obsah vlákniny snižuje energetickou hodnotu krmné dávky. Otruby jsou nejčastěji používané jako krmivo, zlepšující pocit sytosti u zvířat s restrikcí krmení (Křížová 2018)

1.3.6.2 Žitné otruby

Žitné otruby jsou obvykle šedozelené až modrozelené barvy. Jejich dietetické vlastnosti jsou horší oproti pšeničným otrubám. Proto jsou obvykle využívány pro starší kategorie skotu k výkrmu, v omezené míře taktéž pro dojnice (Katalog krmiv 2007).

Vysoké hladiny fytátů, které se v otrubách nacházejí mají pozitivní vliv na dostupnost fosforu. To vede ke zlepšení absorpce a uchování fosforu a současně zvyšuje retenci vápníku (Křížová 2018)

1.4 Technologie krmení

Systémy krmení prasat ve výkrmu obvykle dělíme do tří kategorií: systém mokrého krmení, systém kašovitého krmení a systém suchého krmení. Každý z těchto systémů má své

výhody a nevýhody. Konečné rozhodnutí o použití závisí na individuální úvaze investora (Pulkrábek 2005)

Uplatňuje se jak krmení dávkové (restringované), tak krmení neomezené (*ad libitum*). Při dávkovaném krmení jeho množství odměřujeme, při krmení *ad libitum* mohou prasata přijímat krmivo neomezeně. *Ad libitní* krmení zvyšuje denní přírůstek a zároveň snižuje potřebu lidské práce. Nicméně zvyšuje potřebu krmiva na kilogram přírůstku a podílu tuku v jatečně upraveném těle. Při dávkovaném krmivu se bere v úvahu fyziologické potřeby prasat a zároveň umožňuje efektivní spotřebu krmiva. Denní krmná dávka bývá rozdělena na 3-4 krmení, což přispívá k lepší konverzi krmiva na 1 kilogram přírůstku. Nicméně denní přírůstek může být v porovnání s *ad libitním* krmením nižší (Hájek 1992)

Suché krmivo je ve formě sypké nebo granulované, ostatní mohou mít jakoukoli formu konzistence. Těstovitá konzistence krmiva se nepoužívá z důvodu obtížného míchání a dávkování. Zvlhčené krmivo lze získat i stabilním zařízením, které zakládá do koryt suchou krmnou směs dostatečným zvlhčením.

Při výrazně odlišném uspořádání krmných míst je důležité dodržovat společné požadavky na efektivní využití krmiv s minimálními ztrátami. Pokud se krmivo podává na podlahu nebo do sesypných krmítek. Technologii krmení je nutné přizpůsobit tvar kotce. Důležité je také členění přístupového prostoru pomocí mřížek nebo žlábků u samokrmítek a kruhových talířů. U podélných koryt je kromě správných rozměrů a výškové polohy důležité vymezení přístupů zábranou. Je nezbytné regulovat krmení tak, aby byla výška krmiva optimální.

K velmi rozšířeným krmným zařízením patří sesypná krmítka tzv. samokrmítka. Obdélníkové zásobníky s krmným žlabem ve spodní části, do kterého se krmivo uvolňuje postupně. Tato krmítka bývají ve většině případů jednostranná. Nejčastěji se používají v příkrmíštích porodních kotců a v dochovu selat. Méně častěji se používají při výkrmu prasat. Mezi nutné vybavení sesypného krmítka patří čechrač uvnitř zásobníku vedoucí do žlabu. Čechrače mohou být řetízkové, výkyvné nebo otočné. Mezera mezi hranou zásobníku a dnem žlabu by měla být regulovatelná. Větší typy mají dávkovací klapku, která umožňuje postupné uvolňování malých dávek. Samokrmítka se vyrábí z pozinkovaného plechu, z plastu anebo z plechu z hliníkových slitin. Plnění krmivem může být ruční či mechanizované (Brož&Kic 1996).

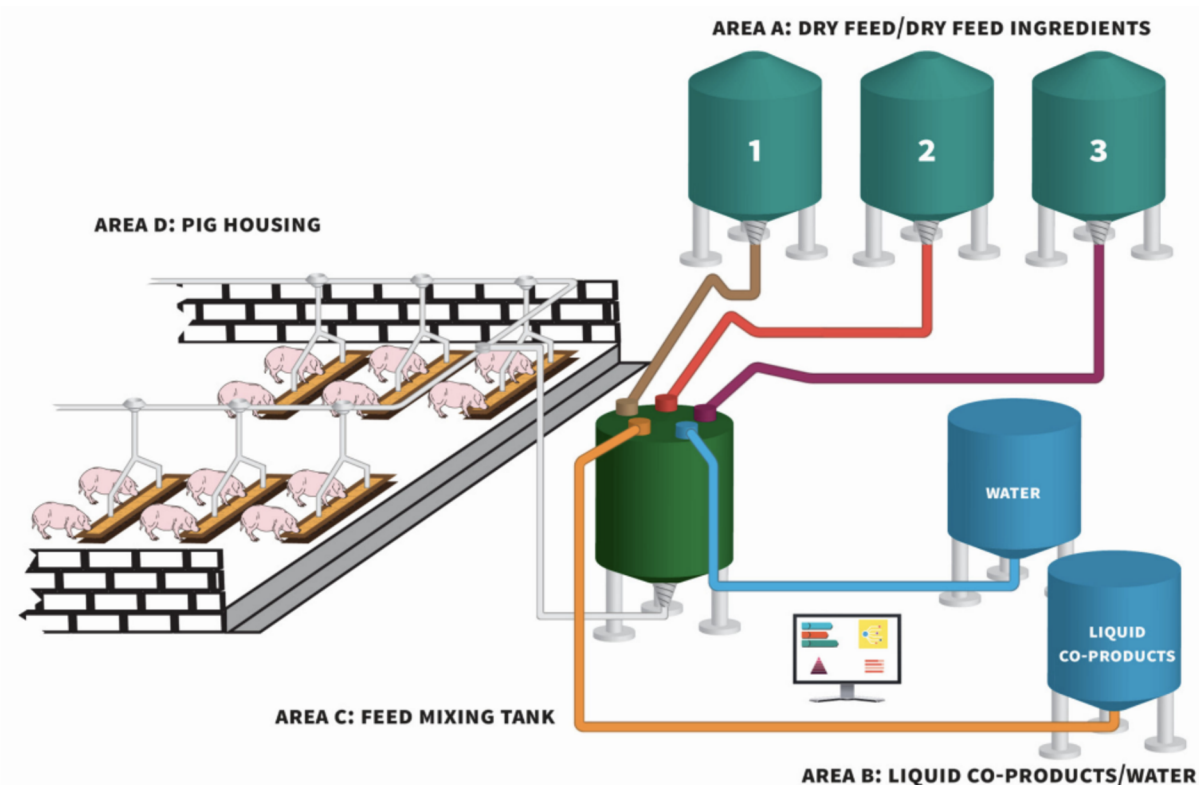
1.4.1 Systém mokrého krmení

Systém mokrého krmení zahrnuje krmivo, které je prasatům podáváno ve formě kompletní krmné směsi smíchané s vodou v určitém poměru. Nejprve se do nádrže načerpá požadované množství vody (obr. 1 místo A) a poté se dopraví potřebné množství jednotlivých komponentů ze zásobních sil (obr. 1. místo B). Tyto látky nemusí být pouze v sypkém stavu, ale mohou zahrnovat i látky s nízkou sušinou nebo látky tekuté. Směs je následně rozmíchána (obr. 1 místo C) a po dosažení homogenní směsi je krmivo dopraveno k jednotlivým kotcům pomocí čerpadla a okružního potrubí (obr. 1 místo D). Dávkování je řízeno buď časově, kdy je určité množství krmiva odměřeno časově podle konstantního průtoku centrálním okruhem pro určitý počet prasat, nebo pomocí tenzometrů pod míchací nádobou, která sleduje hmotnost krmiva při vpouštění do koryt (Pulkrábek 2005).

Mezi výhody tohoto systému krmení je začlenění krmiv v různých formách. Tato technologie krmení dovoluje například efektivní začlenění syrovátky, která má pozitivní vliv na konverzi krmiva. Mezi další výhody patří bezprašnost ve stáji, schopnost snadné medikace krmiva a možnost jeho okyselení. Na rozdíl od systému suchého krmení prasata lépe přijímají mokré krmivo a dochází k lepší konverzi živin.

Na druhou stranu je třeba zdůraznit, že vzhledem k neustálé vlhkosti v potrubí, míchaček a dalších částí, můžou být na prasata vystavena vlivu mykotoxinů, bakterií či kvasinek. Mokré krmivo rovněž zvyšuje vlhkost ve stáji, což může mít vliv na rozvoj patogenních organismů. U starších systémů může být problematické zajistit dostatečně dlouhé hrany koryt, aby mohlo každé prase během krmení přistoupit ke krmivu (Buragohain 2019).

Používání systému krmení v potrubí může vést k samovolné fermentaci tekutého krmiva. Zbytky krmiva v potrubí lze považovat za zvláštní formu zpětného kvašení. Hansen & Mortensen (1989) upozornili na to, že sterilizovat systém krmení v potrubí, je rizikový z mnoha důvodů. Jako hlavní důvod uvádí odstranění bakterií mléčného kvašení a zvýšení tak pH krmiva o 1,5- 2,0. Tento stav by mohl vést k rozmnožování koliformních bakterií, které by mohli způsobovat průjemová onemocnění, do té doby, dokud by se bakterie mléčného kvašení neusadily a opět nesnížili pH na normální hodnoty, což by trvalo 3 až 5 dní. K podobnému růstu enterobakterií může dojít i při přidání čerstvé krmné směsi do fermentační nádoby, pokud se použije zpětný roztok, který zředí pH a může tak překročit úroveň 4,5 což zabraňuje růstu (Brooks 2008).



Obrázek 1. Schéma automatizovaného systému tekutého krmení

Na farmách, které pracují s fermentačním krmivem, často nalezneme další nádrž před míchací nádrží. V této nádrži se buď fermentuje celá krmná dávka nebo pouze obilná frakce

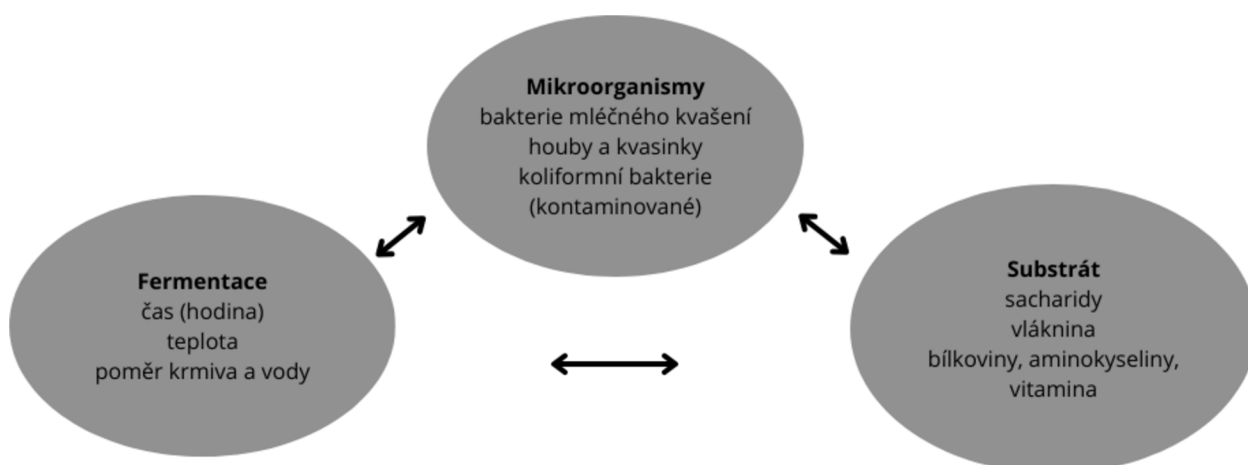
krmné dávky po určitou časovou dobu. Teprve poté je směs přečerpána do míchací nádrže a připravena k dodání do krmítek (Cullen 2021).

1.5 Fermentace

Fermentace je dynamický proces, při kterém dochází ke změně mikrobiálních a nutričních vlastností směsi. V prvních hodinách fermentace, před usazením bakterií mléčného kvašení, které produkují především kyselinu mléčnou a snižují tak pH, dochází k rozmnožení enterobakterií. S prodlužující se dobou fermentace se bakterie mléčného kvašení stávají dominantními a počet enterobakterií se snižuje (Canibe *et al.* 2007). Fermentace také ovlivňuje hladinu aminokyselin. Podle Niven *et al.* (2006) degradace volných aminokyselin během fermentace snižuje nutriční hodnotu fermentovaného tekutého krmiva ve srovnání s krmivem suchým. Naopak může fermentace sloužit jako prostředek ke zlepšení nutričních hodnot složek před jejich podáním zvířatům.

Fermentace může být ovlivněna několika faktory. Bakterie mléčného kvašení přirozeně přítomné v různých složkách krmiva, či bakterie mléčného kvašení přidávané do krmiva určují spolu s parametry fermentace stupeň produkce kyseliny (k. mléčné). Čím rychlejší je tato produkce, tím rychleji dochází k poklesu pH a tím rychleji se snižuje počet patogenních bakterií, jako jsou *Salmonella spp.*, nebo *Escherichia coli*. Kyselé prostředí nevyklučuje možný růst kvasinek a plísní přítomných v krmivu nebo vzduchu, které mohou vytvářet „nepříjemné chutě“ a pachy, které zhorší chutnost krmiva (Brooks *et al.* 2003).

V posledních letech se některé studie zabývaly populační diverzitou bakterií mléčného kvašení (LAB) a kvasinek v tekutých fermentovaných krmivech a jejich změnami (Canibe *et al.* 2007). Tyto studie identifikovaly širokou škálu variací v krmivech. Skutečné fermentační vlastnosti mohou být ovlivněny dalšími faktory, jako je teplota prostředí nebo teplota fermentace, interval mezi jednotlivými krmivy, stupeň zpětné výměny („back slopping“) a skutečný poměr krmiva a vody v tekutém fermentovaném krmivu (Choct *et al.* 2004).



Obr. 2 Interakce ve fermentovaném tekutém krmivu mezi přítomnými mikroorganismy, fermentačními parametry a množstvím a kvalitou substrátu má vliv na konečný produkt (Beal *et al.* 2009).

Tekuté fermentované krmivo (FLF), je definováno jako krmivo smíchané s vodou v poměru 1:15 až 1:4 a fermentováno po dostatečně dlouhou dobu k dosažení ustálených podmínek (Brooks 2003). Obvykle je tento typ fermentovaného krmiva připravován spontánní fermentací (SFLF; spontánně fermentované krmivo) nebo zařazením inokula (řízené nebo inokulované fermentované tekuté krmivo; IFLF), což bývá krmná směs s kulturou bakterií mléčného kvašení (LAB). Pokud je doba mezi mícháním a krmením příliš krátká, nebo je doba fermentace krátká na to, aby došlo k ustálení podmínek, označujeme krmivo jako tekuté (LF) popřípadě nefermentované tekuté krmivo (NFLF) (Plumed-Ferrer & Von Wright 2009).

Je důležité definovat tekutá krmiva a odlišit je od jiných systémů krmení. Tekuté krmivo zahrnuje použití krmiva buď ze suchých surovin smíchaných s vodou anebo ze směsi tekutých vedlejších produktů potravinářského průmyslu a běžných suchých surovin. Tekutá krmiva by neměla být zaměňována se systémem mokrého a suchého krmení u kterých je voda a krmivo odděleno až do okamžiku podáním prasatům (Brooks *et al.* 2003).

1.5.1 Fáze fermentace

Možnost začátku fermentace nastává již v okamžiku smíchání krmiva s vodou. Dle Canibeho & Jensena (2003) je počáteční fáze definována nízkým obsahem bakterií mléčného kvašení, kyseliny mléčné, kvasinek, vysokým pH a rozvojem enterobakterií. Po této fázi nastává fáze druhá, v níž dochází k ustálení stavu a která se vyznačuje vysokým obsahem bakterií mléčného kvašení, kyseliny mléčné a kvasinek, naopak nízkým pH a nízkým počtem enterobakterií.

Brooks (2008) nedávno do rozdělil počáteční fázi na dvě. Fázi 1 definuje vysoké pH umožňující množení koliformních bakterií a na fázi 2, ve které růst a fermentace bakterií mléčného kvašení inhibuje patogenní a škodlivé organismy produkcí organických kyselin (převážně kyseliny mléčné), peroxidu vodíku a bakteriocinů, jakož i snížením pH a redoxního potenciálu. Ve fázi 3, neboli fáze ustáleného stavu, se populace LAB a pH stabilizují, ale s postupem času se koncentrace kvasinek v krmivu může dále zvyšovat.

Van Winsen *et al.* (2001) upozornili na to, že koncentrace kyseliny mléčné je hlavním faktorem odpovědným za antimikrobiální účinek tekutého fermentovaného krmiva. Proto by dané kmeny, které jsou použity jako inokulanty na výrobu tekutého fermentovaného krmiva, měly mít vysokou schopnost produkce kyseliny mléčné a dále by měli být aktivní proti střevním patogenům. Van Winsen *et al.* (2001) řadí mezi žádoucí vlastnosti tekutého fermentovaného krmiva pH nižší než 4,5, koncentraci bakterií mléčného kvašení vyšší než 9 log₁₀ CFU/ml, koncentraci kyseliny mléčné vyšší než 150 mmol/l a koncentrace ethanolu a kyseliny octové nižší než 0,8 mmol/l. Beal *et al.* (2002) uvedli, že proto, aby se v tekutém fermentovaném krmivu zabránilo růstu *Salmonella spp.*, je zapotřebí, aby krmivo obsahovalo nejméně 75 mmol/l kyseliny mléčné. Dále také společně s Brooks *et al.* (2003) tvrdí, že proto aby došlo ke snížení koncentrace enterobakterií, je nutné, aby koncentrace kyseliny mléčné byla vyšší než 100 mmol/l. Tato koncentrace kyseliny mléčné může mít pozitivní vliv na příjem krmiva a denní přírůstek.

Kvasinky a heterofermentativní bakterie mléčného kvašení produkují kyselinu octovou, která při nadměrném množství může způsobovat ztrátu chutnosti krmiva. Pokud během fermentace dojde k fázi, kdy začnou převažovat kvasinky, může dojít k produkci tzv. vedlejších

chutí a etanolu, které mohou snižovat chutnost i obsah sušiny a energie v krmivu (Jensen & Mikkelsen 1998). Jensen & Mikkelsen (1998) uvedli, že ztráty oxidu uhličitého mohou dosahovat až 3,1% sušiny. Naproti tomu tito autoři poukázali i na to, že přítomnost kvasinek v tekutém fermentovaném krmivu může být prospěšná pro zdravotní stav gastrointestinálního traktu prasat. Kvasinky mají schopnost vázat enterobakterie na svůj povrch a tím blokují vazbu těchto bakterií na střevním epitelu (Mul & Perry 1994).

1.5.2 Fermentace zrnové frakce

Přestože se fermentace kompletních krmiv řadí mezi nejjednodušší způsoby výroby tekutého fermentovaného krmiva, není tato metoda doporučována z důvodu možnosti ztráty některých živin, jako třeba aminokyselin, vitamínů apod. někteří autoři proto navrhují fermentaci pouze obilných frakcí namísto celých krmiv (Misotten *et al.* 2015).

Zrno je konzistentnějším produktem pro fermentaci v porovnání s kompletním krmivem, které obsahuje více živin (Brooks *et al.* 2003). Beal *et al.* (2005) uvedli, že spontánní fermentace zrna často nestačí k výrobě tekutého fermentu s žádoucími vlastnostmi. Proto je nutná inokulace kmenem LAB, díky kterým během fermentace vznikne více kyseliny mléčné a tím dojde ke kompenzaci zředovacího a pufrovacího účinku ostatních složek krmiva při výrobě kompletního krmiva (Brooks 2008). Obiloviny mají nižší pufrací kapacitu než krmné směsi, tudíž dochází u obilovin k rychlejší fermentaci (Canibe & Jensen 2012).

1.5.3 Spontánní fermentace

Nejčastěji se provádí za pomoci vsádkové fermentace, při které se směs krmiva a vody fermentuje bez výměny části fermentovaného tekutého krmiva (Scholten *et al.* 2002). Výhodou této metody fermentace je snadnější kontrolovatelnost. Při nežádoucí fermentaci je znehodnocena pouze jedna šarže krmiva (Brooks *et al.* 2003). Mezi nevýhody vsádkové fermentace patří doba samotné fermentace, která může trvat i několik dní, než vznikne kvalitní fermentované krmivo.

Beal *et al.* (2005) dospěli k závěru, že spontánní fermentace není spolehlivým systémem pro získání bezpečného a chuťově přijatelného krmiva, protože dochází k odchylkám ve struktuře fermentace. Také další studie prokázali, že nekontrolovaná neboli spontánní fermentace vede k vyšším koncentracím kyseliny octové i biogenních aminů, které mají nepříznivý vliv na chutnost tekutých fermentovaných diet (Niven *et al.* 2006). Z tohoto důvodu spontánní fermentace není příliš doporučována (Misotten *et al.* 2015). Kvalitu spontánně fermentovaných krmiv je možné zlepšit přidáním mědi do fermentačního média, která urychluje produkci kyseliny mléčné (Beal *et al.* 2003).

Kvalitu fermentovaných tekutých krmiv je možné také zlepšit inokulací krmiva bakteriemi mléčného kvašení, které produkují vysokou koncentraci kyseliny mléčné (Jensen & Mikkelsen 1998). Inokulace je nejdůležitější při fermentaci zrnové frakce, v souvislosti s produkcí kyseliny mléčné, která by měla být vyšší, aby kompenzovala zředovací a pufrovací účinky ostatních složek krmiva při zpracování do kompletního krmiva (Brooks 2008).

1.5.4 Kontinuální fermentace

Kontinuální fermentace se ve skutečnosti nepoužívá, protože fermentace se neobnovuje nepřetržitě čerstvou krmnou směsí ale v pravidelných časových intervalech, které se obvykle shodují s dobou krmení. Tomuto postupu se říká „zpětné kvašení“ (Salovaara 2004).

V praxi zpětné kvašení zahrnuje buď ponechání určitého množství dříve zkvašeného produktu v nádrži, ke kterému se přimíchá čerstvý substrát, anebo se přidá část zkvašeného produktu do čerstvé nádrže se substrátem, který slouží jako inokulum. Tímto způsobem dochází k zachování části z předchozí fermentace a ponechání jako inokulum pro další dávku (Moran *et al.* 2006). To umožňuje postupnou selekci bakterií mléčného kvašení a urychlení fermentace (Nout *et al.* 1989). V porovnání s dávkou fermentace, která trvá několik dní, než se získá kvalitní fermentované tekuté krmivo, lze fermentovaná krmiva vyrobená zpětným kvašením během několika hodin. Brooks (2008) upozornil na to, že tento způsob kvašení může mít za následek rozvoj mikroflóry s převahou kvasinek, které mohou mít v závislosti na přítomných kmenech pozitivní stejně tak i negativní účinek na nutriční hodnotu fermentovaných krmiv.

Bylo prokázáno, že udržování 25 % v nádrži k naočkování čerstvě přidaného tekutého krmiva, bylo dostatečné k udržení správné fermentace (Plumed-Ferrer *et al.* 2005). Moran *et al.* (2006) dospěli k závěru, že při fermentaci není vhodné ponechat ve fermentační nádrži více než 20 % fermentované pšenice. Přestože se většinou ponechává 50 % zbytků, lze použít i nižší podíl. Důležité je, že 20 % představuje minimální procento, které stále zajišťuje žádanou krmnou vlastnost při použití zpětného kvašení. (Missoten *et al.* 2015).

1.6 Technologie fermentovaného tekutého krmení pomocí LAB

Cílené použití mikroorganismů prodlužuje nejen trvanlivost, ale také pozitivně ovlivňuje trávicí trakt a zdraví zvířat (Fuka 2017). Systém tekutého krmení vytváří ideální prostředí pro růst patogenních organismů, včetně plísní produkující toxiny, bakterií (*E. Coli*), kvasinek a dalších nežádoucích mikroorganismů. Tyto patogenní látky negativně ovlivňují zdraví zvířat, mohou způsobit průjemová onemocnění, poruchy trávicího traktu, respirační problémy a v extrémních případech i úhyn zvířat (Prokop 1991).

Jedním z prostředků k omezení tlaku nežádoucích mikroorganismů na zdraví prasat je okyselování krmných dávek na požadovanou hodnotu pH, která se obvykle pohybuje mezi 3,5 až 4,5. Existuje široký sortiment acidifikačních přípravků, známých také jako acidifikátory. Ty mohou být jednoduché, obsahující organické kyseliny, jako je například kyselina mravenčí, nebo složitější, skládající se z různých organických a mastných kyselin (Fuka 2017). Další možnost pro okyselení krmných dávek je v předchozích kapitolách popsána fermentace s využitím bakterií mléčného kvašení.

1.7 Vybrané faktory ovlivňující průběh fermentace

1.7.1 Teplota

Brooks *et al.* (2001) vyzkoumali, že kvašení při různých teplotách může přinést rozdílné výsledky. Zjistili, že fermentace krmiva při teplotách vyšší než 28 °C nepřinesla tekutému fermentovanému krmení téměř žádné výhody oproti krmivu vyrobenému při teplotě 20°C. Při

této teplotě se počet koliformních bakterií pohyboval těsně nad detekčním limitem. Bylo však poukázáno na skutečnost, že pokud má být požadované pH při krmení nižší než 4,5, musí být teplota alespoň již zmiňovaných 20°C. Také uvádí, že enterogenní patogeny jako jsou *E. coli* a *Salmonella spp.* nejsou odolné hodnotám pH nižším jak 4,5 (Brooks *et al.* 2003).

Později Beal *et al.* (2002) při zkoumání vlivu fermentace na vyloučení *Salmonella typhimurium* zjistili, že doba potřebná k redukci těchto bakterií byla mnohem kratší při teplotě 30°C v porovnání s 20°C. Přestože minimální teplota pro získání optimálního tekutého fermentovaného krmiva je 20°C, upřednostňuje se teplota 30°C, protože umožňuje rychlejší produkci kyseliny mléčné a rychlejší redukci všech enteropatogenů (Brooks 2003).

Je potřeba se vyhnout přidávání studené vody do systému, a to i během zpětného výplachu. Okamžité přidání vody, o teplotě cca 5-7 °C způsobí studený šok, což by mohlo následně vyvolat produkci proteinů chladového šoku u enteropatogenů. Tento fakt by napomohl k jejich přežití a setrvání v krmivu (Brooks *et al.* 2001; Beal *et al.* 2002). Navíc rychlé zchlazení vodou narušuje růst bakterií mléčného kvašení, čímž se umocňuje dominance kvasinek (Brooks *et al.* 2001; Missotten *et al.* 2010).

1.7.2 Inokulum

Pro maximalizaci produkce kyseliny mléčné a inhibici patogenů a minimalizaci tvorby nežádoucích metabolitů z heterofermentativních bakterií mléčného kvašení (LAB) je vhodnější použití homofermentativního inokulantu LAB (Cullen 2021). Nejběžněji používaným druhem LAB jako inokulum je *Lactobacillus plantarum*. Tento druh bakterií se vyznačuje vynikajícím růstem v tekutých krmivech pro prasata, což je pravděpodobně důsledek jeho časté izolace z obilovin a jiných rostlinných materiálů (Plumed-Ferrer & Von Wright 2009).

1.7.2.1 Rod lactobacillus

Laktobacily jsou taxonomicky složitý rod bakterií, který zahrnuje více než 170 druhů. Laktobacily se řadí do skupiny nazývané bakterie mléčného kvašení (LAB), což je rozsáhlá skupina grampozitivních bakterií, které fermentují cukry na kyselinu mléčnou, a proto laktobacily upřednostňují kyselé prostředí (Hammes & Vogel 1995).

Bakterie mléčného kvašení zahrnují několik rodů. Mezi významné řadíme následující: *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*. Rod *Lactobacillus* klasifikujeme jako nejpočetnější. Všechny druhy laktobacilů jsou tyčinkovité bakterie, které se shlukují do řetězců. Jsou striktně aerobní, ale dobře rostou i za anaerobních podmínek.

V rámci bakterií mléčného kvašení, lze rozlišit dvě skupiny podle schopnosti fermentovat cukry: homofermentativní druhy produkující převážně kyselinu mléčnou, zatímco heterofermentativní druhy produkují kromě kyseliny mléčné také další látky, jako kyselinu octovou, ethanol a oxid uhličitý (Hammes & Vogel 1995).

1.8 Vliv bakterií mléčného kvašení na organismus prasat

Při úspěšné fermentaci dochází k vysokému množení laktobacilů. Tyto bakterie získávají energii pro svůj proces dělení ze sacharidů obsažených v okolí a při tomto biochemickém procesu vylučují kyselinu mléčnou. Ideálním výsledkem fermentace je směs

s vysokou koncentrací laktobacilů, vysokým obsahem kyseliny mléčné a nízkým pH (Brooks 2008).

Takto fermentované krmivo má antimikrobiální účinky, které umožňují trávicímu traktu prasat odolávat různým patogenům, zejména *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* a koliformním bakteriím. Tyto účinky vycházejí z toho, že kyselina mléčná je schopna proniknout do patogenní buňky a narušit její pH, což vede ke snížení enzymatických procesů, narušení nukleových kyselin a proteinů (Brooks 2008).

Používání technologie fermentovaného mokrého krmiva může pozitivně ovlivnit trávicí proces prasat, morfologii trávicího traktu a celkové zdraví zvířat. Mokrý fermentovaný krmiv může zvýšit apetit prasat, zlepšit využitelnost živin a u mladších prasat může kyselina mléčná sloužit jako pufr v žaludku, což vede ke snížení pH a zvýšení rezistence vůči patogenům, a tím se snižuje výskyt průjmů (Brooks 2008).

1.8.1 Vliv na zdraví GIT

Canibe & Jensen (2003) prokázali, že fermentace tekutých krmiv má vliv na fyziologii, mikrobiologii a morfologii trávicího traktu. Dále bylo prokázáno, že v porovnání se suchým krmivem dochází ke snížení výskytu průjmových onemocnění a úplavic jakožto i zoonóz šířících se mezi konzumenty (Plumed – Ferrer & Von Wright 2009).

1.8.1.1 Vliv fermentovaného krmiv na mikrobiotu v GIT

Složení mikrobiální populace v gastrointestinálním traktu může být ovlivněno použitím fermentovaného tekutého krmiva. Nejčastější změnou je zvýšení koncentrace bakterií mléčného kvašení, tím snížení pH, a to zejména v žaludku a tenkém střevě (Jørgensen *et al.* 2010). Moran *et al.* (2006) uvádí, že poměr bakterií mléčného kvašení a koliformních bakterií ve spodní části střeva prasat odstavených pomocí fermentovaného tekutého krmiva byl posunut ve prospěch bakterií mléčného kvašení, zatímco u selat krmných sušeným krmivem byl tento poměr posunut ve prospěch koliformních bakterií.

Velikost změny může být ovlivněna podmínkami fermentace. Canibe & Jensen (2003) nezjistili žádné rozdíly v počtu bakterií mléčného kvašení přítomných v distálním tenkém střevě rostoucích prasat, když byl obsah gastrointestinálního traktu inkubován při teplotě 37°C. Avšak při teplotě 20 °C, která odpovídá výrobní teplotě fermentovaného krmiva, byly podíly bakterií mléčného kvašení v žaludku a distálním tenkém střevě významně vyšší u prasat krmných tekutým fermentovaným krmivem v porovnání se sušeným krmivem nebo tekutým krmivem. Další významnou změnou v mikrobiální populaci v gastrointestinálním traktu je zvýšení počtu kvasinkových buněk. Kvasinky mají schopnost vázat enterobakterie na svůj povrch, čímž blokují vazbu těchto bakterií na střevní epitel.

Zvýšení počtu bakterií mléčného kvašení a kvasinkových buněk se zdá být účinnou strategií k redukci enteropatogenů, jako jsou *Salmonella spp.* a *E. coli*. Nedávný přehled Canibe & Jense (2006) potvrdil, že fermentované tekuté krmivo může snížit výskyt *Salmonella spp.* (Tielen *et al.* 1997).

1.8.1.2 Vliv fermentovaného tekutého krmiva na pH v GIT

Bylo pozorováno, že selata krmená tekutým fermentovaným krmivem vykazují snížení žaludečního pH ve srovnání se selaty krmenými pouze vlákninou nebo tekutým krmivem. Obvykle u prasat krmených tekutým fermentovaným krmivem je pH žaludku vyšší než u prasat krmených vlákninou nebo tekutým krmivem (Canibe & Jensen 2003; Mikkelsen & Jensen 1998). Toto souvisí s vysokou sekrecí pankreatické šťávy, kterou stimuluje vysoká koncentrace kyseliny mléčné a nízké pH v tekutém fermentovaném krmivu (Jensen & Mikkelsen, 1998; Plumed-Ferrer & von Wright 2009).

Missotten *et al.* (2010) předpokládají, že lepší růst prasat krmených dietami obsahujícími organické kyseliny může být spojen s nižším pH žaludku, což umožňuje lepší proteolytickou aktivitu v žaludku a potlačuje růst nežádoucích patogenních bakterií. Tento efekt se pravděpodobně vyskytuje i při zkrmování tekutých fermentovaných diet. Lallès *et al.* (2007) zdůrazňují, že žaludek je klíčovou bariérou proti patogenům a snížení pH může tuto bariéru posílit a zabránit vzniku koliformních infekcí, zejména u čerstvě odstavených selat, která obvykle nedokážou produkovat dostatek žaludeční kyseliny (HCl).

1.9 Vliv mykotoxinů na prasata

Mykotoxiny tvoří skupinu látek s různými vlastnostmi, které vznikají sekundárním metabolismem toxigenních hub. Je odhadováno, že 25 % světové produkce obilovin vykazuje kontaminaci mykotoxiny. Ke kontaminaci krmiv mykotoxiny může dojít na farmách, po sklizni nebo během skladování. Bylo prokázáno, že krmiva a kompletní krmné směsi jsou často kontaminovaná mykotoxiny (Patriarca 2017). Prasata jsou na výskyt mykotoxinů v krmivech velmi citlivá, a to zejména na aflatoxiny a fusariové toxiny jako jsou deoxynivalenol a fumonisiny, které se velmi často vyskytují v kukuřici. Toxické účinky zahrnují regulaci imunitního systému, narušení funkce střevní bariéry a cytotoxicitu vedoucí k odumírání buněk, které vedou ke zhoršení užitkovosti prasat (Holanda & Kim 2021). Citlivost zvířat může ovlivňovat pohlaví a věk (Holanda & Kim 2021).

Kukuřice je významným krmivem, které se používá ke krmení prasat, a proto je její zkoumání kontaminace mykotoxiny velmi cenné. Streita *et al.* (2013) zjistili, že vzorky kukuřice vykazovaly nejvyšší výskyt (84 %) a hladiny mykotoxinů napříč testovanými vzorky, s výjimkou ochratoxinu A. Stejná studie prokázala podobnou úroveň kontaminace i u krmných směsí, kde byla kukuřice jejich hlavní složkou. Srovnatelné výsledky publikovali Gruber-Dorninger *et al.* (2019), kde nejvíce převažovaly mykotoxiny fumonisiny, deoxynivalenol a zearalenon, jak v kukuřici, tak v hotovém krmivu.

1.9.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny produkují houby rodu *Aspergillus spp.* *Aspergillus flavus* běžně kontaminuje obilí a ořechy během období před sklizní. Je známo, že *A. flavus* produkuje toxiny B1 a B2. Další druh, *Aspergillus parasiticus*, může kromě aflatoxinů produkovaných *A. flavus* produkovat i aflatoxiny G1 a G2 (Yu 2012).

Evropská komise stanovila doporučené limity pro kontaminaci aflatoxinem B1 v krmivech a krmivech určených pro mladá prasata na 0,01 mg/kg a pro starší prasata na 0,02

mg/kg (Holanda& Kim 2021). Regulace pouze aflatoxinu B1 je zapříčiněna jeho větší toxicitou a vyšším výskytem a koncentrací v porovnání s ostatními typy aflatoxinů jako kontaminanty v krmivech. V Evropské unii je proto upravován pouze aflatoxin B1, neboť vypovídá o kontaminaci jinými aflatoxiny. Streit *et al.* (2013) ve své studii testoval vzorky na přítomnost aflatoxinu v krmivech. Prokázal, že všechny vzorky pozitivní na aflatoxiny byly pozitivní právě na aflatoxin B1.

Aflatoxiny inhibují RNA polymerázovou transkripci DNA na mRNA v jádře, snižují syntézu buněčného proteinu (Yu 1977), čímž zvyšují buněčnou toxicitu a navozují smrt (Zimmermann *et al.* 2015). Aflatoxin B1 může potlačit buňky prezentující antigen změnou funkce dendritických buněk a případně snížením proliferace a diferenciací T – buněk. Při chronické expozici může aflatoxin B1 vést k potlačení imunity, poškození jater, zhoršení růstu a může dojít i k integraci s DNA, což následně vede k rozvoji neoplazie (Raisuddin *et al.* 1993). Aflatoxin B1 je v porovnání s ostatními aflatoxiny mnohem toxičtější a vykazuje zároveň vyšší karcinogenní účinky (Yu 2012).

Je dokázáno, že Aflatoxin B1 má škodlivé účinky na zdraví jater a rovnováhu elektrolytů prasat. Mykotoxiny přispívají k dysfunkci jater a ledvin, mění jejich strukturu a funkce. Účinky mykotoxinů na těchto dvou zásadních orgánech s metabolickými funkcemi mohou ovlivnit syntézu cholesterolu, později aktivaci vitamínu D a také rovnováhu vápníku a fosforu (Lawson *et al.* 1971). V případě požití aflatoxinu mají játra významnou roli při detoxikaci. Enzymy cytochromu P450 mohou buď přeměnit aflatoxiny na svou toxičtější formu, nebo na méně toxické metabolity, jako jsou aflatoxin M1 a M2 (Yu 2012). Dále také aflatoxiny způsobují zhoršení růstu u zvířat v důsledku uvolňování cytokinů (Marin *et al.* 2002).

1.9.2 Deoxynivalenol

Deoxynivalenol je přirozeně se vyskytující metabolit produkovaný houbami rodu *Fusarium spp.*, který může kontaminovat krmivo používané při přepravě krmiva. Například *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum* jsou hlavní celosvětově se vyskytujícími druhy, které produkují deoxynivalenol (Glenn 2007)

Je prokázáno, že dietní příjem deoxynivalenolu snižuje příjem krmiva a tím přírůstek prasat (Patience *et al.* 2014). Prasata začínají vykazovat sníženou růstovou výkonnost, již při podávání krmiva s 1 až 3 mg/kg deoxynivalenolu (Marin *et al.* 2013), a každý další 1 mg/kg deoxynivalenolu snižuje přírůstek o 8 % u prasat (Dersjant-Li 2003).

Deoxynivalenol snižuje příjem krmiva zejména u prasat modulací lokálního serotoninu a snížením pohybu střev, zvýšením signalizace sytosti, uvolňováním prozánětlivých cytokinů a občasným vyvoláním zvracení (Holanda& Kim 2021). Kromě sníženého příjmu krmiva je růst snížen deoxynivalenolem indukovaným narušením střevní bariéry a zvýšenou intestinální permeabilitou prostřednictvím aktivace mitogen aktivované proteinkianázové dráhy u prasat (Patience *et al.* 2014). Toxické účinky deoxynivalenolu na příjem živin zahrnuje inhibici SGLT-1 (Sodík/glukóza kotransportér 1) v membráně kartáčového lemu v tenkém střevě, což omezuje absorpci glukózy (Holanda& Kim 2021). V důsledku toho nižší příjem energie, živin a jejich vstřebávání spolu se zhoršeným buněčným metabolismem negativně působí na intenzitu růstu prasat (Holanda& Kim 2021).

Dále také kromě výše uvedených toxických účinků může deoxynivalenol oslabit funkci jater a ledvin. Může potlačit imunitní systém ve vysokých dávkách nebo stimulovat imunitní systém v nízkých dávkách. U prasat dlouhodobě krmených dietou kontaminovanou dexynivalenolem byla zaznamenána zvýšená hladina interleukinu-8 a glutathionperoxidázy, nárůst celkového sérového imunoglobulinu A a specifického imunoglobulinu G (Holanda&Kim 2021).

1.9.3 Fumonisin

Fumonisin jsou dalšími toxiny produkovanými rody *Fusarium spp.*, které se široce vyskytují převážně v plodinách kontaminovaných *Fusarium verticillioides* a *Fusarium proliferatum*, lokálně i v dalších druzích jako *Fusarium nygami*, *Fusarium napiforme* a *Fusarium globosum*

Mezi hlavní fumonisin toxické pro prasata patří fumonisin B1. Toxické účinky fumonisinu B1 jsou způsobeny inhibicí ceramid syntázy, což vede k narušení metabolismu sfingolipidů a nahromadění sfinganinu. Zvýšené koncentrace sfynganinu v játrech a v ledvinách jsou spojeny s vyvoláním buněčné apoptózy a mitózy, a to vede k fibróze, respektive k nodulární hyperplazii. Z tohoto důvodu je poměr sfinganinu ke sfingosinu zkoumán jako biomarker intoxikace fumonisinem B1 (Holand& Kim, 2021).

Intoxikace fumonisinem B1 u prasat způsobuje edém plic. Toxické projevy lze pozorovat během jednoho týdne po krmení prasat stravou kontaminovanou fumonisinem B1, kdy dochází k respirační tísní a objevení cyanózy. Tyto příznaky mohou vést až k úhynu zvířete (Osweiler *et al.* 1992). Mezi další příznaky intoxikace fumonisinem B1 patří buněčná imunosuprese, hypoxie a snížení přírůstku hmotnosti. Dochází k narušení střevní bariéry ovlivněním funkce těsného spojení. Celkově zhoršená imunitní a bariérová funkce činí intoxikovaná prasata náchylnější k rozvoji patogenů (Holanda& Kim 2021).

1.9.4 Mnohonásobná toxicita mykotoxinů

Použití mykotoxinových detoxikačních činidel se osvědčilo jako vhodný postup pro snížení toxických účinků mykotoxinů u prasat a zároveň snížení plýtvání plodinami (Holanda& Kim 2021).

Alassane-Kpembí *et al.* (2017) porovnávali interakce mezi mykotoxiny napříč toxikologickými studiemi in vitro. Kombinace s aflatoxiny (B1, B2, M1 a M2) vykazovali společný toxický účinek, zatímco aflatoxin B1 v kombinaci s fumonisinem B1 vykazovali antagonistický karcinogenní účinek, ale synergický imunotoxický účinek. V buňkách prasečích ledvin vykazovali aflatoxiny B1 a deoxynivalenol synergické toxické poškození inkubovaných buněk (Lei *et al.* 2013). Alassane-Kpembí *et al.* (2015) provedli studii se střevními buňkami prasat, kde všechny směsi trochothecenů vykazovaly vyšší inhibiční účinek než jednotlivé mykotoxiny. Konkrétně u 3acetyl-deoxynivalenolu vykazovali nízké, střední a vysoké dávky antagonistické, aditivní a synergické účinky (Alassane-Kpembí *et al.* 2015). Ve střevních prasečích buňkách vystavených deoxynivalenolu, fumonisinu B1 a zearalenonu došlo k aditivní buněčné toxicitě, zatímco deoxynivalenol a zearalenon měly synergický inhibiční účinek na buněčnou proliferaci (Alassane-Kpembí *et al.* 2017). Výsledky ex vivo na vzorcích prasečího

jičnu ukázaly silný (2 AŽ 14násobné zvýšení) synergický účinek deoxynivalenolu a nivalenolu na hladinu zánětlivých cytokinů (Alassane-Kpembí *et al.* 2017).

Stejně jako výsledky *in vitro* a *ex vivo* vykazovaly směsi aflatoxinů, deoxynivalenolu a fumonisinů také různé účinky u zvířat, u kterých byly pozorovány zejména aditivní a synergické účinky. Aflatoxiny a deoxynivalenol ve studiích *in vivo* společně způsobovali poškození jater a zapříčiňují zhoršení imunitní funkce, což vede ke snížení růstu prasat (Chaytor *et al.* 2011). Mykotoxinová zátěž aflatoxinem B1 a deoxynivalenolem snížila zdánlivou ileální stravitelnost živin krmiva u čerstvě odstavených prasat (Holanda *et al.* 2020).

Bylo zjištěno, že společné působení aflatoxinů a fumonisinů mělo za následek snižování příjmu krmiva a přírůstku hmotnosti prasat. U aflatoxinů v kombinaci s deoxynivalenolem byl pozorován synergický účinek na snížení cholesterolu a glukózy a na zvýšení počtu bílých krvinek. Naopak na snížení kreatinfosfokinázy byl prokázán aditivní účinek, ale menší než aditivní účinek na snížení přírůstku hmotnosti. Interakce mezi deoxynivalenolem a fumonisinem vykazovala synergický účinek na snížení přírůstku hmotnosti a zvýšení počtu jaterních enzymů a zároveň aditivní účinek na snížení příjmu krmiva (Holanda & Kim 2021).

1.10 Výhody tekutého fermentovaného krmení

Studie Kil & Steina (2005) identifikovala fermentované tekuté krmivo jako efektivní strategii krmení prasat, která může nahradit použití antibiotických růstových stimulatorů. Tento přístup měl příznivé účinky u selat, odstavených a výkrmových prasat s velikostí zlepšení závislou na úrovni patogenů v daném chovu.

Bakteriální mikroflóra v gastrointestinálním traktu prasat je ovlivněna zejména v raném věku. Podle Kennyho *et al.* (2011) je období bezprostředně po narození klíčové pro vytvoření bakteriální mikroflóry, může mít dlouhodobý vliv na zdraví a výkonnost zvířat. Krmení prasnic fermentovaným tekutým krmivem ovlivnilo složení bakteriální střevní mikroflóry jejich potomků. Selata od prasnic krmených fermentovaným tekutým krmivem vykazovala nižší počet koliformních bakterií ve výkalech ve srovnání se selaty od prasnic krmených jinými typy krmiva. Zároveň byl pozorován vyšší počet bakterií mléčného kvašení u selat od prasnic krmených fermentovaným tekutým krmivem. To naznačuje, že vhodný výběr probiotických kmenů pro fermentaci tekutého krmiva může ovlivnit mikrobiální složení střeva selat, což může vést k odolnosti vůči nepříznivým faktorům (Missottten *et al.* 2015).

Výzkumy Missotttena *et al.* (2010) ukazují, že příjem sušiny u nově odstavených prasat může být zvýšen podáváním fermentovaného tekutého krmiva. Selata, kterým bylo zkrmováno fermentované tekuté krmivo, si udržela vyšší celkový příjem sušiny v porovnání se selaty, která dostávala jiné typy krmiva. Tento efekt může být způsoben preferencí tekuté formy krmiva prasaty. Příjem tekuté formy krmiva minimalizuje potřebu samostatného učení při krmení a pití.

Tento přístup usnadňuje adaptaci odstavených na nové podmínky po odstavení a minimalizuje riziko dehydratace. Barber (1992) popsal situace, kdy u některých prasat trvá déle než 24 hodin, než se naučí najít napáječku ve svém kotci, což následně může vést k dehydrataci. Tento problém je možné minimalizovat použitím tekutých krmiv, která zajišťují prasatům nutriční a hydratační potřeby bez nutnosti speciálního učení.

Tento přístup je zvláště důležitý pro odstavená selata, která se musí rychle adaptovat na nové stravovací podmínky a zároveň udržovat optimální stupeň hydratace. Tekutá strava umožňuje

selatům snadný a rychlý přístup k potravě a vodě, což může podpořit jejich zdravý růst a vývoj v této rané fázi jejich života (Missotten *et al.* 2015).

Výzkum provedený Russell *et al.* (1996) ukázal, že příjem sušiny u nově odstavených prasat lze efektivně zvýšit poskytnutím fermentovaného tekutého krmiva. Při nabízení fermentovaného tekutého krmiva s různým obsahem sušiny (14,5 až 25,5 %) selata udržovala vyšší příjem sušiny tím, že zvýšila celkový objemový příjem. Překvapivě koncentrace sušiny v dietě neměla žádný vliv na hmotnostní přírůstek nebo účinnost krmiva. Tyto výsledky podporují teorii, že prasata omezují příjem vody, která není součástí tekutého krmiva nebo fermentovaného tekutého krmiva, aby maximalizovala příjem krmiva. Tento jev je zřejmě důsledkem toho, že prasata preferují příjem krmiva a vody současně z jednoho zdroje, což může vést k vyšší spotřebě sušiny (Missotten *et al.* 2015).

Důležité je, že celkový objemový příjem sušiny a vody je srovnatelný, ať už je strava podávána v tekuté nebo suché formě. To znamená, že pokud je strava dostatečně vyvážená a atraktivní, prasata budou udržovat přiměřený příjem jak sušiny, tak vody, bez ohledu na formu, v jaké je jim podávána (Missotten *et al.* 2015).

Při sestavování diet, které mají být použity jako fermentované tekuté krmivo pro odstavná prasata, je důležité dbát na realistické odhady sušiny. Vyšší příjem sušiny u selat krmených tekutým krmivem nebo fermentovaným tekutým krmivem oproti těm, která jsou krmena suchou dietou, naznačuje, že při sestavování tekutého krmiva je třeba pečlivě zohlednit obsah živin. Je-li sestaveno fermentované tekuté krmivo s nevyváženým poměrem živin, zejména s nadměrným obsahem bílkovin, může to vést ke sníženému využití krmiva a v konečném důsledku ke sníženému příjmu sušiny. Nadbytek bílkovin může také způsobit problémy se zdravím střev, jako je proteinem vyvolaný průjem (Missotten *et al.* 2015).

Brooks *et al.* (2003) zdůrazňuje, že fermentace nutričně vyváženého krmiva zlepší výkonnost pouze tehdy, pokud zvýší příjem krmiva nebo zlepší zdraví střev. Jestliže fermentace neovlivní příjem krmiva, může dojít k vytvoření stravy, která není nutričně vyvážená. Je proto důležité zajistit, aby fermentované tekuté krmivo poskytovalo vyváženou výživu, aby podporovalo optimální zdraví a výkonnost selat.

Přínosy získané z krmení fermentovaným tekutým krmivem pro prasata ve fázi růstu sice nejsou tak výrazné jako u odstavných prasat, ale stále představují určitou výhodu. Jensen & Mikkelsen (1998) shrnuli výsledky 9 studií *in vivo* porovnávajících užitečnost prasat krmených suchým krmivem a tekutým krmivem a zaznamenali zlepšení přírůstku hmotnosti o 4,4 % a zlepšení účinnosti krmiva o 6,9 % s tekutým krmivem. I když tento rozdíl není tak významný jako u odstavných prasat, může to být přínosné, zejména pokud jde o kvalitu jatečně upraveného těla.

Důležitou výhodou krmení fermentovaným tekutým krmivem je také změna metabolismu tryptofanu v tlustém střevě prasat. Tento proces vede k produkci indolu namísto skatolu, což vede ke snížení koncentrace skatolu v hřbetním tuku prasat ve výkrmu. Snížení koncentrace skatolu následně vede ke snížení nepříjemného kančího pachu masa (Kjeldsen 1993). Je však důležité zdůraznit, že tato výhoda je významná pouze v případě, že se pro konečnou úpravu prasat používají intaktní samce.

Jedním z vysvětlení pro zlepšení výkonnosti, který byl pozorován u fermentovaného tekutého krmiva, je kontrola patogenních organismů. Tento faktor je důležitý pro udržení zdraví

zvířat a minimalizaci rizika infekcí. Dalším vysvětlením, které přispívá ke zlepšení výživy, je zvýšená stravitelnost živin (Missotten *et al.* 2015).

Ačkoliv výsledky získané z podávání fermentovaného tekutého krmiva nejsou jednoznačné, zdá se, že průměrně dochází ke zlepšení trávení. Tento jev může být přičítán fermentačním procesům, které probíhají během přípravy krmiva. Během těchto procesů dochází k tvorbě organických kyselin a aktivaci endogenních enzymů, jako jsou fytázy, což může zvýšit stravitelnost a dostupnost určitých živin obsažených v krmivech.

Některé studie ukázaly, že fermentace diety zvýšila stravitelnost hrubého proteinu, hrubé vlákniny a neutrální detergentní vlákniny u prasat v dospívání. Jedním z navrhovaných důvodů zlepšené stravitelnosti bílkovin u prasat krmených fermentovaným tekutým krmivem souvisí se snížením pH žaludku. Nižší pH žaludku totiž stimuluje proteolytickou aktivitu v žaludku a zpomaluje rychlost vyprazdňování žaludku, což umožňuje více času na trávení v žaludku a lepší vstřebávání živin (Missotten *et al.* 2015).

Fermentované tekuté krmivo vykazuje v porovnání se suchým krmivem významné zlepšení ileální stravitelnosti organické hmoty, dusíku a vápníku. Jedním z možných vysvětlení těchto zlepšení je změna morfologie gastrointestinálního traktu zvířat (Missotten *et al.* 2015).

Studie provedená Scholtenem *et al.* (2002) ukázala, že prasata krmená fermentovaným tekutým krmivem měla významně delší klky a vyšší poměr klků/krypt. Tato morfologická změna je spojena se zvýšenou trávicí kapacitou trávicího systému zvířat.

Dále bylo prokázáno, že fermentace krmiva může vést k mobilizaci fosforu z fytátů prostřednictvím aktivace endogenní fytázy obsažené v zrně. V důsledku toho je zaznamenána vyšší ileální stravitelnost fosforu u prasat krmených fermentovaným tekutým krmivem ve srovnání se suchým krmivem. Tato skutečnost naznačuje, že fermentované tekuté krmivo může zlepšit využití fosforu ve stravě prasat (Lyberg *et al.* 2006).

Další výhodou fermentovaného krmiva je jeho schopnost snížit obsah různých antinutričních faktorů přítomných v krmivech. Studie provedená Chiangem *et al.* (2006) ukázala, že fermentace řepkového šrotu vedla k 17% snížení isothiokyanátů po 1 dni fermentace a až 68% snížení po 3 dnech fermentace. Podobné účinky byly pozorovány při fermentaci fazolí po dobu 96 hodin, což vedlo ke snížení koncentrace antinutričních faktorů, jako jsou α -galaktosidy, fytát, inhibitor trypsinu, taniny a saponiny (Shimelis&Rakshit 2006). Tyto výsledky byly potvrzeny i ve studii Egounletyho & Aworha (2003) pro fermentaci sóji a mletých bobů, i když se během fermentace sójových bobů mírně zvýšil obsah inhibitoru trypsinu.

Snížení množství prachu ve stájích prasat při manipulaci a krmení bylo hlášeno u fermentovaného tekutého krmení. Takové snížení nejen zlepšuje životní prostředí pro prasata a pracovníky, ale může pomoci zesílit dopad respiračních onemocnění na užitkovost prasat (Missotten *et al.* 2010).

1.11 Nevýhody tekutého fermentovaného krmení

Přestože použití fermentovaného tekutého krmiva má mnoho výhod, má také své nevýhody. Krmení tekutým fermentovaným krmivem je někdy spojeno s rozvojem onemocnění, jako je syndrom hemoragického střeva, torze žaludku, distenze trávicího traktu a žaludeční vředy (Missotten *et al.* 2010).

Kromě toho může proces fermentace způsobit ztrátu základních živin z krmiva, zejména syntetických aminokyselin záměrně přidaných do krmiva (Canibe & Jensen 2003). Například k produkci biogenních aminů, jako je kadaverin, může dojít v důsledku dekarboxylace syntetického L-lysinu (Brooks *et al.* 2003). Tvorba biogenních aminů způsobuje nevratnou ztrátu aminokyselin pro prase (Dierick *et al.* 1986).

Dopad této ztráty lze snížit fermentací pouze obilné frakce spíše než kompletního krmiva.

Závěrem, je-li fermentace krmiva provedena nedostatečně, může to vést k nadměrné koncentraci kvasinek a produkci nepříjemných pachů a chutí. To je způsobeno tvorbou různých sloučenin, jako je kyselina octová, ethanol a amylalkoholy, které mohou ovlivnit chuťové vlastnosti krmiva a udělat ho méně atraktivním pro zvířata. Je důležité zajistit, aby fermentační proces probíhal správně a řádně, aby se minimalizovaly negativní dopady na chuť a přitažlivost krmiva (Brooks *et al.* 2003).

Metodika

Vlastní experimentální část práce byla rozdělena na dvě části. V první byl sledován vliv komponent fermentu a podmínek během fermentace na její průběh, přičemž počátek fermentace byl při 37°C. Ve druhé části práce byl vyhodnocen vliv nestandardního počátku fermentace (15 °C a 45 °C) na její následný průběh.

V první části práce byl sledován vliv různých suchých komponentů fermentů o různém poměru bílkovinných krmiv na průběh fermentace stanovený hodnotou pH. Cílem bylo ověřit vliv teploty v průběhu fermentace a schopnost fermentu jejího udržení. Fermentace probíhala ve čtyřech různých podmínkách prostředí:

- Lednice – 10 °C
- Prostředí (bez izolace) – 21 °C
- Termobox (pasivní izolace) – 21 °C
- Termostat (aktivní udržování teploty) – 35 °

V pokusu bylo vytvořeno 12 fermentačních směsí. Složení jednotlivých směsí je uvedeno v tabulce 1. Pro fermenty byly použity komponenty: pšenice, ječmen, oves, sójový extrahovaný šrot, řepkový extrahovaný šrot, otruby, tritikále a hrách. V každé fermentaci byly 2 vzorky a provádělo se ve 2 opakování a na 4 různých místech, tedy dohromady 8 vzorků. Teplota přidávané vody na začátku fermentace měla 37°C. Měření teploty a pH probíhalo hned po založení fermentu, po 4 hodinách, po 24, 48, 72 a 96 hodinách.

1.12 Příprava vzorků

Jednotlivé komponenty byly nejprve rozemlety na co nejmenší částice a následně odváženy do kádinek v určitém poměru, který je uveden v tabulkách. V každé kádince bylo 25 g směsi včetně 0,05 g inokula a 75 mililitrů vody z kohoutku o teplotě 37°C. Vytvořená suchá směs byla v kádince promíchána a následně zalitá vodou z kohoutku a znovu promíchána. Poté bylo změřeno počáteční pH u každého vzorku a kádinka vložena na své místo působení.

Tabulka 1. Procentuální složení jednotlivých fermentačních směsí.

Komponenty (%)	směs 1	směs 2	směs 3	směs 4	směs 5	směs 6	směs 7	směs 8	směs 9
pšenice	14.99	14.24	13.24	11.49	13.49	0.00	0.00	0.00	0.00
ječmen	4.25	4.25	4.25	4.25	4.25	2.25	4.25	4.25	4.25
sójový extrahovaný šrot	1.75	1.75	3.50	5.25	1.75	1.75	3.50	5.25	1.75
řepkový extrahovaný šrot	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
hrách	1.50	2.25	1.50	1.50	3.00	1.50	1.50	1.50	1.50
otruby	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.00	5.00	5.00	5.00
tritikále	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	8.25	6.50	9.25
inokulum	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
voda	74.96	74.96	74.96	74.96	74.96	74.96	74.96	74.96	74.96

1.12.1 Vliv počáteční teploty na průběh fermentace

Ve druhé části práci při vyhodnocení vlivu teploty na fermentaci byly realizovány dva fermentační procesy s identickým složením suchých krmných složek, které se odlišovaly pouze v počáteční teplotě přidané vody. V každé kádince bylo opět 25 g směsi a 75 mililitrů vody. Pracovali jsme s teplotou 45 °C a 15 °C, pro každou teplotu byly v jedné fermentaci 2 vzorky. Za obě fermentace byly vytvořeny tedy 2 vzorky ke každé teplotě a danému místu fermentace (dohromady 8). Do jednoho vzorku z daného místa bylo vždy přidáno 0,05g inokula, druhý vzorek byl bez inokula. Vzorky byly připraveny stejně jako v předchozím pokusu.

Tabulka 2. Procentuální složení jednotlivých fermentačních směsí.

Komponenty (%)	směs 10 vysoká a nízká teplota
pšenice	0.00
ječmen	2.25
sójový extrahovaný šrot	1.75
řepkový extrahovaný šrot	2.50
hrách	1.50
otruby	5.00
tritikále	10.00
inokulum	0.05
voda	74.96

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu SAS 9.4. V tabulkách jsou uvedeny průměry (prům) a směrodatné odchylky (s). Rozdíly mezi skupinami byly považovány za statisticky významné při hodnotě $p < 0.05$. V analýze rozptylu byl vyhodnocen vliv místa

fermentace, přídavku inokula a složení fermentu. Ve druhé části práce byly vyhodnoceny teplotní podmínky při založení fermentu.

Výsledky

Všechny fermentace proběhly úspěšně a došlo vždy k poklesu pH pod 4,5.

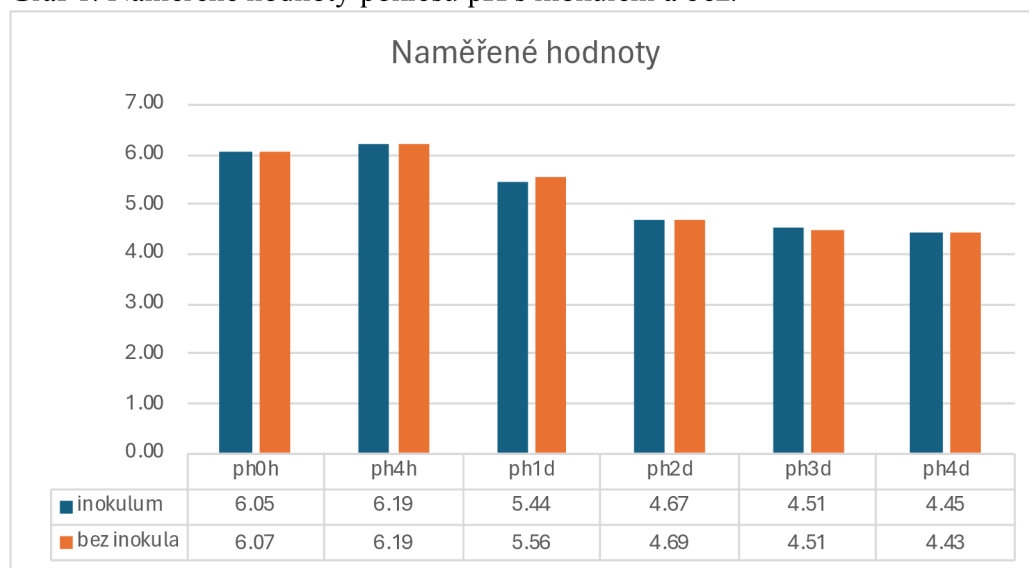
1.13 Vliv inokula na průběh fermentace

Jak je viditelné v tabulce 3 a grafu 1 ve vzorcích, které obsahovaly inokulum došlo k o něco rychlejšímu poklesu pH. Kdy po 48 hodinách došlo k poklesu pH na 4,66. U vzorků bez inokula došlo také po 48 hodinách k poklesu pH na hodnoty 4,69. Pravděpodobně díky vzniku spontánní samovolné fermentace.

Tabulka.3 Pokles pH v závislosti na obsahu inokula.

ph	inokulum		bez inokula		významnost p-hodnota
	prům.	s	prům.	s	
ph0h	6.05	0.08	6.07	0.08	0.29
ph4h	6.19	0.07	6.19	0.07	0.98
ph1d	5.44	0.74	5.56	0.76	0.41
ph2d	4.67	0.85	4.69	0.87	0.88
ph3d	4.51	0.90	4.51	0.91	0.98
ph4d	4.45	0.85	4.43	0.84	0.90

Graf 1. Naměřené hodnoty poklesu pH s inokulem a bez.



1.14 Vliv prostředí na pokles pH

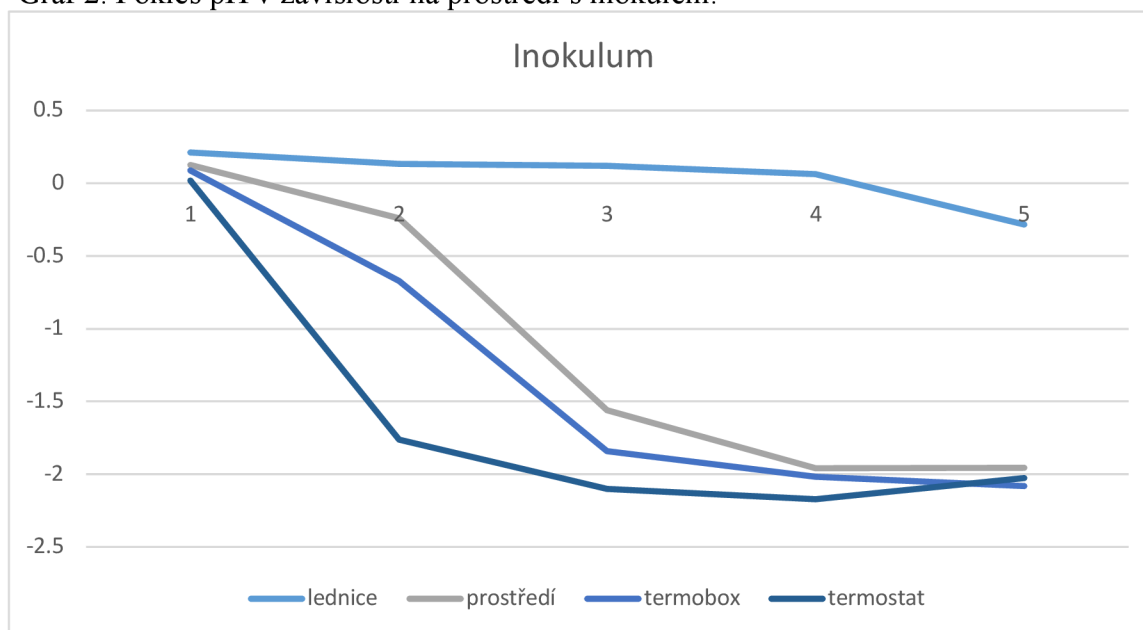
Bylo prokázáno, že prostředí má vliv na pokles pH. U všech vzorků, kromě uložených v lednici došlo již během 24 hodin k fermentaci, což bylo ověřeno poklesem pH.

U vzorků, které se nacházely v termostatu došlo po 24 hodinách k poklesu až pod pH 4,5. Naopak u vzorků, které byly uchovány v lednici probíhala fermentace mnohonásobně pomaleji a pokles pH byl minimální (tabulka 4 a graf 2).

Tabulka 4. Průběh fermentace v závislosti na prostředí s inokulem.

inokulum ano	Lednice		Prostředí		Termostat		Termobox		významnost
	prum	s	prum	s	prum	s	prum	s	p-hodnota
pH0	6.04	0.08	6.05	0.07	6.05	0.09	6.06	0.06	0.94
pH4	6.27	0.05	6.21	0.05	6.11	0.03	6.18	0.04	0.0004
pH1d	6.17	0.11	5.81	0.32	4.29	0.21	5.39	0.41	<.0001
ph2d	6.16	0.12	4.50	0.26	3.95	0.16	4.22	0.15	<.0001
pH3d	6.10	0.11	4.10	0.09	3.88	0.19	4.04	0.10	<.0001
ph4d	5.75	0.69	4.09	0.22	4.01	0.47	3.97	0.08	<.0001

Graf 2. Pokles pH v závislosti na prostředí s inokulem.

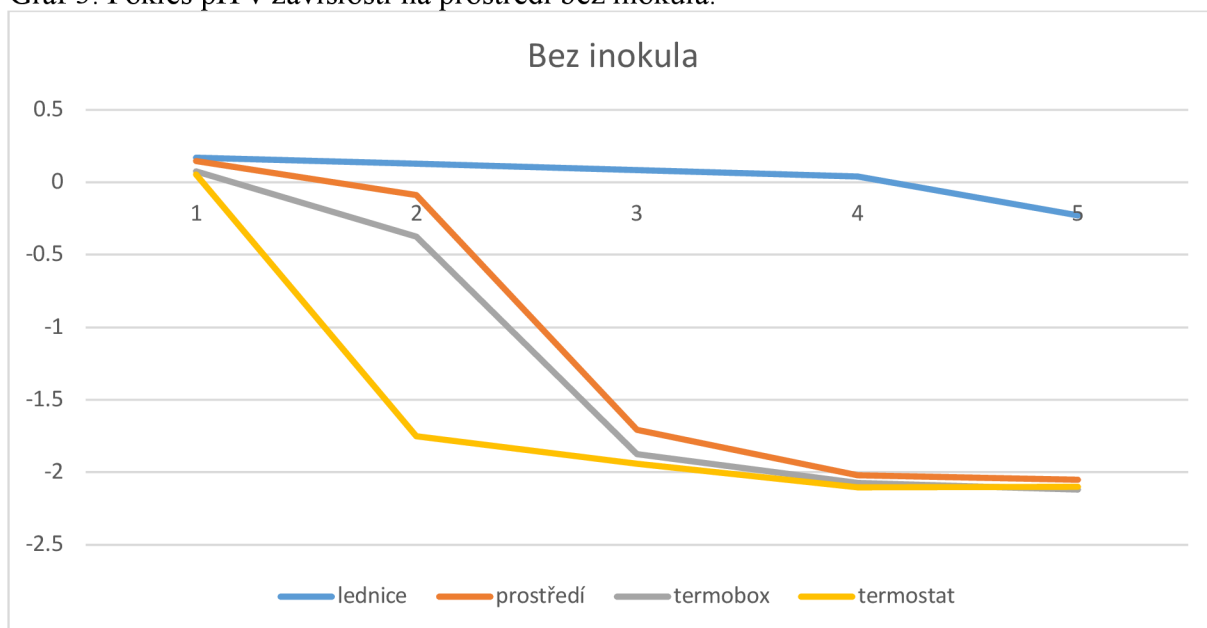


U vzorků, do kterých nebylo přidáváno inokulum došlo k samovolné fermentaci a ke konci týdne i u nich došlo k poklesu pH pod 4,5. I v tomto případě u vzorků uchovávaných v lednici byl vidět pouze nepatrný pokles pH, ne však pod hodnotu 4,5 (tabulka 5 a graf 3).

Tabulka 5. Průběh fermentace v závislosti na prostředí bez inokula.

inokulum ne	lednice		prostředí		termostat		termobox		významnost
	prum	s	prum	s	prum	s	prum	s	p-hodnota
pH0	6.05	0.08	6.07	0.06	6.06	0.09	6.08	0.08	0.79
pH4	6.24	0.04	6.22	0.05	6.12	0.06	6.18	0.07	0.023
pH1d	6.18	0.10	5.99	0.10	4.31	0.11	5.71	0.34	<.0001
ph2d	6.14	0.10	4.37	0.27	4.12	0.39	4.21	0.23	<.0001
pH3d	6.09	0.13	4.05	0.10	3.95	0.13	4.01	0.09	<.0001
ph4d	5.82	0.49	4.02	0.09	3.96	0.13	3.95	0.08	<.0001

Graf 3. Pokles pH v závislosti na prostředí bez inokula.

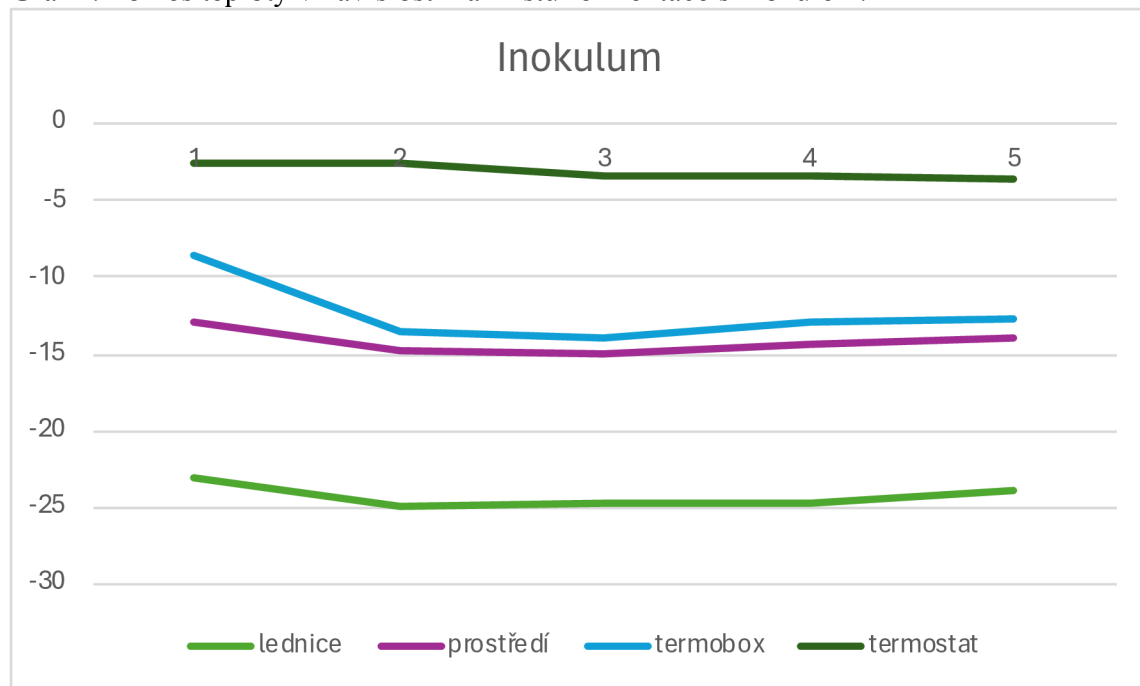


U fermentů, které byly skladovány v termostatu došlo k minimálnímu poklesu teploty, naopak v prostředí došlo k výraznějšímu poklesu teploty, ale vlivem fermentace nedošlo až tak k výraznému (tabulka 5 a graf 3).

Tabulka 6. Průběh poklesu teploty v závislosti na místě fermentace s inokulem.

inokulum ano	Lednice		Prostředí		Termobox		Termostat	
	prum	s	prum	s	prum	s	prum	s
t0h	35.19	7.55	35.63	6.54	35.15	5.71	34.83	7.83
t4h	12.84	0.35	23.08	0.28	25.84	1.07	32.66	0.72
t1d	10.25	1.32	20.88	1.17	21.53	1.23	32.18	0.81
t2d	10.43	1.34	20.59	1.50	21.25	1.63	31.47	1.03
t3d	10.53	1.12	21.25	1.12	22.30	2.88	30.88	3.24
t4d	11.08	1.55	21.55	1.10	21.82	1.17	30.39	1.32

Graf 4. Pokles teploty v závislosti na místu fermentace s inokulem.

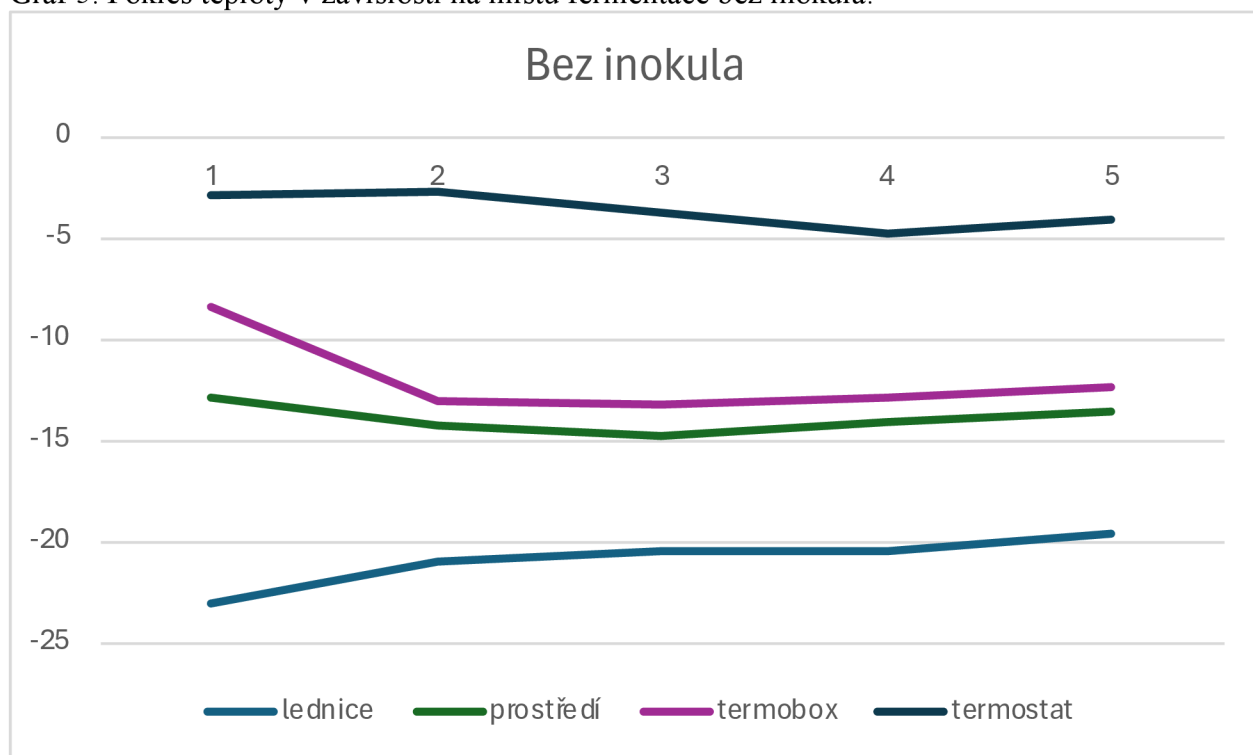


U vzorků bez přidání inokula je opět viditelné, že vznikla samovolná fermentace, kdy v prostředí došlo k většímu poklesu teploty oproti termostatu či termoboxu (tabulka 7 a graf 5).

Tabulka 7. Průběh poklesu teploty v závislosti na místu fermentace bez inokula.

inokulum ne	lednice		prostředí		termostat		termobox	
	prum	s	prum	s	prum	s	prum	s
t0h	34.05	7.66	35.28	7.81	34.55	7.38	34.91	7.97
t4h	12.64	0.29	23.04	0.31	25.64	1.02	32.38	0.47
t1d	10.22	1.35	21.01	1.21	21.60	1.29	32.28	0.73
t2d	10.72	1.36	20.64	1.59	21.31	1.78	31.28	1.17
t3d	10.77	0.76	21.30	1.05	21.72	1.20	30.12	3.67
t4d	11.10	1.70	21.54	1.16	22.04	1.23	30.42	1.11

Graf 5. Pokles teploty v závislosti na místě fermentace bez inokula.



1.15 Vliv zastoupení bílkovinného a sacharidového krmiva na rychlost fermentace

U vzorků, u kterých bylo zkoumáno, zdali má na pokles pH vliv poměr bílkovinného a sacharidového zastoupení krmných komponentů, nám vyšlo, že o trochu rychlejší pokles pH probíhal ve směsi, ve které bylo vyšší procentuální zastoupení bílkovinného krmiva, a to konkrétně v prostředí, termoboxu a termostatu (tabulka 9) oproti směsi, ve které bylo vyšší procentuální zastoupení sacharidového krmiva v lednici, kde však k výraznému poklesu pH nedošlo (tabulka 8, graf 6).

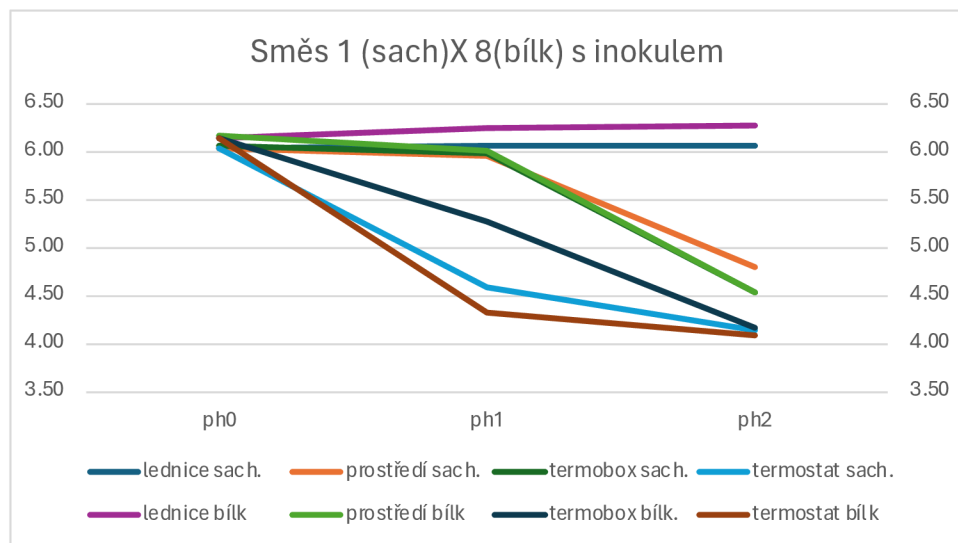
Tabulka 8. Směs s větším poměrem sacharidových ku bílkovinných krmiv, s inokulem.

Směs 1	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.02	6.03	6.06	6.03
ph1	6.06	5.96	5.97	4.59
ph2	6.06	4.79	4.54	4.13

Tabulka 9. Směs s větším poměrem zastoupení bílkovinných krmiv ku sacharidovým, s inokulem

směs 8	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.14	6.16	6.14	6.14
ph1d	6.25	6.00	5.26	4.33
ph2d	6.27	4.54	4.18	4.08

Graf 6. Porovnání poklesu pH u směsi s větším zastoupením sacharidového krmiva a směsi s vyšším zastoupením bílkovinného krmiva s inokulem.



Ve směsích, které se vyskytovali bez inokula, probíhal naopak rychlejší pokles pH u vzorků, které měly vyšší procentuální zastoupení sacharidových krmiv (tabulka 10) a to konkrétně v termoboxu a termostatu, v lednici a v prostředí proběhl rychlejší pokles fermentace u vzorků s větším zastoupení bílkovinných krmiv (tabulka 11, graf 7).

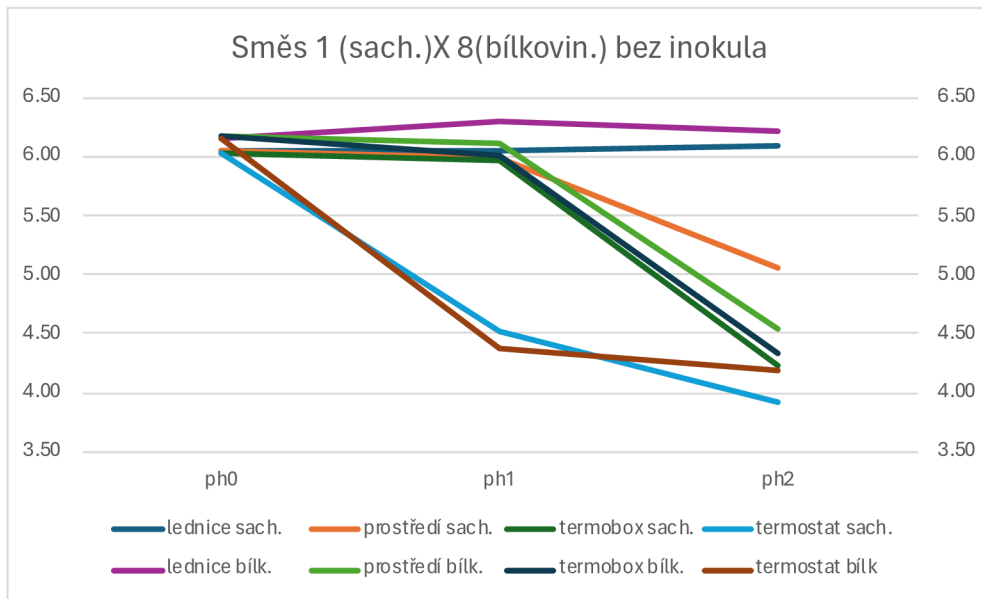
Tabulka 10. Směs s větším poměrem sacharidových ku bílkovinových krmiv, bez inokula.

Směs 1	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.05	6.05	6.03	6.04
ph1	6.05	6.00	5.97	4.52
ph2	6.09	5.06	4.23	3.91

Tabulka 11. Směs s větším poměrem zastoupení bílkovinných krmiv ku sacharidovým, bez inokula.

směs 8	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.15	6.17	6.18	6.15
ph1	6.30	6.11	6.01	4.38
ph2	6.22	4.55	4.33	4.18

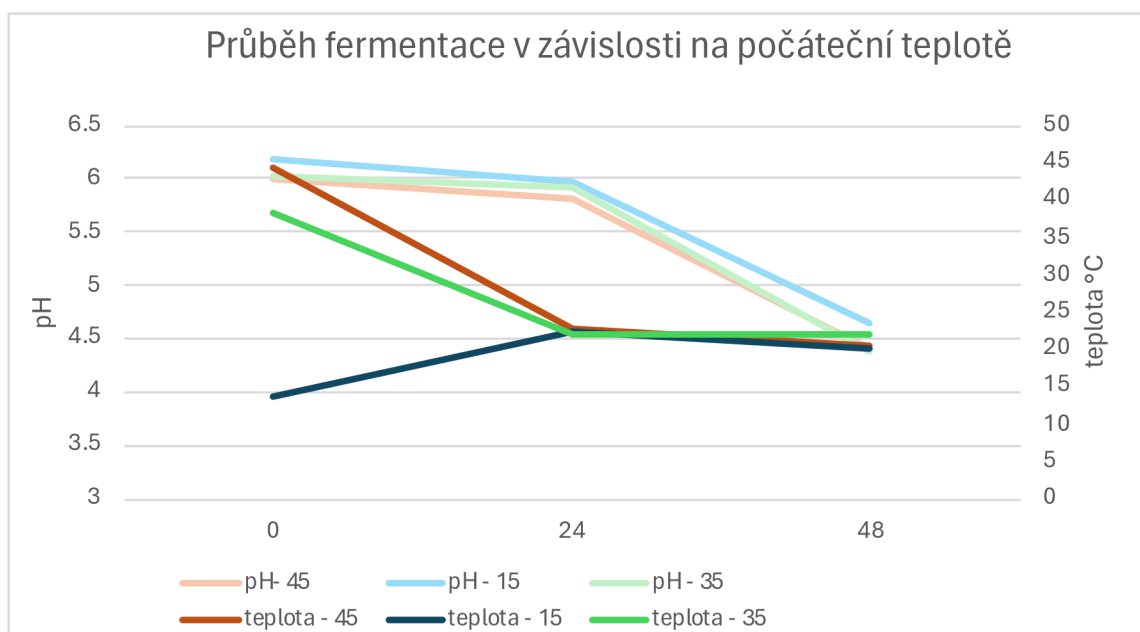
Graf 7. Porovnání poklesu pH u směsi s větším zastoupením sacharidového krmiva a směsi krmiva s vyšším zastoupením bílkovinného krmiva bez inokula.



1.16 Vliv počáteční teploty na pH

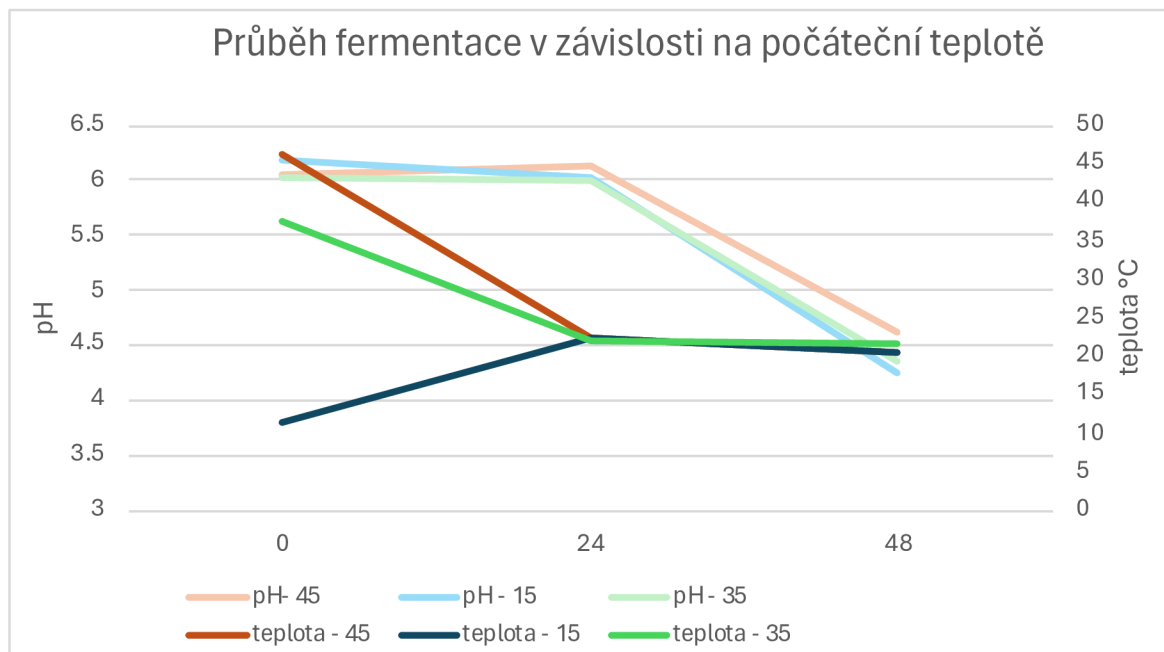
Pro stanovení vlivu počátečních podmínek fermentace byly připravené směsi inokulovány při nestandardních teplotách 45 a 15°C. U obou pokusných směsí došlo k poklesu pH pod 4,5 došlo již během 48 hodin, tudíž i k úspěšné fermentaci. Počáteční teplota tedy neměla vliv na průběh fermentace. Je viditelné, že ve vzorcích, ke kterým byla před začátkem fermentace přidána studená voda, probíhala fermentace o něco pomaleji oproti vzorkům s vyšší počáteční teplotou (Graf 8).

Graf 8. průběh fermentace v závislosti na počáteční teplotě (s inokulem).



Ve vzorcích, ke kterým nebylo přidáno inokulum, došlo ke spontánní fermentaci a pH po 48 hodinách také kleslo na 4,5 (Graf 9). Zde naopak došlo k rychlejšímu poklesu pH u vzorků, které byly na začátku zality studenou vodou.

Graf 9. průběh fermentace v závislosti na počáteční teplotě (bez inokula).



Diskuze

Van Winsen *et al.* (2001) uvádějí, že optimální pH fermentovaných tekutých krmiv je nižší než 4,5. Tohoto výsledku jsme dosáhli i u většiny vzorků pokusu, tudíž i k úspěšné fermentaci. Během 24 hodin došlo k poklesu pH pod 4,5 pouze v termostatu, který splňoval jako jediný podmínky vhodné pro fermentaci (konstantní teplota nad 30 °C) jak uvádí Beal *et al.* (2002). U těchto vzorků se nám také začala během pokusů okolo třetího až čtvrtého dne vyskytovat plíseň. Tento výskyt mohl být způsoben vnější kontaminací z prostředí, jelikož při měření pH byly vzorky vyndány z termostatu do prostředí laboratoře a po změření vráceny zpět. V termoboxu došlo také k poklesu pH pod 4,5, ale až po 48 hodinách, kdy krmivo v praxi už nezkrmujeme. Část tohoto krmiva by se mohla ponechat pro tzv. zpětné kvašení jako inokulum pro fermentaci na následující den, jak uvádějí Missotten *et al.* (2015). Takto vyrobené krmivo pak lze zkrmovat během několika hodin. Rizikem zpětného kvašení oproti využití originálního inokula může podle Brooks *et al.* (2008) být převaha, v rozvoji mikroflóry, kvasinek, a to může mít v závislosti na přítomných kmenech jak negativní, tak pozitivní vliv na nutriční hodnotu fermentu. I v termoboxu se u několika vzorků objevil výskyt plísní, pravděpodobně ze stejného důvodu, který je uveden výše.

Ještě o něco pomaleji probíhala fermentace v prostředí, bez teplené izolace vznikajícího fermentu, kde se teplota pohybovala okolo 21 °C. U těchto vzorků došlo k poklesu pH pod 4,5 až po 96 hodinách. U vzorků, které byly umístěny v lednici k poklesu pH téměř nedošlo. Z toho vyplývá že fermentace probíhá pouze za vyšších konstantních teplot, a to v rozmezí 18-37°C.

Podobný průběh fermentace probíhal i u vzorků, do kterých nebylo přidáno inokulum. U těchto vzorků došlo k samovolné fermentaci, o které hovořili např. Cullen *et al.* (2001). U těchto vzorků dochází při počátečním smíchání suchého krmiva s vodou k určitému stupni neúmyslné „spontánní“ fermentaci. O které Missotten *et al.* (2015) tvrdí, že není příliš vhodná, jelikož bývá nekontrolovatelná. Jejím výsledkem může být vyšší koncentraci kyseliny octové a biogenních aminů, které nepříznivě ovlivňují chutnost fermentovaných krmiv. Beal *et al.* (2003) však tvrdí, že tyto vlastnosti by se daly zlepšit přidáním kyseliny mléčné jako inokula, která by následně vedla k její vyšší produkci.

Pro posouzení celkové kvality vzorků by však bylo nutné provést další testy, jako například na stanovení koncentrace kyseliny mléčné, či analýza přítomnosti konkrétních mykotoxinů.

Podle Van Winsetna *et al.* (2001) je žádoucí koncentrace kyseliny mléčné vyšší než 150 mmol/litr. Beal *et al.* (2002) uvedli, že aby bylo zabráněno růstu *Salmonella spp.* je nezbytná minimální koncentrace bakterií mléčného kvašení 75 mmol/litr a minimálně 100 mmol/litr pro snížení enterobakterií jak uvedli společně s Brooks *et al.* (2003).

1.17 Vliv zastoupení bílkovinného a sacharidového krmiva na rychlost fermentace

Ve vzorcích s inokulem probíhala o něco rychlejší fermentace u té směsi, která obsahovala vyšší poměrové zastoupení bílkovinných krmiv, oproti sacharidovým, a to především u fermentů uložených v termostatu a termoboxu, kde fermentace proběhla úspěšně a pH kleslo pod 4,5. A dále také v prostředí, kde došlo k poklesu pH na hodnotu 4,54. U

fermentu, který byl uložen v lednici došlo k rychlejšímu poklesu pH u vzorku, který obsahoval větší poměrové zastoupení sacharidového krmiva.

Naopak u vzorků, které byly bez přidání inokula, došlo k rychlejšímu poklesu pH u směsi, která obsahovala vyšší procentuální zastoupení sacharidových komponentů. K tomuto poklesu došlo především v termostatu, kde pH kleslo až na 3,91 a také v termoboxu, kde došlo k poklesu pH na hodnotu 4,23. V lednici a termostatu došlo k rychlejšímu poklesu pH hodnot u směsí, které měly vyšší procentuální zastoupení bílkovinných krmiv.

K rychlejšímu poklesu pH u bílkovinných krmiv došlo pravděpodobně z důvodu toho, že ve směsi byla pšenice nahrazena otruby.

1.18 Vliv počáteční teploty

Missotten *et al.* (2015) uvádějí, že fermentace krmiv při teplotách nad 20 °C nepřináší žádné výhody oproti fermentaci při teplotě 20 °C. Naše vzorky však dokazují, že fermentace může probíhat jak při počáteční teplotě 15 °C tak při počáteční teplotě 45 °C. A to jak v prostoru, ve kterém je aktivně udržována teplota okolo 35 °C (termostat), tak v uvnitř termoboxu, kde je pouze pasivní izolace tepla (21 °C), anebo i v prostředí, které bylo bez izolace, a i zde došlo k poklesu pH na 4,6 po 48 hodinách.

Beal *et al.* (2002) však zdůrazňují, že nejvýhodnější teplota pro fermentaci je nad 30 °C, protože tato teplota umožňuje rychlejší redukci všech enteropatogenů díky rychlejší produkci kyseliny mléčné. Tyto podmínky v našem pokusu splňovaly pouze vzorky uložené v termostatu, ve kterých také docházelo k nerychlejšímu průběhu fermentace charakterizovaném rychlým poklesem pH pod 4,5.

Závěr

Vzhledem k potenciálu využití vedlejších produktů potravinářského průmyslu mají fermentovaná tekutá krmiva schopnost snížit náklady na chov zvířat. Ke snížení nákladů přispívá zvýšení užitkovosti prasat prostřednictvím krmení fermentovanými krmivem, protože pozitivně ovlivňují gastrointestinální trakt. Je důležité zajistit správné fermentační procesy, aby se prasatům nezpůsobilo více škody než užitku. Ke zmírnění negativních účinků kvašení je proto vhodné spíše řízené než spontánní kvašení.

V teoretické části jsou shrnuty různé způsoby fermentace společně s jejich výhodami a nevýhodami.

V praktické části je metodicky popsán proces fermentace, příprava vzorků a působení jednotlivých vlivů na daný ferment (teplota, místo uložení atd.). K poklesu pH pod 4,5 došlo ve většině fermentačních pokusech, což ukazuje na úspěšnou fermentaci. Jediné kdy k poklesu pH nedošlo bylo u vzorků uložených v lednici, kde došlo pouze k minimálnímu poklesu pH u všech vzorků zde uložených. Bylo prokázáno že vzorky spolehlivě fermentovali ať už v prostředí, kde byly bez tepelné izolace, tak i v termoboxu, kde byla pasivní izolace. Nejlépe však docházelo k fermentaci v termostatu, kde byla aktivně udržována teplota okolo 35 °C, zde docházelo k nejrychlejšímu poklesu pH pod 4,5.

U vzorků, které obsahovaly v poměru více sacharidových či bílkovinných komponent také docházelo k úspěšné fermentaci.

Vzorky, které byly zkoumány pro podmínky nestandardní počáteční teploty, také dosáhly úspěšné fermentace, až na vzorky uložené v lednici, u kterých došlo opět k minimálnímu poklesu pH. Pro potvrzení úspěšnosti a kvality fermentací jsou nezbytná další opakování a mikrobiální analýzy.

Literatura

- Alassane-Kpembi I, Puel O, Oswald IP. 2015. Toxicological interactions between the mycotoxins deoxynivalenol, nivalenol and their acetylated derivatives in intestinal epithelial cells. *Archives of toxicology* 89:1337-1346.
- Alassane-Kpembi, I, Schatzmayr G, Taranu I, Marin D, Puel O, Oswald IP. 2017. Mycotoxins co-contamination: Methodological aspects and biological relevance of combined toxicity studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57: 3489-3507.
- Awad WA, Aschenbach JR, Setyabudi FMCS, Razzazi-Fazeli E, Böhm J, Zentek J. 2007. In vitro effects of deoxynivalenol on small intestinal D-glucose uptake and absorption of deoxynivalenol across the isolated jejunal epithelium of laying hens. *Poultry science* 86: 15-20.
- Barber J.1992. *The rationalisation of drinking water supplies for pig housing* (Doctoral dissertation, University of Plymouth).
- Barnett CW, Batterham ES. 1981. Lupinus angustifolius cv. Unicrop as a protein – and energy-source for weaner pigs. *Animal Feed Science and Technology* 6: 27-34.
- Beal JD, Brooks PH, Kudl AC, Niba AT. 2009. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. *African Journal of Biotechnology* 8: 1758-1767.
- Beal JD, Niven SJ, Campbell A, Brooks PH. 2003. *The effect of copper on the death rate of Salmonella typhimurium DT104: 30 in food substrates acidified with organic acids*. *Letters in Applied Microbiology* 38: 8–12.
- Beal JD, Niven SJ, Campbell A, Brooks PH. 2002. *The effect of temperature on the growth and persistence of Salmonella in fermented liquid pig feed*. *International Journal of Food Microbiology* 79: 99–104.
- Beal JD, Niven SJ, Brooks PH, Gill B., 2005. *Variation in short chain fatty acid and ethanol concentration resulting from the natural fermentation of wheat and barley for inclusion in liquid diets for pigs*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 433–440.
- Bird AR, Conlon MA, Christophersen CT, Topping DL. 2010. Resistant starch, large bowel fermentation and a broader perspective of prebiotics and probiotics. *Benef Microbes* 1:423–431.
- Brooks PH, Moran CA, Beal JD, Demečková JD, Campbell A. 2001. Liquid feeding for the young piglet. The weaner pig: nutrition and management. *Proceedings of a British Society of Animal Science Occasional Meeting*, University of Nottingham, UK.
- Brooks PH, Beal J, Niven S, Demeckova V. 2003 *Liquid feeding of pigs 2. Potential for improving pig health and food safety*. *Animal Science Papers and Reports*. Presented at the

Conference: Effect of Genetic and Non-genetic Factors on Carcass and Meat Quality of Pigs **21**: 23-39.

Brooks, P. H. 2008. Fermented liquid feed for pigs. *CABI Reviews*, 1-18.

Brož V, Kic P. 1996. Technika v dochovu a výkrmu prasat. V Praze: Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství České republiky. ISBN 978-80-7105-107-7.

Buragohain R, Bibeka N S, Arup KS, Bhuyan R, Dowarah R, Roychaudhury R, Bora A. 2019. Dry Vs. Liquid Feeding: Growth Performance, Nutrient Digestibility and Economics in Large White Yorkshire (LWY) Grower-Finisher Pigs. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* **8**: 2019-2025.

Canibe N, Jensen BB. 2012. *Fermented liquid feed – microbial and nutritional aspects and impact on enteric diseases in pigs*. *Animal Feed Science and Technology* **173**: 17–40.

Canibe N, Jensen BB. 2003. *Fermented and nonfermented liquid feed to growing pigs: Effect on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance*. *Journal of Animal Science*. **81**: 2019–2031.

Canibe N, Højberg O, Badsberg JH, Jensen BB. 2007. *Effect of feeding fermented liquid feed and fermented grain on gastrointestinal ecology and growth performance in piglets*. *Journal of Animal Science*. **85**: 2959–2971.

Choct M, Selby EAD, Cadogan DJ, Campbell RG. 2004. Effect of liquid feed ratio, steeping time, and enzyme supplementation on the performance of weaner pigs. *Australian Journal of Agricultural Research* **55**: 247-252.

Chaytor AC, See MT, Hansen JA, De Souza ALP, Middleton TF, Kim SW. 2011. Effects of chronic exposure of diets with reduced concentrations of aflatoxin and deoxynivalenol on growth and immune status of pigs. *Journal of animal science* **89**:124-135.

Cullen JT, Lawlor PG, Cormican P, Gardiner GE. 2021. *Microbial Quality of Liquid Feed for Pigs and Its Impact on the Porcine Gut Microbiome*. *Animals* **11**:(2983) doi.org/10.3390/ani11102983.

Dersjant-Li Y, Verstegen MW, Gerrits WJ. 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. *Nutrition research reviews* **16**: 223-239.

Dierick NA, Vervaeke IJ, Decuypere JA, Henderickx HK. 1986. Influence of the gut flora and of some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. I. Studies in vitro. *Livestock Production Science* **14**: 161-176.

Donovan BC, MCNiven MA, Van Lunen TA, Anderson DM, Macleodo JA. 1993. Replacement of soyabean meal with dehydrated lupin seeds in pig diets. *Animal Feed Science and Technology*. **43**: 77-85.

Erickson JP, Miller ER, Elliot FC, Ku PK, Ullrey DE. 1979. Nutritional evaluation of triticale in swine starter and grower diets. *J. Anim. Sci.* **48**: 547--573.

Egounlety M, Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *Journal of food engineering* **56**: 249-254.

Fioramonti J, Dupuy C, Dupuy J, Bueno L. 1993. The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **266**: 1255-1260.

Fuka V. 2017. Fermentace krmiv v praxi. Úspěch ve stáji – aktuálně. *Schumann* **10**: 1-2.

Gilbert ER, Wong EA, Webb Jr, KE. 2008. Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of animal science*, **86**: 2135-2155.

Glenn AE. 2007. Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Animal feed science and technology* **137**: 213-240.

Dorninger GC, Jenkins T, Schatzmayr G. 2019. Global mycotoxin occurrence in feed: A ten-year survey. *Toxins* **11**: 375.

Hájek J. 1992. Prasata v drobném chovu a na farmách. Jilové u Prahy: Apros. ISBN isbn80-901-1002-9.

Hammes WP, Vogel RF. 1995. The genus *Lactobacillus*. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 19-54). Boston, MA: Springer US.

Hansen ID, Mortenson B. 1989. Pipe-cleaners beware. *Pig Int.* **19**: 8–10.

Harrold RL, Dinnssen LE, Haugse CN, Buchannan ML. 1971. Triticale as a feed for growing-finishing swine. *ND Farm Res.* **28**: 34-35.

Holanda D M, Yiannikouris A, Kim SW. 2020. Investigation of the efficacy of a postbiotic yeast cell wall-based blend on newly-weaned pigs under a dietary challenge of multiple mycotoxins with emphasis on deoxynivalenol. *Toxins* **12**: 504.

Holanda DM, Kim SW. 2021. Mycotoxin occurrence, toxicity, and detoxifying agents in pig production with an emphasis on deoxynivalenol. *Toxins*, **13**: 171.

Houba M, Hochman M, Hosnedl V. 2009. Luskoviny: pěstování a užití. České Budějovice: Kurent, 2009. ISBN 978-80-8711-119-2.

Hulse JH, Laing EM. 1974. Nutritive Value of Triticale Protein. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.

- Chiang G, Lu WQ, Piao XS, Hu JK, Gong LM, Thacker PA. 2010. Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **23**: 263-271.
- Jensen BB, Mikkelsen LL. 1998. Feeding liquid diets to pigs. In: Garnsworthy PC, Wiseman J, editors. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham, UK: Nottingham University Press; p. 107–26.
- Jirout J. (2020). Výživa a krmení prasat ve výkrmu.
- Jørgensen H, Sholly D, Peddersen AØ, Canibe N, Knudsen KEB. 2010. Fermentation of cereals — Influence on digestibility of nutrients in growing pigs. *Livestock Science* **134**: 56-58.
- Katalog krmiv. 2007. Katalog krmiv. Mendelova univerzita v Brně. Available from www.web2.mendelu.cz (accessed March 2024).
- Kenny M, Smidt H, Mengheri E, Miller B. 2011. Probiotics—do they have a role in the pig industry *Animal*, **5**: 462-470.
- Kil DY, Stein HH. 2010. Management and feeding strategies to ameliorate the impact of removing antibiotic growth promoters from diets fed to weanling pigs. *Canadian Journal of Animal Science*. 90: 447-460.
- Kjeldsen N. 1993. Practical experience with production and slaughter of entire male pigs.
- Kodeš A, Mudřík Z, Hučko B, Kacerovská L. 2001. *Základy moderní výživy prasat*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha
- Křížová, L. 2018. Encyklopedie krmiv [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Available from <https://encyklopedie-krmiv.webnode.cz> (accessed March 2024).
- Lallès JP, Bosi P, Smidt H, Stokes CR. 2007. Weaning—A challenge to gut physiologists. *Livestock Science* **108**: 82-93.
- Lei M, Zhang N, Qi D. 2013. In vitro investigation of individual and combined cytotoxic effects of aflatoxin B1 and other selected mycotoxins on the cell line porcine kidney 15. *Experimental and toxicologic pathology*, **65**: 1149-1157.
- Lawson DEM, Fraser DR, Kodíček E, Morris HR, Williams DH. 1971. Identification of 1, 25-dihydroxycholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature*, **230**.
- Lyberg K, Lundh T, Pedersen C, Lindberg JE. 2006. Influence of soaking, fermentation and phytase supplementation on nutrient digestibility in pigs offered a grower diet based on wheat and barley. *Animal Science*, **82**: 853-858.
- Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S. 2008. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *Journal of applied microbiology*, **104**: 305-344

- Maghsood F, Mirshafiey A, Farahani MM, Modarressi MH, Jafari P, Motevaseli E. 2018. Dual effects of cell free supernatants from *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus* GG in regulation of MMP-9 by up-regulating TIMP-1 and down-regulating CD147 in PMA-differentiated THP-1 cells. *Cell Journal (Yakhteh)*, **19**: 559.
- Maré L. 2009. The use of prebiotics and probiotics in pigs. In: SAPPO [online]. [cit. 2013-11-05]. Available <http://www.sapork.biz/the-use-of-prebiotics-and-probiotics-a-review/> (accessed March 2024)
- Marin DE, Taranu I, Bunaciu RP, Pascale F, Tudor DS, Avram N, Oswald IP. 2002. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. *Journal of animal science*, **80**: 1250-1257.
- Marvan F. 2017. Morfologie hospodářských zvířat, Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha.
- Mehrzaad J, Devriendt B, Baert K, Cox E. 2014. Aflatoxin B1 interferes with the antigen-presenting capacity of porcine dendritic cells. *Toxicology in vitro*, **28**: 531-537.
- Missoten JAM, Michiels J, Degroote J, De Smet S. 2015. Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **6**: 1-9.
- Missoten JAM, Michiels J, Owyn A, De Smet S, Dierick N A. 2010. Fermented liquid feed for pigs. *Archives of Animal Nutrition*. **64**: 447-460.
- Moran CA, Scholten RHJ, Tricarico JM, Brooks PH, Verstegen MWA. 2006. *Fermentation of wheat: Effects of backslopping different proportions of pre-fermented wheat on the microbial and chemical composition*. *Archives of Animal Nutrition*. **60**: 158–169.
- Mosse J, Huet JC, Baudet J. 1988. The amino acid composition of triticale grain as a function of nitrogen content: comparison with wheat and rye. *Journal of Cereal Science* **7**: 49-60.
- Mul AJ, Perry FG. 2001. The role of fructo-oligosaccharides in animal nutrition. In *Recent Advances in Animal Nutrition*. Edited by: Garnsworthy PC, Cole DJA. Nottingham, UK: Nottingham University Press **3**: 54–79.
- Niven SJ, Beal JD, Brooks PH. 2006. The effect of controlled fermentation on the fate of synthetic lysine in liquid diets for pigs. *Anim Feed Sci Technol* **129**:304–15
- Nout MJR, Rombouts FM, Havelaar A. 1989. Effects of accelerated natural lactic fermentation of infant food ingredients on some pathogenic microorganisms. *Int J Food Microbiol* **8**:351–361.
- Osweiler GD, Ross PF, Wilson TM, Nelson PE, Witte ST, Carson TL, Nelson HA. 1992. Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **4**: 53-59.

- Patriarca A, Pinto VF. 2017. Prevalence of mycotoxins in foods and decontamination. *Current Opinion in Food Science* **14**: 50-60.
- Patience JF, Myers AJ, Ensley S, Jacobs BM, Madson D. 2014. Evaluation of two mycotoxin mitigation strategies in grow-finish swine diets containing corn dried distillers grains with solubles naturally contaminated with deoxynivalenol. *Journal of Animal Science* **92**: 620-626.
- Plumed-Ferrer C, Von Wright A. 2009. *Fermented pig liquid feed: nutritional, safety and regulatory aspects*. Journal of Applied Microbiology **106**: 351–368.
- Plumed-Ferrer C, Kivela I, Hyvonen P, Von Wright A. 2005 *Survival, growth and persistence under farm conditions of a Lactobacillus plantarum strain inoculated into liquid pig feed*. Journal of Applied Microbiology **99**: 851–858
- Pluske J.R, Turpin DL, Kim J. 2018. *Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig*. Animal nutrition **4**: 187-196.
- Prokop V a kolektiv. 1991. Krmivářský konzulent. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR. ISBN 80-7084-037-4.
- Pulkrábek J. 2005. Chov prasat. Praha: Profi Press. ISBN 80-86726-11-8.
- Raisuddin S, Singh KP, Zaidi SIA, Paul BN Ray PK. 1993. Immunosuppressive effects of aflatoxin in growing rats. *Mycopathologia* **124**: 189-194.
- Roselli M, Pieper R, Rogel-Gaillard C, de Vries H, Bailey M, Smidt H, Lauridsen C. 2017. Immunomodulating effects of probiotics for microbiota modulation, gut health and disease resistance in pigs. *Animal Feed Science and Technology* **233**: 104-119.
- Russell PJ, Geary TM, Brooks PH, Campbell A. 1996. Performance, water use and effluent output of weaner pigs fed ad libitum with either dry pellets or liquid feed and the role of microbial activity in the liquid feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **72**: 8-16.
- Salovaara H. 2004. Lactic acid bacteria in cereal-based products. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* **3**: 431-452.
- Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A. 2017. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Molecular nutrition & food research*, **61**: 1600240.
- Shimelis EA, Rakshit SK. 2008. Influence of natural and controlled fermentations on α -galactosides, antinutrients and protein digestibility of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *International journal of food science & technology* **43**: 658-665.
- Schell TC, Lindemann MD, Kornegay ET, Blodgett DJ. 1993. Effects of feeding aflatoxin-contaminated diets with and without clay to weanling and growing pigs on performance, liver function, and mineral metabolism. *Journal of animal science* **7**: 1209-1218.

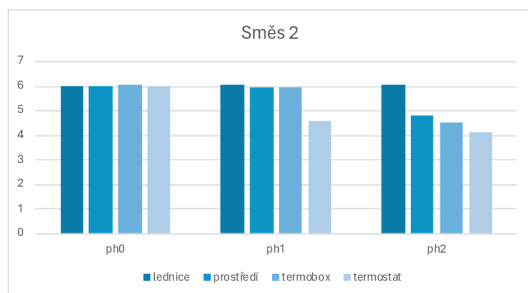
- Scholten RHJ, Van Der Peet-Schwering CMC, Den Hartog LA, Balk M, Verstegen MWA. 2002. Fermented wheat in liquid diets. *Journal of Animal Science* 80: 1179-1186.
- Sláma P, Pavlík A, Tančín V. 2015. Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat.
- Stein HH, Roth JA, Sotak KM, Rojas OJ. 2013. Nutritional value of soy products fed to pigs. *Swine Focus*, 4.
- Stothers SC, Shebeski LH. 1975. The nutritive value of triticale for growing swine. *J. Anim. Sci.*, 24: 905.
- Stupka R, Šprysl M, Čítek J. 2013. Základy chovu prasat. Powerprint. Praha.
- Stupka R, Šprysl M, Čítek J. 2009. Základy chovu prasat. Powerprint. Praha.
- Streit E, Schwab C, Sulyok M, Naehrer K, Krska R, Schatzmayr G. 2013. Multi-mycotoxin screening reveals the occurrence of 139 different secondary metabolites in feed and feed ingredients. *Toxins* 5: 504-523.
- Tielen M, van Schie F, van der Wolf P, Elbers A. 1997. Risk factors and control measures for subclinical salmonella infection in pig herds.
- Van Winsen RL, Urlings BAP, Lipman LJA, Snijders JMA, Keuzenkamp D, Verheijden JHM. 2001. Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 3071-3076.
- Villegas E, McDonald CE, Gillies ICA. 1970. Variability in the lysine content of wheat, rye and triticale proteins. *Cereal Chem* 47: 746-757.
- Vyskočil I. 2008. Kapesní katalog krmiv. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN 978-80-7375-218-7.
- Wang Ch, Shi Ch, Zhang Y, Song D, Lu Z, Wang Y. 2018. Microbiota in fermented feed and swine gut. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102.: 2941-2948.
- Wood BJ, Holzapfel WHN. 1992. *The genera of lactic acid bacteria* (Vol. 2). Springer Science & Business Media. Hansen ID, Mortensen B. 1989. Pipe-cleaners beware. *Pig Int* 19:8-10.
- Yu FL. 1977. Mechanism of aflatoxin B1 inhibition of rat hepatic nuclear RNA synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 252: 3245-3251.
- Yu, J. 2012. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins* 4: 1024-1057.
- Zimmermann C E P, Cruz IBM, Cadoná FC, Machado AK, Assmann C, Schlemmer KB, Santurio JM 2015. Cytoprotective and genoprotective effects of β -glucans against aflatoxin B1-induced DNA damage in broiler chicken lymphocytes. *Toxicology in Vitro* 29:538-543.

Samostatné přílohy

SMĚSI S INOKULEM

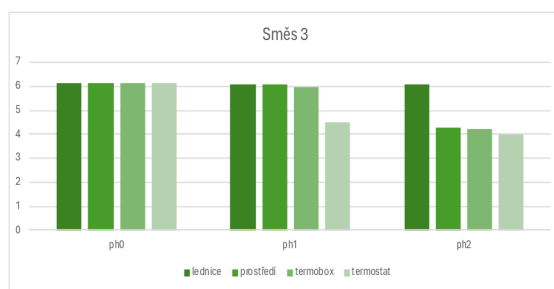
směs 2 lednice prostředí termobox termostat

	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.018	6.032	6.056	6.032
ph1	6.057	5.956	5.972	4.588
ph2	6.061	4.792	4.536	4.133



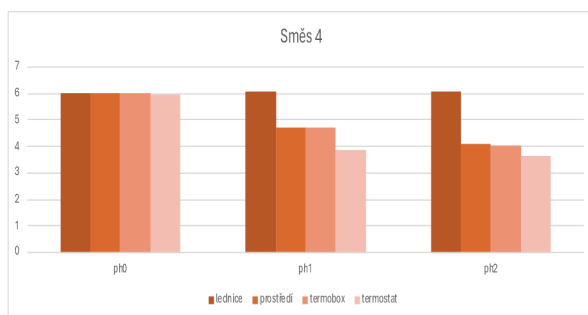
směs 3 lednice prostředí termobox termostat

	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.117	6.144	6.117	6.134
ph1	6.075	6.052	5.944	4.475
ph2	6.045	4.244	4.238	3.993



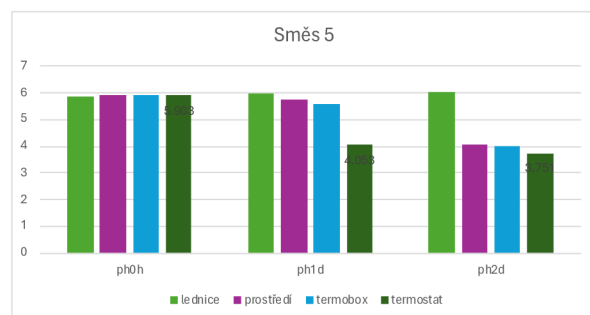
směs 4 lednice prostředí termobox termostat

	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.025	5.984	6.015	5.968
ph1	6.096	4.727	4.712	3.881
ph2	6.076	4.107	4.034	3.671

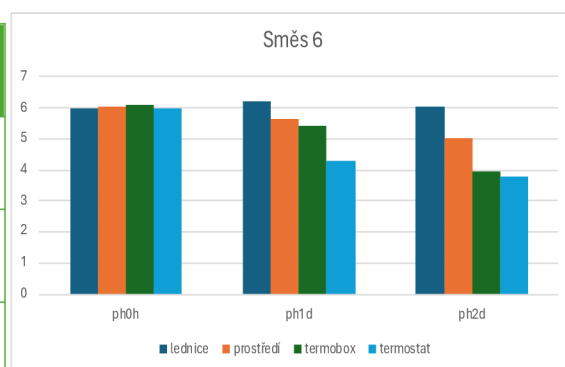


směs 5 lednice prostředí termobox termostat

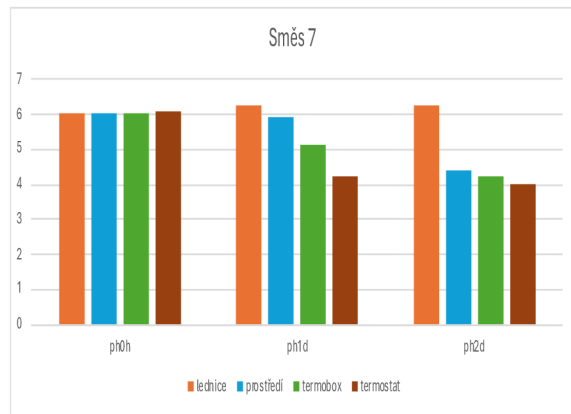
	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	5.89	5.903	5.934	5.903
ph1d	6.009	5.774	5.606	4.053
ph2d	6.043	4.065	4.003	3.751



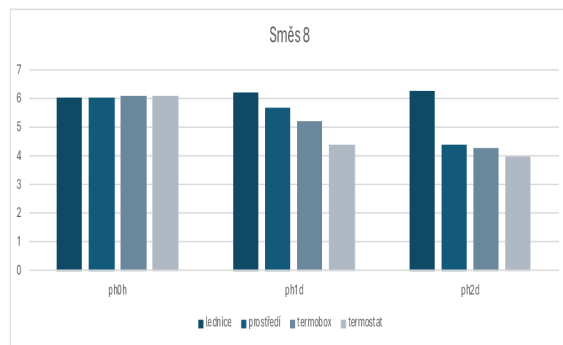
směs 6	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	5.965	6.06	6.093	5.975
ph1d	6.185	5.643	5.405	4.302
ph2d	6.025	4.996	3.967	3.774



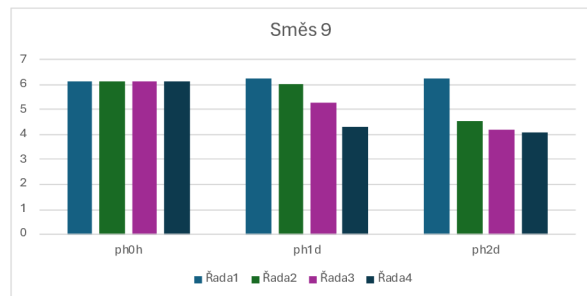
směs 7	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.066	6.037	6.067	6.12
ph1d	6.24	5.916	5.118	4.237
ph2d	6.254	4.381	4.243	4.01



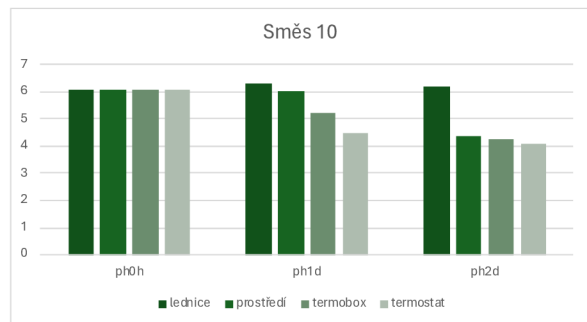
Směs 8	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.031	6.046	6.106	6.13
ph1d	6.22	5.725	5.233	4.401
ph2d	6.31	4.432	4.275	3.985



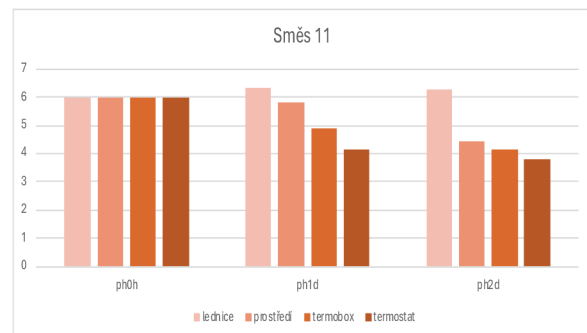
Směs 9	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.138	6.158	6.14	6.135
ph1d	6.248	5.995	5.264	4.327
ph2d	6.271	4.537	4.177	4.075



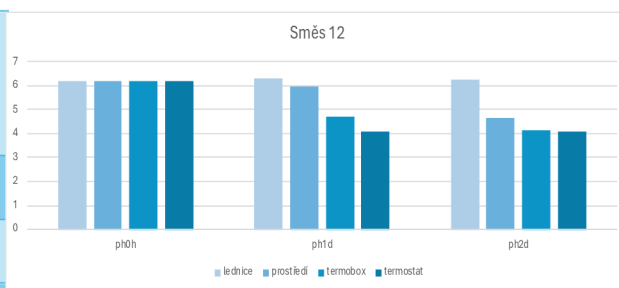
Směs 10	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.071	6.106	6.06	6.076
ph1d	6.307	6.039	5.241	4.453
ph2d	6.212	4.372	4.271	4.072



směs 11- VYSOKÁ TEPLOTA	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6	6.007	5.981	5.973
ph1d	6.317	5.824	4.92	4.158
ph2d	6.287	4.415	4.15	3.808

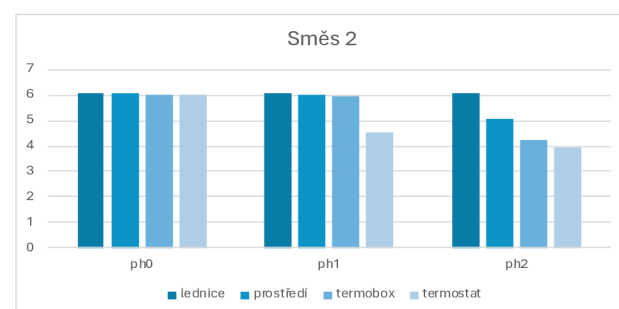


směs 12- NÍZKÁ TEPLOTA	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0h	6.192	6.186	6.178	6.192
ph1d	6.281	5.96	4.702	4.107
ph2d	6.271	4.642	4.153	4.081



SMĚSI BEZ INOKULA

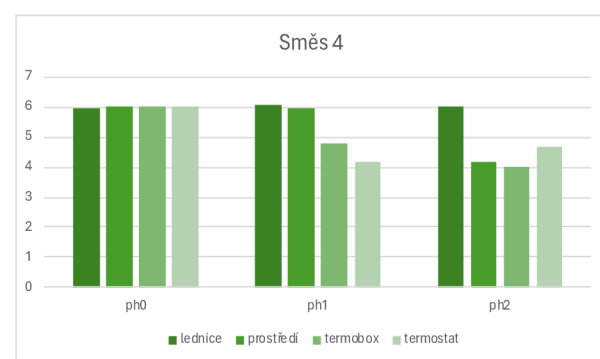
Směs2	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.051	6.045	6.032	6.038
ph1	6.05	5.997	5.966	4.523
ph2	6.09	5.062	4.233	3.913



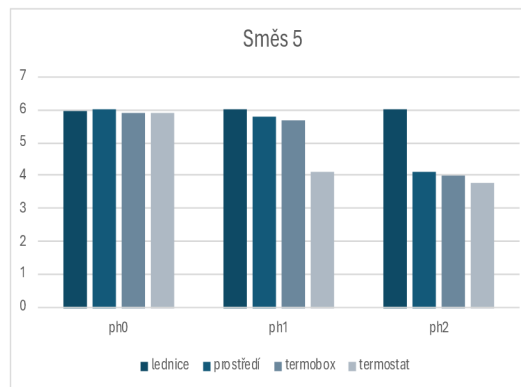
směs 3	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.133	6.131	6.19	6.142
ph1	6.095	6.051	6.018	4.299
ph2	6.058	4.468	4.328	4.058



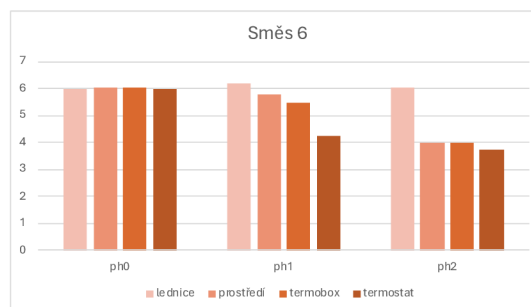
směs 4	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	5.964	6.046	6.002	6.004
ph1	6.082	5.973	4.767	4.195
ph2	6.017	4.192	4.027	4.69



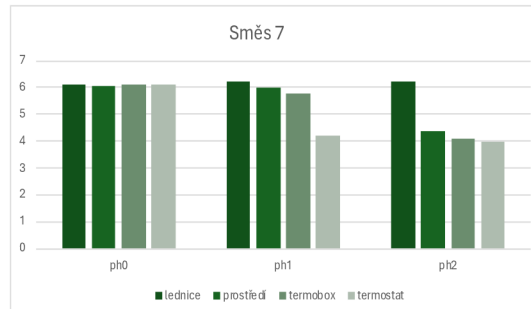
směs 5	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	5.948	5.99	5.916	5.903
ph1	6.03	5.802	5.676	4.124
ph2	6.031	4.094	3.991	3.777



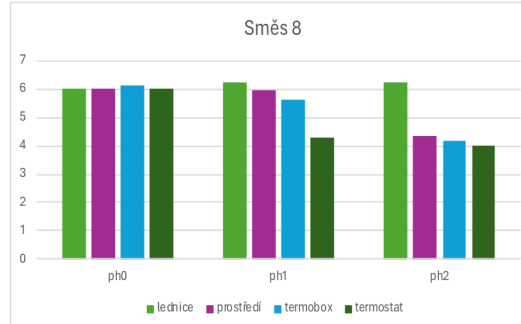
směs 6	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	5.998	6.022	6.03	5.987
ph1	6.167	5.794	5.473	4.219
ph2	6.042	4.012	3.963	3.734



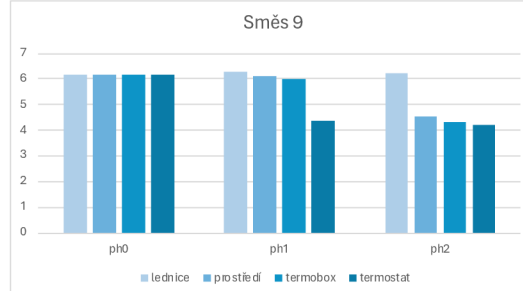
směs 7	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.088	6.036	6.101	6.12
ph1	6.232	6.006	5.771	4.237
ph2	6.23	4.365	4.117	4.01



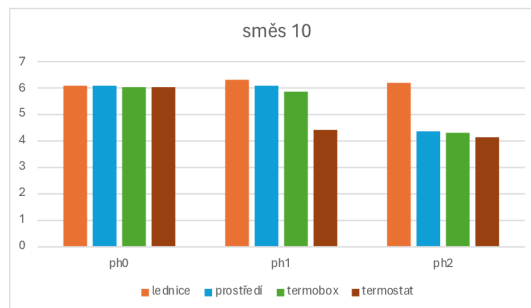
směs 8	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.036	6.031	6.138	6.039
ph1	6.23	5.978	5.627	4.275
ph2	6.229	4.324	4.152	4.016



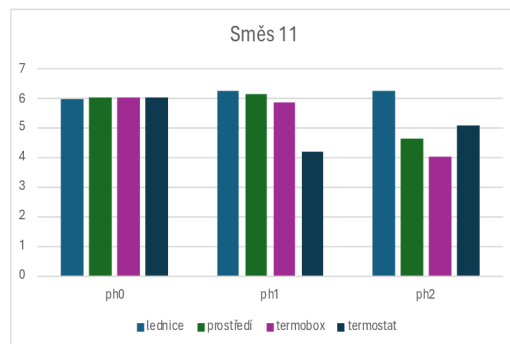
směs 9	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.152	6.17	6.175	6.152
ph1	6.296	6.114	6.014	4.377
ph2	6.221	4.55	4.325	4.178



směs 10	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.088	6.099	6.067	6.06
ph1	6.309	6.073	5.89	4.398
ph2	6.19	4.374	4.325	4.114



směs 11- v. teplo	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.006	6.049	6.061	6.016
ph1	6.281	6.133	5.886	4.202
ph2	6.283	4.62	4.03	5.099



směs 12- N. t	lednice	prostředí	termobox	termostat
ph0	6.192	6.19	6.19	6.243
ph1	6.301	6.017	5.426	4.363
ph2	6.243	4.254	4.136	3.978

