

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

Bc. Vladimír Šnajdr

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav výživy zvířat a pícninářství



Agronomická
fakulta

Mendelova
univerzita
v Brně



Selen ve výživě dojnic v ekologickém chovu
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Doc. Ing. Pavel Horký, Ph.D.

Vypracoval:
Bc. Vladimír Šnajdr

Brno 2017

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Selen ve výživě dojnic v ekologickém chovu** vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne:.....

.....
podpis

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce Doc. Ing. Pavlu Horkému, Ph.D. za odborné vedení, věcné připomínky a návrhy při zpracování mé diplomové práce. Dále bych rád poděkoval mé manželce Ludmile a synovi Erikovi za všestrannou podporu při studiu.

ABSTRAKT

Šnajdr Vladimír: Selen ve výživě dojnic v ekologickém chovu, Diplomová práce, MENDELU, Brno, 50 stran.

Selen je jedním z řady stopových prvků, který je nepostradatelný pro život všech živočišných druhů. Překročení denní dávky selenu ve výživě je pro organismus toxické. Avšak nedostatek selenu může vést k onemocněním, zejména u druhů s vysokou citlivostí k různým onemocněním.

Cílem diplomové práce bylo sledovat vliv dietního selenu na kvalitativní a kvantitativní parametry dojnic v ekologickém chovu. Vlastní pokus byl proveden na ekologické farmě dojného skotu.

Do experimentu bylo zařazeno 20 kusů dojnic holštýnského plemene rozdělených do dvou vyrovnaných skupin tak, aby se nacházely ve stejné fázi laktace. Všechny krávy byly krmeny základní krmnou dávkou ve formě TMR s přídatkem minerálního premixu Detamin GA Spezial určený pro ekologické chovy. Experimentální i kontrolní skupina dojnic přijímaly 20,5 kg sušiny krmiva/kus/den. Základní krmná dávka obsahovala 0,17 mg selenu/kg. Zvířata měla *ad-libitní* přístup k vodě. První skupině dojnic (n=10) byl do diety přidáván selen v dávce 0,3 mg/kg (jako selenomethionin). Druhá skupina krav (n=10) sloužila jako kontrolní bez přídatku selenu (kontrolní skupina zvířat přijímala selen pouze z nativních zdrojů).

Na konci pokusu bylo po aplikaci selenu do diety po 15 dnech u skupiny dojnic sledováno detekovatelné množství selenu, které bylo neměnné po celou dobu trvání pokusu. U pokusné skupiny se hladina selenu pohybovala od 15. do 45. dne v intervalu od 0,13 do 0,15 $\mu\text{g/ml}$. U kontrolní skupiny bylo množství selenu po celou délku trvání pokusu pod hranicí detekce. Množství somatických buněk bylo signifikantně sníženo u pokusné skupiny dojnic o 128 tis./ml ($P < 0,05$). Snížení počtu somatických buněk bylo rovněž sledováno i u kontrolní skupiny (o 49 tis./ml). Koncentrace močoviny byla průkazně snížena u pokusné i kontrolní skupiny o 14,3 mg/100 ml ($P < 0,05$) resp. o 13,7 mg/100 ml ($P < 0,05$). Přídavek selenu může zlepšit zdravotní stav zvířat a zajistit produkci tzv. „funkčních potravin“.

Klíčová slova: selen, organická forma selenu, antioxidanty, laktace

ABSTRACT

Šnajdr Vladimír: Selenium in the diet of dairy cows in organic farming, Final thesis, Mendelu Brno, 50 pages.

Selenium is one of a number of trace elements that are indispensable for the life of all species. Exceeding limits of the daily dose of selenium in the diet can cause toxicity of the organism. However, selenium deficiency can lead to diseases, particularly for species with high susceptibility to various kinds of diseases.

The aim of the thesis was to investigate the influence of dietary selenium on qualitative and quantitative parameters of dairy cows in organic farming.

The experiment itself was made on an organic dairy farm.

The experiment involved 20 pieces of Holstein breed cows. They were divided into two balanced groups being at same stage of lactation. All the cows were fed a basic ration in the form of TMR with the addition of mineral premix Detamin GA Spezial designed for organic farms. The experimental and control group of cows took of 20.5 kg dry matter of feed/head/day. The basal diet contained 0.17 mg selenium /kg. Animals had ad libitum access to water. Selenium was added to the diet at the dose of 0.3 mg/kg (as selenomethionine) in the first group of cows (n=10). The second group of cows (n=10) served as a control without addition of selenium (control group of animals received only selenium from native sources).

At the end of the experiment was after administration of selenium in the diet after 15 days in the group of cows examined detectable amount of selenium, which was constant throughout the duration of the experiment. The experimental group with selenium level ranged from 15 to 45 days in the interval from 0.13 to 0.15 mg/ml. In the control group, the amount of selenium throughout the entire duration of the experiment under the detection limit. The quantity of somatic cells was significantly reduced in the test group cows 128 thous./ml ($P < 0.05$). Reducing the number of somatic cells was also observed even in the control group (about 49 tis./ml). The urea concentration significantly decreased in the experimental and control groups of 14.3 mg/100 ml ($P < 0.05$) respectively about 13.7 mg/100 ml ($P < 0.05$). The addition of selenium can improve animal health and to ensure the production of so-called “functional foods.”

Keywords: selenium, an organic form of selenium, antioxidants, lactation

OBSAH:

ÚVOD	6
1 LITERÁRNÍ PŘEHLED	7
1.1 Počet dojnic v Evropské Unii	7
1.2 V České republice	7
1.3 Situace mléčných farem u nás a v Evropě	8
1.4 Význam selenu	11
1.4.1 Biologický význam selenu.....	11
1.4.2 Doporučené dávkování	11
1.4.3 Nedostatek selenu	12
1.5 Výskyt selenu v přírodě	13
1.6 Formy selenu	13
1.6.1 Půda	13
1.6.2 Voda.....	14
1.6.3 O vzduší	14
1.6.4 Obsah selenu v rostlinách	15
1.7 Toxicita a esencialita	16
1.7.1 Toxicita	16
1.7.2 Esencialita	18
1.8 Metabolismus selenu v organismu	19
1.9 Selen ve výživě hospodářských zvířat	21
1.10 Kyslíkaté volné radikály v organismu	23
1.11 Význam antioxidantů	24
1.12 Selen jako antioxidant	25
1.13 Složky mléka	26
1.14 Funkční potraviny	27
1.14.1 Rozdělení funkčních potravin	27
1.14.2 Přírodní zdroje selenu	28
1.15 Vliv selenu na zdravotní stav organismu	29
1.15.1 Deficit u zvířat.....	29
1.15.2 Deficit u člověka	30
2 CÍL PRÁCE	31
3 METODIKA	31

4	VÝSLEDKY.....	35
5	DISKUZE.....	37
6	ZÁVĚR.....	40
	POUŽITÁ LITERATURA:.....	41
	SEZNAM TABULEK	47
	SEZNAM GRAFŮ.....	48
	SEZNAM ZKRATEK.....	49
	SEZNAM OBRÁZKŮ	49

ÚVOD

Jedním z velmi důležitých stopových prvků pro organismus je Selen. Účinky Selenu zasahují do mnoha fyziologických i biochemických pochodů ve všech živých organismech.

Díky svým nezastupitelným vlastnostem se o tento stopový prvek zajímá stále více lidí a to nejen na vědecké úrovni. V posledních dvou dekádách znalosti o tomto prvku značně vzrostly a jsou dále podporovány výzkumy a to nejen po objevu nových selenoproteinů.

Všechny funkce těchto nových selenoproteinů nejsou objasněny, ale už nyní však můžeme říci, že selen je nepostradatelný prvek ať už z důvodu prevence v léčbě nádorových onemocnění, funkcí imunitního systému, kardiovaskulárních chorob, ale také pro onemocnění spojené s plodností. Experimenty provedené na zvířatech potvrzují teorii, že Selen je látkou, která je schopna eliminovat negativní působení toxických látek např. rtuť a kadmium.

Dále můžeme k ochranným funkcím selenu přiřadit i podíl na syntéze hormonů štítné žlázy, zejména ve formě peroxidáz jej můžeme považovat za jednu z nejaktivnějších složek antioxidační ochrany organismu.

Selen je v nízkých dávkách esenciální prvek, ale v dávce, která překročuje limitní hranici a ve vysokých dávkách je silně toxický.

Příjem závisí zejména na obsahu tohoto prvku v půdě dle místních podmínek a tím i koncentraci v rostlinných pletivech a živočišných tkáních. Jsou popsány velké rozdíly v množství toho prvku v půdě na geografických mapách a česká republika se řadí mezi oblasti s poměrně nízkým obsahem v půdě.

1 LITERÁRNÍ PŘEHLED

1.1 Počet dojnic v Evropské Unii

Pracovní skupina Beef Forecasting Working Group odhaduje, že stavy dojnic sedmi hlavních zemí EU poklesnou meziročně asi o 0,5 %, tedy o 83 tisíc. Produkce mléka možná nedosáhne množství, které se pro tento rok očekávalo.

Nicméně, v některých zemích pravděpodobně stavy dojnic vzrostou, a to v Nizozemsku a Irsku. Tam se očekává nárůst počtu krav o 25 a 70 tisíc kusů, a to navzdory zprávám, že nizozemští zemědělci by měli do konce roku 2016 porazit 60–100 tisíc krav souvislosti s omezením fosfátů v EU. Ve Velké Británii bude marginálně růst počet dojnic v souladu s očekáváním. Pokud bychom chtěli prodávat naše produkty v rámci EU, musí jejich kvalita odpovídat normám stanoveným EU.

V Německu klesnou stavy dojnic o 1,3 %, ve Francii o 1 %, v Polsku o 2,5 %. Stoupat budou ve Velké Británii o 0,3 %, Nizozemsku o 1,5 % a Irsku o 5,7 %.

(Anonym 1, 2016)

1.2 V České republice

V ČR klesl v první polovině roku počet dojnic na 368 tisíc kusů. Celkový počet dojnic klesl meziročně o 4 tisíce. Přes pokles počtu krav však roste dojivost.

Oproti minulému roku pokles dojnic v ČR počet o více než 4 tisíce a snížil se z 372 900 na 368 600 kusů. Přitom ještě před 6 lety dosahovaly počty dojnic více než 400 000 kusů. Přes tento pokles roste dojivost a v ČR se vyprodukuje o třetinu více mléka, než se spotřebuje.

Počet dojnic klesá ze dvou základních důvodů. Tím prvním je konec mléčných kvót. Kvótní systém EU byl ukončen k 1. dubnu 2015. Druhým důvodem poklesu počtu dojnic je ruské embargo na dovoz potravin. Někteří čeští mlékaři nedokáží bojovat s konkurencí a snižují své stavy dojnic.

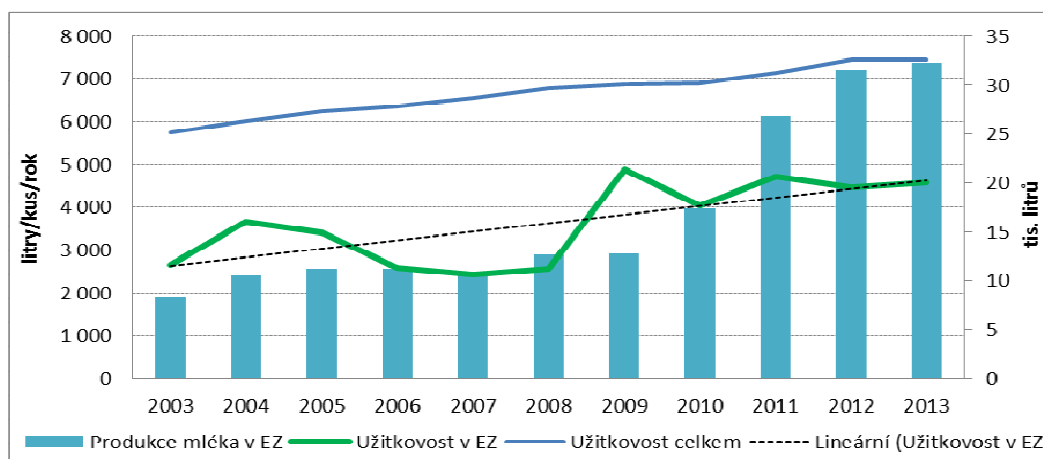
Zajímavým aspektem je, že přes snižující se počet dojnic, roste produkce mléka. Průměrná dojivost před 25 lety se pohybovala kolem 300 tis. litrů mléka, dnes je to číslo až třikrát vyšší a dosahuje hodnot kolem 800 tis. až 900 tis. litrů mléka. Za prvních 6 měsíců roku 2015 činila produkce mléka 1 486 mil. litrů. V první polovině roku 2009 to bylo o 98 mil. litrů méně i přesto, že počet dojnic byl skoro o 33 tis. vyšší.

(Anonym 2, 2016)

1.3 Situace mléčných farem u nás a v Evropě

Počet ekologicky chovaných dojníc se za posledních deset let zvýšil 2,5 krát. V roce 2008 bylo v České republice 33 ekofarem s chovem mléčných krav, na konci roku 2014 to bylo již 123 podniků. Počet bio dojníc se dnes pohybuje okolo 7 tisíc kusů. Jejich podíl představuje zhruba 2 % celkového stavu dojníc v ČR, což se blíží evropskému průměru (v EU je podíl ekologických dojníc zhruba 3 % z jejich celkového stavu). Produkce biomléka za deset let stoupla až trojnásobně na 32 mil. litrů, což odpovídá 1,2 % celkové produkce mléka v ČR. Za posledních deset let vzrostl také počet dojníc v EZ 2,5krát (v konvenci naopak počet dojníc za stejné období o 20 % klesl).

Růst produkce biomléka v ČR je dán jak rostoucím počtem ekofarem s chovem mléčného skotu, tak rostoucí užitkovostí dojníc v Ekologickém zemědělství dále jen (EZ), která kopíruje růst užitkovosti v konvenčních chovech (viz graf 1).

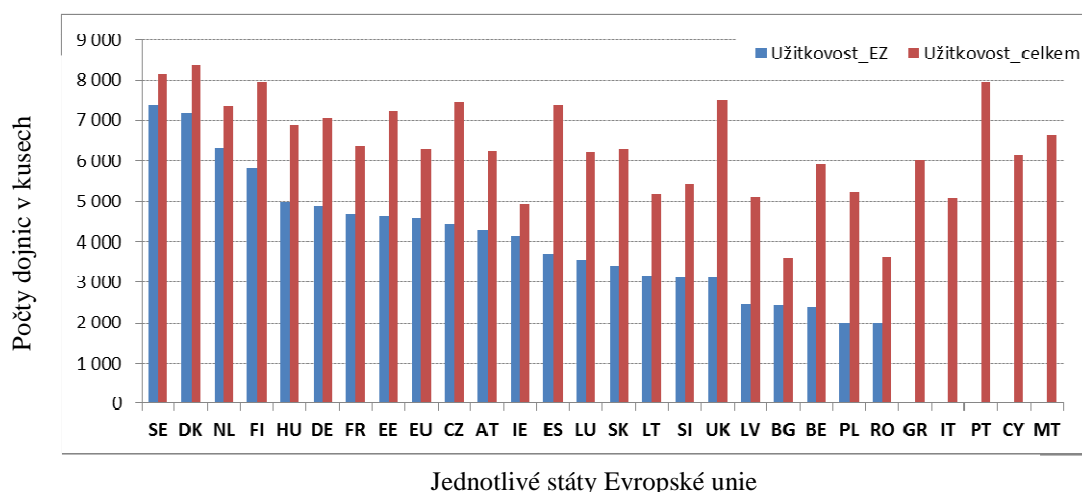


Graf 1: Vývoj produkce mléka v EZ a srovnání užitkovosti dojníc v EZ a celkem v ČR (2003-2013)

Zdroj: ÚZEI (pro stavy EZ), ČSÚ (pro stavy celkem)

Užitkovost českých bio dojníc je obdobná jako průměrná užitkovost bio dojníc v EU.

V posledních letech se užitkovost v EZ pohybuje v rozmezí 4 600 až 5 600 litrů na dojnici a rok, což představuje 65 % až 75 % užitkovosti v konvenci. To zhruba odpovídá podílu užitkovosti bio dojníc vůči konvenčním dojnícím i v EU (viz graf 2). Nižší užitkovost v EZ je způsobena především odlišnou strukturou krmiv.



Graf 2: Srovnání užítkovosti dojníc v EZ a Konvenční zemědělství v zemích Evropské unie (Rok 2012) Švédsko (SE), Dánsko (DK), Nizozemsko (NL), Finsko (FI), Maďarsko (HU), Německo (DE), Francie (FR), Estonsko (EE), Evropská unie (EU), Česká republika (CZ), Rakousko (AT), Irsko (IE), Španělsko (ES), Lucembursko (LU), Slovensko (SK), Litva (LT), Slovinsko (SI), Spojené království Velké Británie a Severního Irska (UK), Lotyšsko (LV), Bulharsko (BG), Belgie (BE), Polsko (PL), Rumunsko (RO), Řecko (GR), Itálie (IT), Portugalsko (PT), Kypr (CY), Malta (MT)

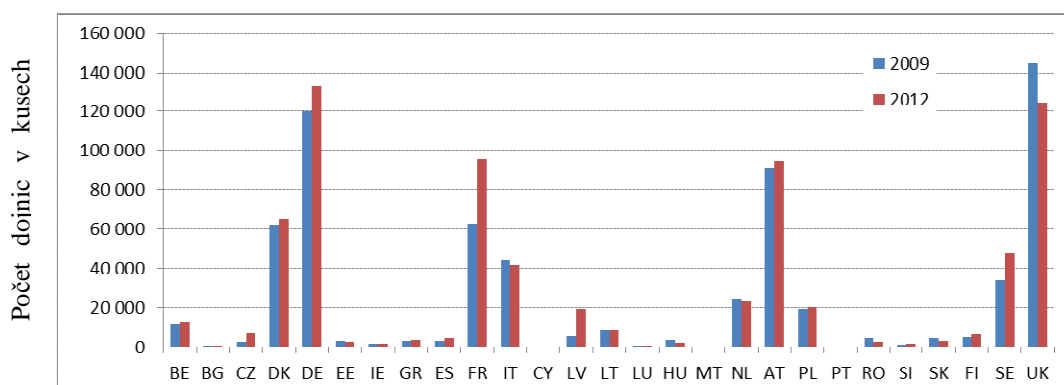
Zdroj: Eurostat, doplněno dle národních statistik (pro stavy EZ); Faostat, Eurostat (pro stavy celkem), 2015 (Hrabalová A, Čapounová K., Horáková S.)

Nejvíce ekologicky chovaných dojníc je na Vysočině a v Jihočeském kraji. Nejvíce ekologicky chovaných dojníc, zhruba jedna třetina z jejich celkového počtu, se nachází na Vysočině a v Jihočeském kraji, které jsou tradičními „mléčnými“ regiony. Zajímavostí je vysoké procentuální zastoupení bio dojníc v Karlovarském, Ústeckém a Libereckém kraji, které až trojnásobně překračuje celorepublikový průměr (7 % až 9 % vůči celorepublikovému průměru 2 % bio dojníc z celkového počtu dojníc).

V ekologickém zemědělství se skot chová v menších stádech než v konvenci. Téměř polovina konvenčního skotu je chována v podnicích s počtem zvířat nad 1000 kusů. Takto chovaných zvířat je v ekologickém zemědělství pouze 5 %. Dojnice jsou v EZ nejčastěji chovány ve stádech se 100 až 250 zvířaty, chov dojníc nad 500 kusů není realizován vůbec.

V rámci Evropské unie bylo v roce 2012 chováno ekologicky přes 700 tis. dojníc, což představuje 3 % jejich celkového počtu v EU. Nejvíce dojníc v EZ se nachází v Německu a Spojeném království (okolo 130 tis. kusů), dále pak ve Francii a Rakousku (95 tis. kusů), viz graf 3. Tyto země tvoří přes 60 % celkového stavu EU. Naopak

největší zastoupení ekologicky chovaných dojníc na jejich celkovém počtu v zemi má Rakousko (18 %), Švédsko (14 %), Lotyšsko (12 %), Dánsko (11 %) a Spojené království (7 %). V případě Německa a Francie jako největších producentů mléka v Evropě dosahuje podíl dojníc v EZ na jejich celkovém stavu 3,2 % resp. 2,6 % a produkce biomléka na celkové produkci mléka 2,2 % resp. 1,9 %. Česká republika se s podílem téměř 2 % dojníc zařazených do ekologie řadí na 5. místo z nových členských zemí a až na 15. místo v rámci celé EU. Mezi neúspěšnější chovatele bio dojníc z pohledu užítkovosti patří farmáři ve Švédsku a Dánsku (přes 7 tis. litrů), kteří se dokáží přiblížit v ekochovech až na 85 až 90 % konvence.



Jednotlivé státy Evropské unie

Graf 3: Počet dojníc v EZ v zemích Evropské unie (2009 a 2012) Belgie (BE), Bulharsko (BG), Česká republika (CZ), Dánsko (DK), Německo (DE), Estonsko (EE), Irsko (IE), Řecko (GR), Španělsko (ES), Francie (FR), Itálie (IT), Kypr (CY), Lotyšsko (LV), Litva (LT), Lucembursko (LU), Maďarsko (HU), Malta (MT), Nizozemsko (NL), Rakousko (AT), Polsko (PL), Portugalsko (PT), Rumunsko (RO), Slovinsko (SI), Slovensko (SK), Finsko (FI), Švédsko (SE), Spojené království Velké Británie a Severního Irska (UK),

Zdroj: Eurostat, doplněno dle národních statistik (pro stavy EZ) 2015, (Hrabalová A., Čapounová K., Horáková S., 2015)

1.4 Význam selenu

1.4.1 Biologický význam selenu

Selen je esenciální stopový prvek, který má pro lidský organismus, i přes svou toxicitu, značný význam. Ve formě selenoproteinů působí jako antioxidant chránící před účinky volných radikálů a zvyšuje činnost imunitního systému, současně se podílí na tvorbě enzymu glutathoinperoxidáza, který je nutný k metabolismu tuků. Příznivě ovlivňuje činnost štítné žlázy a jater, zvyšuje plodnost, podporuje tvorbu testosteronu, může snižovat možnost vzniku rakoviny prostaty. Dostatečné množství selenu v organismu také příznivě ovlivňuje vstřebávání hořčíku z potravin. Tělo dospělého člověka obsahuje průměrně 12 mg selenu, největší množství obsahuje štítná žláza a ledviny.

Přítomnost selenu v organismu zmírňuje toxické účinky rtuti, olova, arsenu a kadmia. Výskyt selenu v potravinách je velmi nerovnoměrný a je ovlivněn jeho obsahem v půdě. Nejvíce selenu je obsaženo v některých druzích ořechů, ve vnitřnostech, rybách a mase mořských plodů. Mezi potraviny s velmi vysokým obsahem selenu můžeme zařadit mořské řasy. Využitelnost selenu ve formě selenomethioninu z rostlinných potravin a selenocysteinu ze živočišných produktů je téměř 100%, oproti využitelnosti anorganicky vázaného selenu, který je pouze okolo 15%.

1.4.2 Doporučené dávkování

Doporučená denní dávka (DDD) selenu ve stravě se pohybuje mezi 55 až 200 µg. Za optimální denní příjem, který se dá při vyvážené stravě i bez pomoci potravinových doplňků dodržet, se považuje 1 µg selenu na 1 kg tělesné hmotnosti. Pokud se nedostatek selenu v organismu dotuje potravinovými doplňky, podává se nejčastěji kombinace bioaktivní selen a zinek. Bioaktivní selen a kladný vliv jeho konzumace z nepotravinových zdrojů na hladinu selenoproteinů, je stále otevřenou otázkou. Nadbytečný selen je z organismu vylučován zejména močí, v menší míře stolicí a dechem.

Tabulka potravin bohatých na selen [Se/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]			
Bílé pečivo	21	Hrách suchý	30 - 50
Brambory	4	Hrách zelený	3.27
Brokolice	23	Hroznové víno	36
Cibule	6	Hrušky	77
Česnek čerstvý	51 - 58	Chléb bílý	14 - 21
Česnek sušený	470	Chléb žitný	15 - 18
Čočka	27 - 80	Jablka	21
Maso kachní	20	Mouka žitná	12
Maso krůtí	115	Okurky	15
Maso kuřecí	129	Ořechy	190
Maso skopové	46	Para ořechy	2000
Maso vepřové	50 - 150	Ryby konzervované	390
Mléko plnotučné	8,5	Ryby marinované	680
Mléko polotučné	8	Ryby mořské	288
Mořské plody	350	Ryby sladkovodní	240
Mořské řasy	590	Ryby uzené	260
Mouka pšeničná	25	Rýže	23 - 34
Sýry	39 - 41	Sója	28 - 50
Špenát	17	Zelí	14
Těstoviny	38	Vaječný žloutek	280 - 440
Tvaroh	28	Vejce slepičí	190 - 210
Uzeniny	25 - 80	Vnitřnosti	180 - 210
Vaječný bílek	80 - 108	Zázvor	200
Čokoláda mléčná	14	Kapusta	24
Čokoláda hořká	50	Květák	22
Lesní houby	40 - 100	Maso hovězí	30 - 80

Tabulka 1: *Potraviny bohaté na selen (Gálová 2011, Mosnáčková a kol. 2011, Vašková 2006, Velíšek, Hajšlová 2009)*

1.4.3 Nedostatek selenu

Nedostatek selenu hrozí zejména vegetariánům a lidem s nesprávným stravováním, zejména nevyváženou stravou. Naopak předávkování selenem může nastat v případě, kdy denní příjem přesáhne 300 μg . Při překročení uvedené hranice hrozí chorobné změny pokožky, ztráta vlasů a nehtů, dlouhodobý příjem selenu v dávkách nad 900 μg může dále způsobit neurologické změny, křečové záchvaty a ochrnutí.

1.5 Výskyt selenu v přírodě

Přírodní cyklus selenu začíná a končí v půdě (Hartikainen 2005). Půda obsahuje celou řadu sloučenin selenu, ne všechny však mohou cirkulovat. Závisí to totiž na jejich rozpustnosti v půdě. Ta je dána především hodnotou pH a oxidoredukčním potenciálem. Nejvíce jsou v půdním roztoku rozpuštěny selenany, méně seleničitany, které jsou často vázány s železem a hliníkem. Rostliny pak přijímají selenany, které přeměňují na selenomethionin a méně na selenocystein. Naopak je tomu u selenomilných rostlin. Rostliny, stejně jako řasy uvolňují značnou část selenu jako methylované selenidy do ovzduší. Také mikroorganismy mohou methylovat elementární selen a další anorganické sloučeniny z půdy, které se poté vypařují do vzduchu. Z ovzduší se selen vrací zpět do půdy dešťovými srážkami a tím je cyklus uzavřen. (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998)

1.6 Formy selenu

Selen se vyskytuje v přírodě hned v několika formách. V krmivech se vyskytuje zejména v organické podobě jako seleno-metionin.

1.6.1 Půda

Selen se vyskytuje ve všech typech půd alespoň v malém množství. Průměrný obsah v zemské kůře je $0,009 \text{ mg.kg}^{-1}$. Obvyklý obsah selenu v půdě je $0,1-2 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Velíšek 1999).

Primárním zdrojem selenu v půdě je zvětrávání a vyluhování z podložních hornin, kde se nachází ve formě seleničitanů a selenidů ve spojení se sirovými minerály 10 (arsenopyrit, chalkopyrit, atd.) - (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998).

Nejvyšší koncentrace selenu se nacházejí ve vyvětlých a sedimentárních horninách. V oblastech s takovýmto geologickým podložím dosahují koncentrace selenu v půdě $30-300 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Velíšek 1999). Půda obsahuje elementární selen, selenan vápenatý, seleničitan železnatý a organické sloučeniny selenu, které vznikají rozkladem živé hmoty (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998).

Důležitější než celkový obsah selenu v půdě je jeho chemická forma a další půdní faktory, které určují využitelnost rostlinami (Mácová 2003).

Selenany jsou v půdě více rozpuštěny a tím i dostupnější než seleničitany. Elementární selen a organické nebo kovové selenidy musí nejprve projít mikrobiální

nebo chemickou transformací na selenany než se stanou pro rostliny dostupné (Goodson 2003). Využitelnost také závisí na pH půdního roztoku, obsahu vlhkosti, kyslíku, oxidů železa a hliníku v půdě. V mírně alkalickém aerobním prostředí je dostupnost selenu pro rostliny nejvyšší (Velíšek 1999). Množství selenu v půdě se liší v různých oblastech světa, v některých místech mohou být jeho hladiny téměř nulové, jinde až 1200 mg.kg^{-1} (Hartikainen 2005). Např. v Číně jsou jak oblasti s nedostatkem selenu tak i s mimořádně vysokými koncentracemi. Tyto oblasti mohou být od sebe jen nepatrně vzdáleny, často bývají odděleny řekou nebo horou. Střední koncentrace selenu se vyskytují v půdách ve velké části USA a Kanadě (s výjimkou provincie Ontario). Oproti tomu v některých evropských zemích (Finsko, Švýcarsko, Česká Republika) a na Novém Zélandu jsou koncentrace selenu velmi nízké (Velíšek 1999, Wasowicz 2003).

1.6.2 Voda

Obsah selenu v přírodních vodách i v pitné vodě je obecně velmi nízký, obvykle jen několik $\mu\text{g.l}^{-1}$ (Mácová 2003). Koncentrace selenu v jezerních a říčních vodách se pohybují asi od 0,02 do $10 \mu\text{g.l}^{-1}$. Mořská voda obsahuje selen v množství 0,03-0,25 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (Velíšek 1999, Wasowicz 2003). Koncentrace se zvyšuje s vyšším nebo naopak nižším pH, které způsobí, že se nerozpustné sloučeniny selenu přemění na sloučeniny více rozpustné (WHO 1996). Maximální koncentrace selenu v pitné vodě stanovena WHO je $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Barceluux 1999, Gray 1998) Toto množství obvykle není v dodávkách pitné vody překračováno, s výjimkou některých oblastí Číny, kde může dosáhnout 50-160 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (WHO 1996).

1.6.3 Ovzduší

Selen se v ovzduší vyskytuje ve velmi malém množství. Dostává se do ovzduší především spalováním fosilních paliv. Vzniká tak oxid seleničitý, který je v přítomnosti oxidů síry značně redukován na elementární selen, který se poté váže na částice popela. Přírodním zdrojem selenu jsou také vulkanické plyny a biomethylace (Barceluux 1999, Gray 1998). Množství selenu v městském vzduchu dosahuje koncentrace 0,06-400 $\mu\text{g.m}^{-3}$, ale v některých oblastech může být i vyšší, např. v okolí hutí (Wasowicz 2003). Maximální přípustná koncentrace sloučenin selenu v ovzduší je $200 \mu\text{g.m}^{-3}$ (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998).

1.6.4 Obsah selenu v rostlinách

Selen vstupuje do potravního řetězce přes rostliny a ty jej získávají z půdy. S nedostatkem selenu v půdě a přítomnosti látek, které brání jeho biologické využitelnosti, např. kyselá půda s vysokým obsahem huminových kyselin, železa a hliníku, se setkáváme především v Číně a přilehlých oblastech, ale i v některých částech Evropy (Hartikainen 2005, Velíšek 1999). Rostliny obsahují různé množství selenu v různých chemických formách. Nejvíce absorbují anorganický selen ve formě selenanů, protože je více rozpustný v půdním roztoku. Tyto jsou převedeny do chloroplastů a dále metabolizovány podobně jako síra na selenomethionin, kde atom selenu nahrazuje atom síry v methioninu. Rostliny snadno zabudovávají selenomethionin do proteinu na místo methioninu, a proto je selenomethionin hlavní formou selenu v rostlinách (Sunde, Bowman, Russel 2001). Bylo zjištěno, že až 50% selenu v pšenici bylo prezentováno selenomethioninem vázaným na proteiny (Schrauzer 2000). Některé rostliny obsahují selen pouze v množství úměrném jeho obsahu v půdě. Ale existují i rostliny, které mají schopnost akumulovat mnohonásobně více selenu (hyperakumulátory) - (Finley 2005). Takovéto rostliny nazýváme selenomilné rostliny. Můžeme je rozdělit do dvou skupin. Primárně selenomilné rostliny, které obsahují až $103 \mu\text{g.l}^{-1}$ selenu v sušině. Mezi ně patří některé druhy kozinců (*Astragalus*) z čeledi bobovitých. Druhou skupinou jsou sekundárně selenomilné rostliny, které obsahují stovky $\mu\text{g.g}^{-1}$ selenu v sušině (Goodson 2003, Velíšek 1999, Wasowicz 2003). Mezi takové můžeme zařadit např. brokolici a česnek, selenomilné rostliny obsahují zvýšené množství selenocysteinu a methylovaných sloučenin selenu (Finley 2005)

Jako např. selenomethylselenocystein (SeMSC), gama-glutamyl 12 SeMSC, selenocystathion, selenohomocystein, gama-glutamyl selenocystathion, a methyl selenol (Finley 2005). Většina rostlin však neobsahuje více než $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Velíšek 1999, Wasowicz 2003).

Dříve se předpokládalo, že rostliny pro svůj metabolismus selen nepotřebují. Ale v 80. letech minulého století bylo poprvé publikováno, že dostatečné množství selenu v půdě podporuje růst rostliny a zvyšuje obsah sušiny. A to především tehdy, obsahuje-li půda málo síry. Bylo dokázáno, že napomáhá v obraně rostliny proti kyslíkovým radikálům produkovaným během fotosyntézy a dýchání. Také snižuje posklizňové ztráty a pomáhá udržovat biologickou hodnotu zeleniny (Hartikainen 2005).

1.7 Toxicita a esencialita

1.7.1 Toxicita

Selen byl objeven v roce 1817, ale symptomy jeho toxicity byly poprvé popsány dávno před jeho objevením, jako důsledek vysokých půdních koncentrací s následnou kumulací v rostlinách, které vyvolávají akutní a chronické otravy dobytka (Sunde, Bowman, Russel 2001). Už v polovině 13.století Marco Polo během svých cest do západní Číny zaznamenal přítomnost těchto „jedovatých“ rostlin, které způsobují otravy zvířat, jež se jimi živí (Hartikainen 2005).

V 19. Století byla v západní části USA popsána chronická toxikóza (selenoza). Alkalická choroba zvaná „angl. alkali disease“, protože se předpokládalo, že je způsobena pitím vody s vysokým obsahem soli (Velíšek 1999, Wasowicz 2003). Vyskytovala se u koní a dobytka živících se zrním nebo pící, jež obsahovaly 5–50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ selenu. Projevovala se dystrofickými změnami kopyt, ztrátou srsti, hlavně na ocasu, malým vzrůstem, sníženou schopností reprodukce a pohybu, v některých případech i smrtí zvířete (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998, Hartikainen 2005).

Během první poloviny 20. století byl dáván do souvislosti výskyt kožních lézí a neuropatie u koní, ovcí a dobytka s příjmem rostlin, které obsahovaly více než 10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ selenu. Tato nemoc byla nazvána slepá závrať „angl. blind staggers“ a jejími příznaky byla anorexie, úbytek hmotnosti, slepota, ztráta orientace a respirační obtíže. Avšak spojení mezi chronickou selenozou a neurologickým onemocněním zůstává sporné, protože nebylo vyloučeno jiné vysvětlení pro tyto příznaky (Barceluux 1999, Combs, Gray 1998).

V pokusech na zvířatech bylo dokázáno, že příjem selenu už v množství 5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti krysy je příčinou růstové retardace, 6,4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ hmotnosti zvířete vyvolává jaterní změny a 8 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ hmotnosti způsobuje anemii a zvyšuje mortalitu. Důvodem růstové retardace je snížená sekrece růstového hormonu (WHO 1996).

Selen je nejvíce toxický pro vodní ptactvo a vodní živočichy. V 80. letech 20. století došlo k přírodním otravám vodního ptactva a ryb v jezeře Kesterson v Kalifornii. Došlo k masivnímu úhynu a viditelným deformacím ptáků, jejichž příčinou byla vysoká koncentrace selenu ve vodě, která překračovala 350 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Maso ryb obsahovalo až 170 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ selenu, obvyklá koncentrace selenu v amerických rybách je 0,5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. K dalším otravám ryb došlo v roce 1974 v jezeře Belew v severní Karolíně, jež bylo kontaminováno odpadní vodou z tepelných elektráren, která obsahovala vysoké

koncentrace selenu. Ačkoli bylo vypouštění odpadů v roce 1986 zastaveno, porucha rozmnožování a patologické změny ryb byly prokazatelné ještě po deseti letech (Lemly 2002).

První zprávy o otravě lidí selenem pocházejí již z 15. století od cestujících v oblasti Kolumbie, které jsou bohaté na selen. Přesnější popisy jsou z regionu Enshi v provincii Hubei na jihu Číny, kde došlo v letech 1961-1964 k masivním otravám (morbidity byla téměř 50%). Výzkumy prokázaly, že původcem otravy byla kukuřice hnojená uhelným popelem, která se díky neúrodě rýže stala hlavní potravinou. Obsahovala až $44 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ selenu. Nejprve byly postiženy nehty, vlasy a zuby, později i nervový systém. Po vyřazení této kukuřice ze stravy příznaky pomalu vymizely. Lidé byli poté poučeni, aby se vyhýbali kukuřici s narůžovělým zbarvením okolo klíčku, která obsahuje velké množství elementárního selenu (WHO 1996).

Chronická selenoza se vyskytla i v USA v letech 1983-1984, kde se 13 lidí otrávil volně prodejným preparátem, který místo 150 μg , jak bylo uvedeno na obalu, obsahoval 27,3 mg selenu v tabletě (Goldhaber 2003).

Chronické otravy tzv. selenozy se vyskytují nejčastěji v oblastech s vysokým obsahem selenu v půdě a pitné vodě. Projevují se většinou až po několika měsících zvýšeného příjmu. Typickými projevy jsou křehkost, lámavost a ztráta vlasů a nehtů, záněty nehtového lůžka, snížené hodnoty krevního hemoglobinu, svědivá vyrážka na pokožce hlavy, poškození kůže zejména na končetinách, svalová citlivost, deprese, únava, nervozita, zvýšený výskyt zubního kazu, vypadávání zubů, nauzea a zvracení (Barceloux 1999, Combs, Gray 1998).

Po česneku zapáchající dech je způsoben zvýšeným vylučováním dimethyldiselenidu. Tyto toxické příznaky se vyskytují při příjmu $3200\text{--}6700 \mu\text{g}\cdot\text{den}^{-1}$.

Mírnější morfologické změny nehtů a vlasů se mohou objevit už při průměrné dávce $1260 \mu\text{g}\cdot\text{den}^{-1}$ (Schrauzer 2000). I denní příjem 1 mg selenu ve formě seleničitanu sodného po delší dobu je chronicky toxický. Avšak po snížení příjmu tohoto prvku příznaky vymizí (WHO 1996).

Akutní otravy jsou u člověka pozorovány jen zřídka a projevují se apatií, srdečním a renálním selháním, respiračními problémy, hypotenzí až smrtí již několik hodin po příjmu selenu. Typická je červená pigmentace nehtů, vlasů nebo zubů a po česneku zapáchající dech (Barceloux 1999, Combs, Gray 1998).

Rozmezí příjmu selenu pro organismus postačující, ale ještě netoxické je velice úzké. Je prokázáno, že příjem do $400 \mu\text{g}\cdot\text{den}^{-1}$ a nebo $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti denně

je pro člověka ještě netoxický (Hawkes a kol. 2003). Záleží však na chemické formě selenu. Obecně platí, že anorganické sloučeniny jsou více toxické než organické. Nejvíce toxický je seleničitan > selenan > selenocystein > methylované sloučeniny selenu. Kyselina seleničitá je nejtoxičtější formou selenu a příjem této sloučeniny často způsobuje smrt jako důsledek těžké hypotenze (Barceloux 1999, Combs, Gray 1998).

1.7.2 Esencialita

Mění se klimatické podmínky mohou znamenat, že běžná jetelotravní společenstva nebudou dosahovat potřebných parametrů z hlediska nejen produkce, ale také kvality píce. Při hodnocení kvality píce je třeba klást důraz také na zdravotní bezpečnost krmiv v závislosti na průběh povětrnostních podmínek, při nichž dochází u travních porostů k rozvoji plísní a existuje nebezpečí výskytu mykotoxinů v krmivu.

Selen byl objeven a pojmenován Švédským chemikem J. J. Berzeliumem v roce 1818. Na selen se pohlíželo mnoho let jako na látku působící u hospodářských zvířat toxicky. Masivní výzkum selenu začal po objevení enzymu glutathion peroxidázy, která obsahuje právě tento mikroprvek. Selen byl také objeven v několika bakteriích a dalších enzimech. Esencialita selenu u zvířat byla prokázána až v roce 1957 kdy Schwarz a Folzse zjistili, že stopová množství selenu působí preventivně proti jaterní nekróze u krysu. Další studie ukázaly, že deficit selenu je základní příčinou několika doposud nevyléčitelných chorob dobytka. Proto se od roku 1969 začalo všechno komerční krmivo doplňovat selenem. V České republice je vzhledem k nízkým koncentracím selenu v půdě příjem tohoto prvku velmi nízký (Velíšek 1999).

1.8 Metabolismus selenu v organismu

Potraviny obsahují různé množství a různé formy selenu, z toho vyplývá, že i jeho metabolismus je ovlivněn typem sloučeniny (Finley 2005).

V těle jsou dva důležité mechanismy, selenomethioninový a selenocysteinový. Liší se možnostmi homeostatické regulace, selenocysteinový kompartment můžeme regulovat, kdežto selenomethioninový ne (Sunde, Bowman, Russel 2001).

Do selenomethioninového kompartmentu vstupuje selenomethionin přijatý potravou a ten se buď zabudovává do tělních proteinů, nebo při nadbytku selenomethioninu ve stravě je transsulfuračním mechanismem přeměněn na selenocystein. Selenomethionin se zabudovává do proteinů na místo methioninu poměrně snadno, protože enzymy savců, které tuto reakci katalyzují, nerozlišují mezi methioninem a selenomethioninem (Sunde, Bowman, Russel 2001).

V selenocysteinovém kompartmentu probíhá centrální metabolismus. Vstupují do něj anorganické sloučeniny selenu a selenocystein přijatý potravou, nebo vzniklý přeměnou selenomethioninu. Všechny tyto sloučeniny podléhají postupné přeměně na selan (selenovodík, H_2Se). Anorganické sloučeniny jsou pomocí redukovaného glutathionu (GSH) metabolizovány na selenodiglutathion (G-S-Se-S-G). Při nadbytku glutathionu vzniká nestálá sloučenina (G-S-Se), která se rozkládá na H_2Se a glutathion (Sunde, Bowman, Russel 2001).

Selenocystein je také degradován na (H_2Se), tato reakce je katalyzovaná β -lyazou Selan (H_2Se) je považován za prekursor dodávající selen v aktivní formě pro syntézu selenoproteinů, ale může být i methylován S-adenosylmethioninem a vyloučen z těla (Sunde, Bowman, Russel 2001).

Selenoproteiny se vyskytují v eukaryotických i prokaryotických buňkách a syntéza selenocysteinu i jeho začlenění do proteinů, je u obou skupin stejná. Selenocystein přijatý potravou nebo vzniklý katabolismem selenomethioninu nelze využít k začlenění do proteinů, proto musí být nově syntetizován. Tato syntéza probíhá během syntézy proteinů, zahrnuje několik neobvyklých metabolitů a vyžaduje nejméně 5 specifických genetických faktorů (4 enzymy a 1 tRNA^{sec}UCA). Kromě toho musí každá selenoproteinová mRNA obsahovat 2 specifické prvky (UGA kodon a specifickou selenocysteinovou inzerční sekvenci SECIS) - (Schrauzer 2000).

Uhlíkatý skelet pro tvorbu nového selenocysteinu poskytuje serin, tato aminokyselina je součástí ser-tRNA^{Sec}. Selen získáváme ze selenidového anionu (HSe), který musí být nejdříve přeměněn na selenofosfat (HSePO₃²⁻). Tato reakce je katalyzována selenofosfát syntetázou vyžadující ATP. Poté je ⁻OH skupina serinu nahrazena ⁻SeH skupinou ze selenofosfátu a vzniká sec-tRNA^{Sec}, která rozpozná kodon UGA ve struktuře mRNA. Takto vzniklý selenocystein je součástí všech důležitých selenoproteinů (Sunde, Bowman, Russel 2001, Arteel, Sies 2001).

Degradací selenocysteinu katalyzuje specifická selenocystein lyáza, která z něj uvolňuje elementární selen. Ten je neenzymaticky redukován na selan (H₂Se) přes glutathion nebo další thioly. Selan se může podílet na opětovné syntéze selenocysteinu, nebo je methylován a vyloučen z organismu. Methylování s pomocí S-adenosylmethioninu vzniká methylselenol (CH₃SeH), dimethylselenid [(CH₃)₂Se] a trimethylselenoniový ion [(CH₃)₃Se⁺]. Tyto reakce jsou katalyzovány methyl transferázou (Finley 2005, Schrauzer 2000).

Množství přijímaného selenu a hladina selenu v těle ovlivňují formu a množství vylučovaného selenu. Například trimethyl selenonium se vyskytuje v moči krys, které trpí deficitem selenu, pouze v malém množství. Zatímco u krys, jež přijímaly nadměrné množství, byl dominující formou selenu v moči trimethylselenoniový ion [(CH₃)₃Se⁺]. Při příjmu vysokých dávek selenu se jeho nadměrné množství vylučuje plícemi jako dimethylselenid. Dech se potom vyznačuje typickým česnekovým zápachem (Sunde, Bowman, Russel 2001).

1.9 Selen ve výživě hospodářských zvířat

Selen je důležitou součástí enzymu glutation peroxidázy. Tento enzym eliminuje peroxidy před tím, než může dojít k poškození tělesných tkání. Vitamín E je také účinný jako antioxidant. Vitamín E a selenem společně, brání poškození tělesných buněk peroxidy. Dále podporují obranné mechanismy těla proti stresu. Většina krmiva obsahují sloučeniny, které mohou tvořit peroxidy. Nenasycené masné kyseliny jsou toho dobrým příkladem. Žluknutí krmiva způsobuje tvorbu peroxidů, které ničí živiny. Například vitamín E, je snadno zničen žluknutím. Selen šetří vitamín E svým antioxidačním účinkem jako složka glutation peroxidázy.

Selen a vitamin E jsou vzájemně propojeny. Oba jsou potřebné pro zvířata a oba mají v těle antioxidační účinky a navíc mají ještě roli metabolickou. V některých případech, bude vitamín E střídat v různé míře selen nebo naopak. Existují však příznaky nedostatků, které reagují pouze na selen, nebo vitamín E. Selen nemůže nahradit vitamin E ve výživě, vysoké dávky selenu snižuje požadované množství vitamínu E a oddaluje nástup symptomů při nedostatku vitamínu E.

Selen hraje rozhodující roli při zvýšení imunitní odpovědi u zvířat. Například, Dimitrov a kol. (1987) uvádějí, že předběžné zpracování polymorfonukleárních neutrofilů z nedostatku selenu u prasat, selenem obnovil jejich oxidační metabolismus, což úzce souvisí se schopností neutrofilů k usmrcení mikroorganismů.

Selen může být přidáván do stravy všech druhů hospodářských zvířat. Mohou být použity buď seleničitan sodný, nebo selenan sodný. Selen se přidává 0,1 mg/kg v kompletním krmivu pro prasata, hovězí dobytek, mléčný skot, ovce, drůbež, králíky a mléčné kozy. Pro krůty může být podán ve formě nápoje a to v množství 0,2 mg/kg. Koním a ostatním zvířatům (zvířata v zoologických zahradách, laboratorní zvířata) lze podávat až do 0,1 mg/kg selenu v celkové stravě (Church a Pond 1989).

Je třeba se vyhnout nadbytku selenu ve stravě pro zvířata. Selen však není více toxický než některé jiné stopové prvky. Například pro prasata, je hladina toxicity selenu v potravě 5 až 10 mg/kg. Toto rozpětí pro bezpečné dávkování selenu pro prasata je větší než u mědi, zinku, železa a manganu. Publikace National Research Council ukazují, že úroveň selenu v celkové stravě pro prasata 5–10 mg/kg, kuřata 5–20 mg/kg, hovězí dobytek 8,5 mg/kg, koně 5–40 mg/kg a ovce 3 mg/kg jsou toxické. Všechny z těchto zvířat vyžadují selen v množství 0,1 mg/kg v celkové stravě. Výjimkou jsou krůty, které vyžadují 0,2 mg/kg a selata 0,3 mg/kg. Proto existuje významný

bezpečnostní faktor mezi úrovněmi potřeby a toxicitou. Obecně však platí, že vyšší hladina proteinů, síry a arsenu se částečně chrání proti toxicitě v nadbytku selenu. Selen se hromadí v organismu, avšak mírné chronické příznaky lze snadno překonat. Selen je rychle eliminován z těla postiženého zvířete, když je krmeno krmivem s nízkým obsahem selenu (Washington, 1985), (Rakova, 2015).

1.10 Kyslíkaté volné radikály v organismu

V organismu jsou neustále generovány molekuly s oxidačním a radikálovým působením. Je to výsledek mnoha procesů spojených jak s vnitřními biochemickými a fyziologickými ději nutnými pro život, tak i způsobeném vnějších nepříznivých vlivů. Ačkoliv je vznik volných radikálů pro organismus nezbytný, jejich přebytek může mít za následek porušení funkčních i strukturálních molekul buňky (Kvíčala 2001).

Ve stavu oxidačního stresu je rovnováha mezi tvorbou volných radikálů a ochrannými mechanismy porušena. Když se jedná o oxidativní poškození chronické, změny v genomové stabilitě mohou vést k různým onemocněním, včetně rakoviny (Wasowicz 2003). Oxidace, která je normálně spojena s buněčným metabolismem, může vést k tvorbě volných radikálů a velmi často pochází z molekulárního kyslíku. Reaguje s donorem elektronu a tak vzniká další volný radikál. Pokud se tyto řetězové reakce nepřerouší, dochází k poškození buněčných struktur. Volné radikály reagují s proteiny, lipidy a nukleovými kyselinami a tím mění jejich funkci. Dochází tak k mutacím DNA, porušení buněčných membrán atd. (Murray 1998, Wasowicz 2003).

Hlavními zdroji volných radikálů v organismu jsou dýchací řetězce mitochondrií, kdy asi 1–4% O_2 při oxidační fosforylaci je přeměněno na superoxida H_2O_2 . Biotransformace v endoplazmatickém retikulu katalyzované Cyt P450 vedou také ke vzniku volných radikálů, bílé krvinky produkující ROS jako ochranu při napadení bakteriemi atd. (Máková 2003).

V organismu se vyvinul celý systém antioxidační a antiradikálové ochrany, který má za úkol udržovat rovnovážný stav. Tento systém je multisložkový a ne všechny složky jsou stejně účinné.

Antioxidační mechanismy můžeme rozdělit na 2 typy:

- První se označují jako scavengers, které pasivně přejímají elektron. Mezi nejdůležitější patří vitaminy E, A, C.
- Druhým typem jsou enzymaticky řízené reakce, při nichž dochází k přenosu elektronu a molekul s aktivním kyslíkem za vzniku méně nebezpečných sloučenin. Do tohoto systému řadíme superoxiddismutázy (SOD) s mědí a zinkem, katalázy s železem a glutathion peroxidázy (GPx) (Kvíčala 2001).

GPx se vyskytují v cytosolu i buněčných membránách a ze všech těchto antioxidantů a enzymů dokáže pouze GPx odbourávat hydroperoxydy lipidů, které vznikly jako produkty oxidativního odbourávání tuků (Máková 2003).

1.11 Význam antioxidantů

Antioxidační účinek selenu hraje důležitou roli i ve zmírňování účinků xenobiotik. Mnoho toxických a karcinogenních látek se vyskytuje v přírodě a mohou způsobit zvýšenou tvorbu kyslíkových radikálů, nebo se jejich působením přeměnit na vlastní toxické metabolity (Máková 2003, Wasowicz 2003)).

Jsou to např. aflatoxiny a 3,4- benzpyren (Combs, Gray 1998). Vitamín E a selen působí synergicky. Selen je nutný pro normální činnost pankreatu, který je nezbytný pro trávení a vstřebávání vitamínů. Vitamín E zase snižuje potřebu selenu tím, že brání ztrátám selenu z organismu, nebo jej udržuje v aktivní formě (Murray 1998). Oba chrání polynenasycené mastné kyseliny, které se vyskytují nejvíce v buněčných membránách, před lipoperoxidací (Sunde, Bowman, Russel 2001).

1.12 Selen jako antioxidant

Ochranný mechanismus selenu je intenzivně zkoumán na živočišných i lidských modelech. Dvě třetiny studií prováděných na zvířatech vykazují snížení výskytu nádorů při suplementaci selenem. Také epidemiologické studie ukazují, že nízká selenová hladina je spojena s 2 krát až 6 krát vyšším rizikem vzniku rakoviny (Wasowicz 2003).

Inhibice karcinogeneze spočívá v ochraně DNA buňky proti mutacím, které mohou vznikat působením volných kyslíkových radikálů. Selen vykazuje multifaktoriální činnost, která vede k prevenci rozvoje nádoru. Mechanismus antikarcinogenní aktivity závisí na dávce, chemické formě selenu a jeho metabolismu (Wasowicz 2003).

Selen je esenciální pro činnost mnoha složek imunitního systému u zvířat i u lidí. Při selenovém deficitu bývá poškozena imunita buněčná i humorální a hladina protilátek IgG a IgM je snížena (Arthur a kol. 2003). Selen má stimulační účinek na imunitní systém, posiluje proliferaci aktivovaných T lymfocytů (Odeh, Cornish 1995). Při denním příjmu 200 µg selenu vykazují lymfocyty zvýšenou reakci na antigenní stimulaci a zvyšuje se jejich schopnost vyžrát do cytotoxických lymfocytů, která zničí nádorovou buňku. Zvýšená je také aktivita přirozených zabíječů. Tento mechanismus je úzce spjat se zvýšeným počtem receptorů pro interleukin-2 na povrchu aktivovaných lymfocytů a přirozených zabíječů. Tyto interakce jsou rozhodující pro klonální expanzi a diferenciaci na cytotoxické T buňky. (Arthur a kol. 2003, Rayman 2000).

1.13 Složky mléka

Složky mléka se nacházejí ve třech fázích: Fáze emulzní tvoří v čerstvém mléce mléčný tuk spolu fosfolipidy, steroly, vitamíny rozpustnými v tucích a volnými mastnými kyselinami. V koloidní disperzi se nachází mléčné bílkoviny – kaseiny, alf. Laktalbumin, bet. Laktoglobulin, sérový albumin, enzymy. Molekulární disperze obsahuje sacharidy, vitamíny rozpustné ve vodě, nebílkovinné dusíkaté látky, soli a plyny. Po odstranění mléčného tuku a kaseinu z mléka vzniká mléčné sérum, plazma vzniklá z mléka odstředěním mléčného tuku. (Navrátilová a kol. 2014)

Chemické složení mléka	%
Voda	87 – 88
Sušina	12,1 – 12,3
Tuk	3,6 – 4,0
Bílkoviny	3,2 – 3,5
Laktóza	4,6 – 4,9
Minerály	0,66 – 0,77

Tabulka 2: Chemické složení mléka

1.14 Funkční potraviny

Funkční potravina může být považována za jakýsi přechod mezi potravinami a léky. U funkčních potravin se klade důraz na objektivní vědecké ověření jejich přínosu pro lidské zdraví i možnost případných vedlejších účinků. V tom ohledu se blíží lékům. Nejsou to však léky v pravém smyslu slova. Mají především preventivní funkci. Obecně je možné funkční potravinu definovat jako potravinu, která zlepšuje výživu a zdraví konzumenta. Funkční potravina a její složky mají být přírodními látkami. Její konzumace má prokazatelně posilovat imunitní systém, snižovat rizika cévně-srdečních chorob, rakoviny a dalších civilizačních chorob. V neposlední řadě má zpomalovat degenerativní procesy spojené se stárnutím. (Kalač, 2003)

Funkční potraviny jsou takové potraviny, které svým složením, přirozeným nebo upraveným, představují pro konzumenta zdravotní přínos. Jsou určeny jako potraviny pro každodenní konzumaci. Nejsou to tedy organismy, vláknina, antioxidanty, vitaminy, stopové prvky atp., které se podávají ve formě prášku, tablet či kapslí. Rozdílem mezi léky a funkčními potravinami je také doba nutná k projevu jejich účinků na organismus. U léků může být pozitivní účinek zaznamenán za několik dnů či týdnů. Funkční potravinu je třeba přijímat měsíce i roky k dosažení požadovaného účinku. Funkční potraviny mají za úkol konzumenta především preventivně chránit před vznikem civilizačních onemocnění, jako jsou srdečně cévní choroby a nádorová onemocnění. (Kalač, 2003)

1.14.1 Rozdělení funkčních potravin

Funkční potraviny lze rozdělit do dvou základních skupin podle toho, zda přirozeně obsahují účinnou látku nebo je nutné jejich obohacení účinnou látkou. Toto obohacení potraviny účinnou složkou je nutné z důvodu naprosté nepřítomnosti účinné látky v potravině nebo nedostatečného obsahu potřebného k projevení účinků či značného úbytku v důsledku zpracování potraviny.

(Benešová, 1999)

Nejčastěji jsou diskutovány následující skupiny účinných látek nebo mikroorganismů:

- vláknina,
- oligosacharidy (inulin, oligofruktóza),
- vitaminy (E, C aj.),
- mastné kyseliny (EPA-eikosanpentaenová, DHA – dokosaheptaenová),
- alkoholické cukry (xylit, sorbit),
- antioxidanty a fytochemikálie (vitamin E, C, zinek, měď, selen, flavanoidy),
- aminokyseliny, peptidy a bílkoviny (taurin, casamorfín, sójová bílkovina),
- minerální látky a stopové prvky (sodík, draslík, selen, zinek aj.),
- glykosidy,
- alkoholy,
- bakterie mléčného kvašení (Benešová, 1999).

1.14.2 Přírodní zdroje selenu

Selen je všude přítomný (Horký a kol., 2012). Tento prvek se běžně vyskytuje v zemské kůře, nerovnoměrně rozšířený (Schmidt a Rodrick, 2003). Selen vstupuje do potravního řetězce především prostřednictvím systému, půda – rostlina (Bajaj a kol., 2011).

Jeho koncentrace je určena zejména obsahem prvku v matečné hornině. Dále pak topografií, klimatem, erozí materiálu, špatným odvodněním půdy, zavlažováním vodou obsahující selen, používáním fosfátových hnojiv, vlivem těžby, sopečných výbuchů, spalováním uhlí a ropy se může podstatně zvýšit obsah selenu v půdě (Bajaj a kol., 2011). Při zpracování sulfidických rud a při spalování fosilních paliv obsahujících síru se selen dostává do atmosféry a odtud je odplaven do povrchových a podzemních vod (Pitter, 2009). Zpracovávání a spalování fosilních paliv jako uhlí, ropa a vedlejší produkty je tedy významným antropogenním zdrojem selenu.

Ve vyšších koncentracích se selen nachází v minerální složce polétavého a usazeného elektrárenského popílku. Do prostředí se dostává i při výrobě kovů, barev, skla a keramiky. Nezanedbatelným antropogenním zdrojem selenu jsou skládky, a to především skládky elektronických zařízení (např. fotokopírky). V zemědělských oblastech jsou často zdrojem selenu fosforečná hnojiva obsahující selen jako příměs. V menších množstvích je tento prvek přítomen v cigaretovém papíru, tabáku a různých kosmetických přípravcích (Krejčová a kol., 2013).

1.15 Vliv selenu na zdravotní stav organismu

Selen je prokázán jako stopový prvek pro mnoho živočišných druhů, včetně člověka. Je však široké rozpětí mezi příjmem selenu v různých částech světa. Především záleží na jeho obsahu v půdě a formě přijímané potravou. Existují však určité skupiny populace, které jsou nedostatkem prvku vystaveny více. Mezi tyto skupiny patří lidé, kteří nekonzumují vyváženou stravu, např. vegetariáni. Dále osoby, které přijímají pouze omezené množství stravy, např. senioři, těhotné a kojící ženy, kuřáci a chronicky nemocní jedinci, kteří potřebují zvýšené množství selenu (Mácová 2003, Odeh, Cornish 1995). Deficit se může vyskytovat i u pacientů s parenterální výživou a bílkovinnou podvýživou (Murray 1998).

1.15.1 Deficit u zvířat

Podklady pro naše znalosti o selenu se skrývají v experimentech na zvířatech. U laboratorních potkanů, jejichž krmivo neobsahovalo dostatečné množství selenu, vitamínu E a sirných aminokyselin se rozvinula nekróza jater, která po 21-28 dnech 29 končila smrti zvířete (Mácová 2003).

Díky tomu byl v roce 1969 selen uznán jako esenciální stopový prvek pro potkany, neboť je součástí faktoru 3, který brání rozvoji jaterní nekrózy u pokusných zvířat, které přijímaly adekvátní množství vitamínu E i sirných aminokyselin (Velíšek 1999).

Specifické onemocnění spojené s deficitem selenu je závislé na biologickém druhu. U potkanů se deficit projevuje jaterní nekrózou, kdežto u myši dochází k degenerativním změnám kosterního svalstva, srdce, ledvin, jater a pankreatu. Reprodukční poruchy se vyskytují u obou samčích hlodavců, jsou způsobeny produkcí vadných spermií (Mácová 2003).

U prasat se vyskytuje nemoc „mulberry heart“ projevující se poruchou srdeční činnosti. U ovcí bývá pozorována nutriční svalová dystrofie zvaná „white muscle disease“, která je velice podobná lidskému onemocnění Keshan. U krav se také vyskytuje nutriční myopatie poškozující kosterní a srdeční svalovinu, navíc dochází k poruchám reprodukčním. Proto se od roku 1969 začala všechna krmiva v selen-deficitních oblastech obohacovat selenem (Sunde, Bowman, Russel 2001).

1.15.2 Deficit u člověka

Onemocnění z nedostatku selenu jsou většinou spojena i s dalšími příčinami, ale deficit tohoto prvku je hlavním z nich. Rozvoj onemocnění Keshan bývá kromě nedostatku selenu spojen i s virovou infekcí. Kashin-Beck syndrom je způsoben jednak zmiňovaným deficitem, ale i kontaminací obilovin mykotoxiny, minerální disbalancí, kontaminací pitné vody nebo deficitem jodu. Deficit selenu je obvykle spojován i s deficitem jodu v organismu, vyskytují se endemicky zejména v Asii. Subklinický deficit selenu se vyskytuje i v České republice. Podle výsledků řady studií je i u nás karence vázána na deficit jodu v potravě (Zadák 2002). V Zairu kombinovaný deficit selenu a jodu přispívá k etiologii endemického myxedematózního kretenismu (Sunde, Bowman, Russel 2001).

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo sledování vlivu selenu na kvalitativní a kvantitativní parametry vyprodukovaného mléka dojnic Holštýnského plemene.

Hypotéza: přídavek selenu zvýší obsah tohoto prvku v mléce a bude působit protizánětlivě.

3 METODIKA

Vlastní pokus byl proveden na ekologické farmě dojného skotu v Lesoňovicích (Česká republika). Farma je registrována dle zákona č. 242/2000 o ekologickém chovu zvířat (registrační číslo 42318335). Do experimentu bylo zařazeno 20 kusů dojnic holštýnského plemene rozděleného do dvou vyrovnaných skupin tak, aby se nacházely ve stejné fázi laktace. Dále byly do pokusného sledování zařazeny krávy na třetí a čtvrté laktaci. Všechny krávy dostávaly základní krmnou dávku ve formě TMR s přídavkem minerálního premixu Detamin GA Spezial určený pro ekologické chovy (tab. 3 a 4). Experimentální i kontrolní skupina dojnic přijímaly 20,5 kg sušiny krmiva/kus/den. Základní krmná dávka obsahovala 0,17 mg selenu/kg. Zvířata měla ad-libitní přístup k vodě. První skupině dojnic (n=10) byl do diety přidáván selen v dávce 0,3 mg/kg (jako selenomethionin). Druhá skupina krav (n=10) sloužila jako kontrolní bez přídavku selenu (kontrolní skupina zvířat přijímala selen pouze z přírodních zdrojů). Premix selenu byl zamíchán do základní krmné dávky (TMR) a byl zkrmován při ranním krmení. Pokusná skupina měla průměrnou hmotnost 622 ± 15 kg, průměrná hmotnost kontrolní skupiny činila 630 ± 11 kg. Dojnice pokusné skupiny se pohybovaly v průměru na $3,4 \pm 0,1$ laktaci. Kontrolní skupina krav byla v průměru na $3,6 \pm 0,1$ laktaci. Průměrná dojivost zvířat během experimentu byla $7\,600 \pm 50$ kg za laktační období, ve kterém byl pokus proveden.

U kontrolní skupiny krav byla průměrná délka laktace 103 dní na začátku experimentu (fáze laktace se pohybovala od 86 do 110 dní). Pokus začal u experimentální skupiny dojnic v průměru 107 den laktace (fáze laktace se pohybovala od 85 do 114 dní). Dojnice byly volně ustájené. Krmení probíhalo dvakrát denně (ráno a večer). Délka experimentu byla stanovena na 45 dní.

Před začátkem pokusu a poté v 15 denních intervalech (0., 15., 30. a 45. den) byly odebírány vzorky mléka pro stanovení obsahu selenu. Vzorky mléka pro stanovení užitkovosti a mléčných složek (bílkovina, tuk, laktóza, somatické buňky, močovina)

byly odebírány na začátku a na konci experimentu tzn. 0. a 45. den. Vzorky byly odebrány vždy před ranním krmením a následně podrobeny patričním analýzám. Odběr vzorků mléka je patrný z obrázku č. 1.



Obrázek č. 1 – odběr vzorků

Stanovení mléčných složek

Mléko bylo konzervováno 2 – bromo, 2 – nitropropane, 1,3 – diol a zchlazeno na 4 – 6 °C až do analýzy. Analýza proběhla do 12 hodin od odběru vzorku. Mléčné složky byly analyzovány v komerční laboratoři na přístroji MilkoScan FT 2 (Foss Electric, Hillerod, Denmark). Tuk byl stanoven acidobutyrometricky dle ČSN ISO 2446 (2010). Obsah celkových bílkovin byl stanoven Kjeldahlovou metodou dle ČSN 57 0530 (1974) a laktóza komerční soupravou “Lactose/D-Galactose Assay Kit MEGAZYME” dle IDF 79B:1991. Močovina v mléce byla stanovena enzymaticky komerční soupravou “Urea/Ammonia Assay Kit MEGAZYME”. Somatické buňky byly analyzovány pomocí technologie FTIR (Fourier Transform InfraRed) - (MilkoScan, FT 6000) dle ČSN EN ISO 13366-2 (2007).

Stanovení koncentrace selenu v siláži

Obsah selenu ve vzorcích krmné směsi byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie. Navážka 0,5 g homogenního vzorku byla mineralizována ve směsi koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném systému ETHOS 1 (MILESTONE, Itálie, 2012, <http://www.milestonesrl.com/analytical/Products/>). Po dekompozici vzorku byl roztok doplněn demineralizovanou vodou na objem 25 ml. Koncentrace prvků v takto připravených roztocích byla stanovena na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření s vysokým rozlišením ContrAA 700 (ANALYTIK JENA, Germany, 2012, <http://www.analytik-jena.de/>). Použitá vlnová délka byla 196,026 nm.

Stanovení koncentrace selenu v mléce

Selen byl stanoven na přístroji 290Z Agilent metodou absorpční atomové spektrofotometrie (Agilent, USA) s elektrochemickou atomizací. Byla použita na selen ultrasenzitivní výbojka s dutou katodou (Agilent), jako zdroj záření byla použita lampa výkonu 10 mA. Spektrometr pracoval při 196 nm se spektrální šířkou pásma 1,0 nm. Objem vzorku, který se vstříkoval do grafitové trubice, byl 20 μ l. Průtok argonu jako inertního plynu byl 300 ml/min. Korekce byla použita s intenzitou pole 0,8 Tesla. Selen byl stanoven za přítomnosti palladia jako chemického modifikátoru. Měření vzorků bylo vždy dvakrát opakováno.

Mikrovlnný rozklad pro stanovení AAS (atomová absorpční spektrofotometrie)

40 μ l mléka bylo pipetováno do tub, ve kterých probíhal rozklad. Kyselina dusičná (65 %) a peroxid vodíku (30 %) byly použity pro rozklad vzorků. Celkově bylo použito 500 μ l rozkládací směsi. Poměr mezi kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku byl 7:3. Vzorky byly stanoveny pomocí mikrovlnné trouby Microwave 3000 (Anton Paar GmbH, Rakousko), rotor MG-65. Program se opakuje v pravidelných desetiminutových intervalech, přičemž se výkon pohybuje od 50 W do 0 W (chlazení). Mikrovlnný výkon byl 100 W v hlavní části programu (délka 30 minut) při teplotě 140 °C.

Statistika (zpracování výsledků)

Data byla statisticky analyzována pomocí programu STATISTIKA. CZ verze 10.0 (StatSoft CR s.r.o., Česká republika). Výsledky jsou vyjádřené jako průměr \pm směrodatná odchylka. Statistická průkaznost byla sledována mezi skupinami pokusných zvířat za použití ANO

VA a Scheffého testu – dvoufaktorová analýza (první faktor skupina zvířat, druhý faktor odběr vzorku) pro parametry: dojvost, laktóza, tuk, bílkovina, somatické buňky, močovina, obsah selenu. Rozdíl mezi průměry při $P < 0,05$ byl považován za průkazný.

Krmivo	kg/den
Siláž kukužičná	22,00
Senáž jetelotravní - první seč	17,00
Senáž travní - první seč	10,00
Pšenice ozimá	3,00
Ječmen jarní	2,00
Detamin GA Spezial	0,15

Tabulka 3: Složení krmné dávky pro dojnice (množství v původní hmotě) Detamin GA Spezial – doplněk minerálních prvků pro přežvýkavce v ekologickém zemědělství (Germany)- tento minerální doplněk neobsahoval selen

Parametr	Jednotka	Množství
Zinek (jako oxid zinečnatý)	mg	8000
Mangan (jako oxid manganatý)	mg	6000
Měď (jako síran měďnatý pentahydrát)	mg	1200
Jód (jako jodičnan vápenatý)	mg	100
Kobalt (jako uhličitan kobalnatý)	mg	18

Tabulka 4: Složení minerálního doplňku pro dojnice Detamin GA Spezial (obsah je uveden v 1 kg premixu)

4 VÝSLEDKY

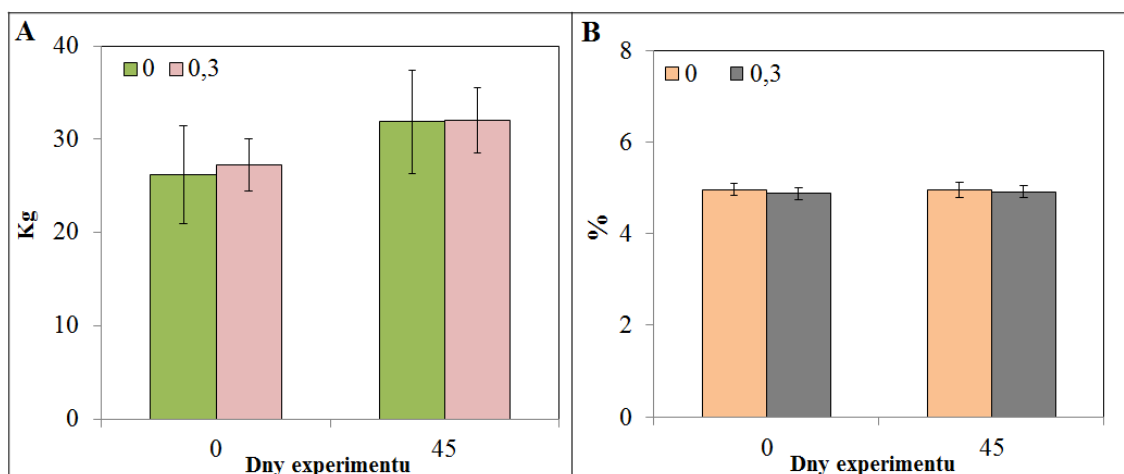
Při zkrmování selenu dojnicím v ekologickém chovu byl sledován obsah selenu v mléce zvířat před začátkem experimentu pod hranicí detekce. U experimentální skupiny dojníc bylo po aplikaci selenu do diety po 15 dnech sledováno detekovatelné množství selenu, které bylo neměnné po celou dobu trvání pokusu. U pokusné skupiny se hladina selenu pohybovala od 15. do 45. dne v intervalu od 0,13 do 0,15 µg/ml. U kontrolní skupiny bylo množství selenu po celou délku trvání pokusu pod hranicí detekce.

V rámci pokusného sledování byly rovněž hodnoceny kvalitativní a kvantitativní parametry vyprodukovaného mléka. Dojivost byla u obou skupin bez signifikantních změn. Na konci pokusu byl sledován nárůst u pokusné i kontrolní skupiny o 4,8 kg resp. 5,7 kg. U laktózy rovněž nebyly pozorovány žádné průkazné rozdíly. Hodnoty laktózy se pohybovaly ve fyziologickém rozmezí (od 4,6 do 4,8 %). Hodnoty dojivosti a laktózy jsou znázorněny v grafu 4A, 4B. U tuku došlo během pokusného sledování k poklesu u pokusné (o 1 %) i kontrolní (o 0,75 %) skupiny dojníc. Bílkovina v mléce experimentální i kontrolní skupiny krav byla po celou dobu experimentu prakticky na totožné hladině. Hodnoty tuku a bílkoviny v mléce dojníc jsou patrné z grafu 5A, 5B. Množství somatických buněk bylo signifikantně sníženo u pokusné skupiny dojníc o 128 tis./ml ($P < 0,05$). Snížení počtu somatických buněk bylo rovněž sledováno i u kontrolní skupiny (o 49 tis./ml). Koncentrace močoviny byla průkazně snížena u pokusné i kontrolní skupiny o 14,3 mg/100 ml ($P < 0,05$) resp. o 13,7 mg/100 ml ($P < 0,05$). Hodnoty somatických buněk a močoviny v mléce jsou patrné z grafu č. 6.

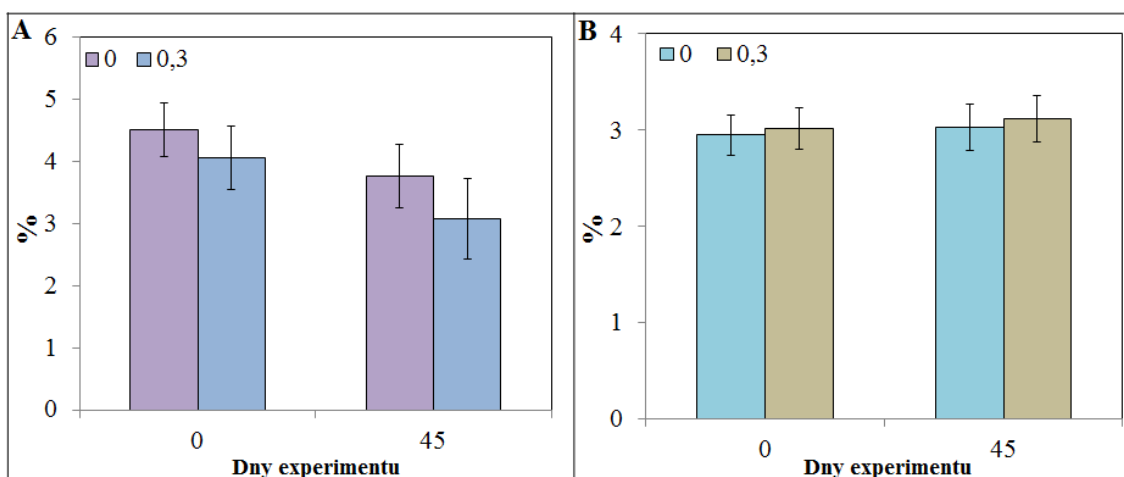
Ukazatel	Experimentální skupina				Kontrolní skupina			
	Den experimentu				Den experimentu			
	0	15	30	45	0	15	30	45
Obsah selenu (µg/ml)	PHD	0,15	0,13	0,14	PHD	PHD	PHD	PHD
±		0,01	0,05	0,03				

PHD - pod hranicí detekce

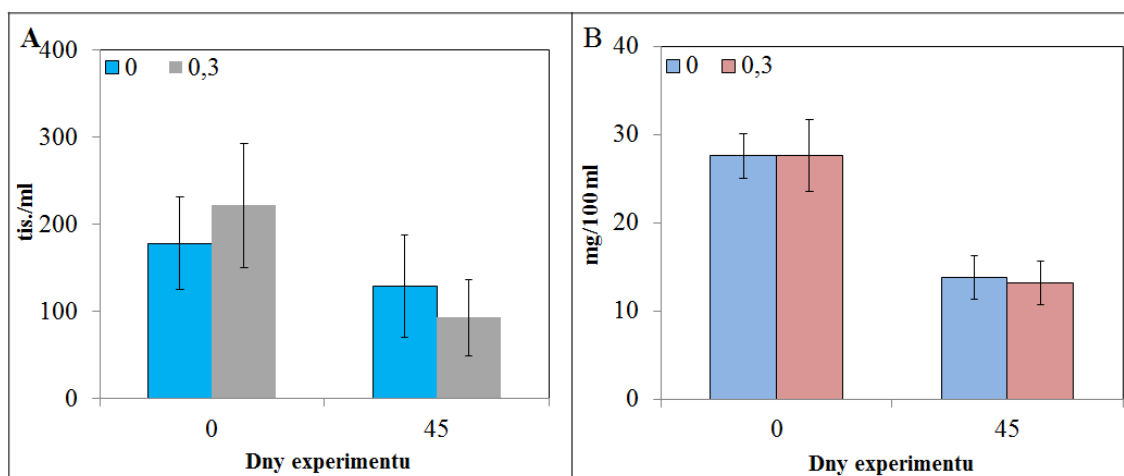
Tabulka 5: Vliv zkrmování selenu na obsah selenu v mléce a antioxidační potenciál



Graf 4: Vliv zkrmování selenu na dojivost (A) a obsah laktózy (B) u dojnic v ekologickém chovu



Graf 5: Vliv zkrmování selenu na obsah tuku (A), proteinu (B) u dojnic v ekologickém chovu



Graf 6: Vliv zkrmování selenu na množství somatických buněk (A), močoviny (B) u dojnic v ekologickém chovu

5 DISKUZE

V experimentu, byl dojnicím v ekologickém chovu zkrmován organický selen (0,3 mg/kg diety) za účelem zvýšení tohoto prvku v mléce krav (produkce mléka s vyšším obsahem selenu by mohla být významným zdrojem selenu ve výživě člověka). Rovněž byly sledovány kvantitativní a kvalitativní ukazatele vyprodukovaného mléka. V experimentu, ve kterém byl dojnicím podáván selen ve stejném množství (0,3 mg/kg diety) jako v našem případě, byla sledována vyšší hladina selenu v krevním séru (Hall a kol. 2014). Dávka selenu 0,278 mg/kg diety neovlivnila užitek dojníc ani koncentraci selenu v mléce. Nebyly pozorovány ani žádné signifikantní rozdíly v obsahu laktózy a bílkovin. Naopak došlo ke zvýšení mléčného tuku a ke snížení somatických buněk v mléce a omezení výskytu zánětu mléčné žlázy (Oltramari a kol. 2014). V našem sledování nebylo pozorováno významné zvýšení tučnosti mléka. Byl ovšem zjištěn, stejně jako v předchozí studii pokles somatických buněk u skupiny krav s doplněným selenem, což může naznačovat, že selen může mít z tohoto pohledu protizánětlivý účinek spojený s nižším výskytem mastitid. Koncentrace selenu se v našem případě na rozdíl od Oltramari a kol. (2014) podařilo ovlivnit. Naopak v případě dojivosti a obsahu bílkovin jsme v souladu s výše uvedenými autory. Jiným skupinám dojníc byl zkrmován selen s vitamínem E. Díky tomu, že tyto dva antioxidanty působí společně, byl očekáván vyšší synergický efekt. Selen a vitamín E byly aplikovány injekčně (selen byl aplikován 3 týdny před porodem). Z pohledu koncentrace selenu v krvi zvířat nebyl nalezen rozdíl mezi perorálním a injekčním podáním (Kafilzadeh a kol. 2014). Z tohoto pohledu je možné brát injekční podání selenu jako možnou alternativu pro aplikaci selenu. Při aplikaci selenu bylo při jednorázové dávce selenu injekčně podáno 48,4 mg selenu 21 dní před porodem. Po porodu byl u pokusné skupiny krav sledován pokles mastitid (o 13 %) a somatických buněk v mléce (Zigo a kol. 2014). Rovněž i v našem sledování byl po 30 dnech aplikace selenu sledován pokles somatických buněk o více než 50 %. Podle našich výsledků i závěrů ostatních autorů lze konstatovat, že selen funguje protizánětlivě a může snížit riziko výskytu zánětu mléčné žlázy. Jak udává jiná studie, obohacení mléka selenem může být alternativním zdrojem selenu v oblasti humánní výživy (jako funkční potravina, která má pozitivní vliv na zdraví konzumenta). Byly testovány dvě formy selenu. Anorganická, při které došlo ke zvýšení obsahu v mléce z 13,3 na 17,6 až 19,7 µg/l. a u organického selenu (selenomethionin) byl sledován nárůst z 13,9 na 24,6 až

54,8 µg/l. V obou případech byla použita dávka selenu 0,4 mg/kg diety (Meyer a kol. 2014). V našem případě byl sledován po zkrmování organického selenu nárůst na 13 až 15 µg/l. Vzhledem k tomu, že jsme zvolili o 0,1 mg Se nižší dávku než Mayer a kol. (2014) nebyl nárůst selenu tak výrazný. Kontrolní skupina dojnic bez přídatku selenu měla hladinu tohoto prvku pod hranicí detekce. Stále není jasné, zda může přídatek selenu do diety krav zvýšit jejich produkci a kvalitu mléka. Při experimentálním sledování, které trvalo 60 dní (v našem případě 30 dní) byla dojnícím podávána dávka selenu 0,3 mg/kg diety v organické nebo anorganické formě. Užiteklost pokusných zvířat nebyla nijak ovlivněna. Při hodnocení mléčných složek (procento tuku, bílkovin, laktózy) nebyly rovněž sledovány průkazné rozdíly. Při hodnocení antioxidačních parametrů v krvi dojnic byla sledována vyšší aktivita antioxidačních enzymů (GPx a katalasy) u skupiny krav, které přijímaly organický zdroj selenu. Rovněž selen v mléce byl významně vyšší při použití selenomethioninu (Gong a kol. 2014). V našem experimentu se nám podařilo tyto výsledky potvrdit. Na druhou stranu musíme konstatovat, že naším cílem nebylo porovnávat dvě formy selenu (organická, anorganická). Středem našeho zájmu byla aplikace selenomethioninu. Při použití organického selenu nebyla pozorována zvýšená produkce mléka, ani nebyly ovlivněny složky mléka. Antioxidační kapacita mléka nebyla z důvodů špatné měřitelnosti antioxidačních enzymů v našem případě měřena. Vzhledem k tomu, že selen je v České republice stále nedostatkovým prvkem v krmné dávce skotu, jeho karence může způsobit nejen snížení antioxidačního potenciálu, ale zejména zhoršení reprodukčních ukazatelů. Tento trend je všeobecně rozšířen v celé střední Evropě (Balicka-Ramisz a Jastrzębski 2014). Obohacování mléka selenem z důvodu nízké hranice mezi esencialitou a toxicitou vede u některých autorů k zamyšlení, zda takto obohacená surovina nemůže být potenciaálně nebezpečná pro mladý organismus, který má vyšší citlivost – např. kojenci (Schöne a kol. 2013). Stále panují rozdílné názory, která forma selenu je účinnější. Ve většině studií, při hodnocení účinku na antioxidační systém organismu a retenci selenu v organismu, vychází lépe organický zdroj selenu (Gunter a kol. 2013). Některé práce ovšem popisují, že i obsah nativního selenu v dietě krav 0,18 mg/kg diety měl stejný účinek jako organická a anorganická forma tohoto prvku v dávce 0,4 mg/kg diety (Salman a kol. 2013). V našem případě byl obsah selenu v základní krmné dávce 0,17 mg/kg diety (což je prakticky totožná dávka, která byla použita u výše uvedeného experimentu u kontrolní skupiny dojnic). V našem případě ovšem nebyl sledován podobný efekt zejména při koncentraci selenu v mléce,

kdy kontrolní skupina při této dávce selenu z nativních zdrojů měla hodnoty pod hranicí detekce. Některé práce uvádějí i alternativní podávání selenu pomocí jednorázové orální aplikace v období stání na sucho. Jednalo se o tabletu s celkovým obsahem selenu 79 mg (jako seleničitan sodný) podanou 17 až 25 dní před otelením. Tato jednorázová aplikace selenu zvýšila po otelení koncentraci selenu v krvi zvířat o 26 % (Geishauser a kol. 2012). I když se jedná o ekonomicky zajímavé výsledky, podle našeho názoru jsou pro zemědělskou praxi, z důvodu vysoké pracovní náročnosti, těžko použitelné. V našem pokusu byly použity dojnice z ekologického chovu. Práce (Pilarczyk a kol. 2011) se věnovala monitoringu koncentrace selenu u dojnic z ekologického a konvenčního chovu. V obou systémech byla zjištěna vysoká variabilita. V ekologickém chovu byla průměrná hladina selenu v mléce 0,016 µg/ml v konvenčním chovu se průměrná hladina selenu v mléce pohybovala na hladině 0,005 µg/ml. Jak ale sami autoři uvádí rozhodujícím faktorem obsahu selenu v mléce dojnic je jejich výživa a práce pouze monitorovala rozdílný systém chovu krav. V našem sledování jsme odhalili rozdílné výsledky. Kontrolní skupina dojnic měla hladinu v mléce pod hranicí detekce. Skupina pokusných krav měla po přidavku obdobnou hladinu selenu, kterou uvádí Pilarczyk a kol. (2011). V jejich práci ovšem není uvedeno, zda krávy, které byly sledovány, přijímaly premix selenu, který by zcela jistě ovlivnil publikované výsledky. Pokud vše srovnáme s našimi výstupy lze se domnívat, že v těchto chovech nebyl přírůstek selenu do krmné dávky realizován. Efekt selenu v potlačení výskytu zánětu mléčné žlázy v předchozí části byl již popsán. Nejen selen, ale i ostatní minerální látky s antioxidačním účinkem (zinek a měď) mohou potlačit množství somatických buněk a snížit riziko mastitid (Cortinhas a kol. 2010).

6 ZÁVĚR

Pokus byl proveden na ekologické farmě dojného skotu v Lesoňovicích u 20 kusů dojnic holštýnského plemene. Dojnice byly rozděleny do dvou vyrovnaných skupin tak, aby se nacházely ve stejné fázi laktace. U experimentální skupiny dojnic bylo po aplikaci selenu do diety po 15 dnech sledováno detekovatelné množství selenu, které bylo neměnné po celou dobu trvání pokusu. U pokusné skupiny se hladina selenu pohybovala od 15. do 45. dne v intervalu od 0,13 do 0,15 $\mu\text{g/ml}$. U kontrolní skupiny bylo množství selenu po celou délku trvání pokusu pod hranicí detekce.

V rámci pokusného sledování byly rovněž hodnoceny kvalitativní a kvantitativní parametry vyprodukovaného mléka. Dojivost byla u obou skupin bez statisticky významných změn. Bílkovina v mléce experimentální i kontrolní skupiny krav byla po celou dobu experimentu prakticky na totožné hladině. Množství somatických buněk bylo signifikantně sníženo u pokusné skupiny dojnic o 128 tis./ml ($P<0,05$). Snížení počtu somatických buněk bylo rovněž sledováno i u kontrolní skupiny (o 49 tis./ml). Koncentrace močoviny byla průkazně snížena u pokusné i kontrolní skupiny o 14,3 mg/100 ml ($P<0,05$) resp. o 13,7 mg/100 ml ($P<0,05$).

V našem sledování byl po 30 dnech aplikace selenu sledován pokles somatických buněk o více než 50 %. Podle našich výsledků i závěrů ostatních autorů lze konstatovat, že selen funguje protizánětlivě a může snížit riziko výskytu zánětu mléčné žlázy. Jak udává jiná studie, obohacení mléka selenem může být alternativním zdrojem selenu v oblasti humánní výživy (jako funkční potravina, která má pozitivní vliv na zdraví konzumenta).

POUŽITÁ LITERATURA:

ARTEEL, G. E., SIES, H. The biochemistry of selenium and the glutathione systém. *Enviro Toxicol Pharmacol* 10: 153-158, 2001.

ARTHUR, J. R. - MCKENZIE R. C. - BECKETT G. J.: Selenium in the Immune Systém, *J. NUTR.*, 2003, vol. 133, p. 1457-1459.

BAJAJ, M. E., EICHE, T. NEUMANN, J. WINTER a C. GALLERT. Hazardous con-centrations of selenium in soil and groundwater in North-West India. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2011, 189(3), 640–646 [cit. 2015-11-18]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.01.086. ISSN 03043894. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389411001087>.

BALICKA-RAMISZ, A., G. JASTRZĘBSKI Effect of selenium on the development of selected indicators of fertility in dairy cows. *Veterinary World*, 2014, 7(10), 863-867.

BARCELUUX, D. G.: Selenium, *Clinical Toxicology*, 1999, vol. 37, Iss. 2, p. 145-172.

BENEŠOVÁ, L. Vybrané funkční potraviny. In BENEŠOVÁ, L. a kol. *Potravinářství* 5. 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1999. s. 53-76. ISBN 80-86153-93-2.

COMBS, G. F., GRAY, W. P.: Chemopreventive Agents: Selenium, *Pharmacological Therapy*, 1998, vol. 79, Iss. 3, p. 179-192.

CORTINHAS, C. S., B. G. BOTARO, M. C. A. SUCUPIRA, F. P. RENNO, M. V. SANTOS Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organic source of zinc, copper and selenium. *Livestock Science*, 2010, 127(1), 84-87.

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 7.8.2015, <http://www.czso.cz/>, (http://www.apic-ak.cz/data_ak/15/k/Stat/Skot1501.pdf)

FINLEY, J. W.: Selenium Accumulation in Plant Foods, *Nutrition Reviews*, 2005, vol. 63, Iss. 6, p. 196-202.

GÁLLOVÁ, E. Stanovení polokovových prvků v potravinách. Brno: 2011. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí diplomové práce P. DIVIŠ.

GEISHAUSER, T. P., BRIDGER, R. MEYER Testing a selenium pill in dairy cows. *Praktische Tierarzt*, 2012, 93(10), 938-941.

GOLDHABER, S. B.: Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2003, vol. 38, p. 232-242.

GONG, J., L. NI, D. WANG, B. SHI, S. YAN Effect of dietary organic selenium on milk selenium concentration and antioxidant and immune status in midlactation dairy cows. *Livestock Science*, 2014, 170, 84-90.

GOODSON, Ch. C. et al.: Soil selenium uptake and root system development in plant taxa differing in Se-accumulating capability, *New Phytologist*, 2003, vol. 159, p. 391-401.

GUNTER, S. A., P. A. BECK, D. M. HALLFORD Effects of supplementary selenium source on the blood parameters in beef cows and their nursing calves. *Biological Trace Element Research*, 2013, 152(2), 204-211.

HALL, J. A., G. BOBE, W. R., VORACHEK, K., KASPER, M. G., TRABER, W. D., MOSHER, G. J., PIRELLI, M. GAMROTH Effect of Supranutritional Organic Selenium Supplementation on Postpartum Blood Micronutrients, Antioxidants, Metabolites, and Inflammation Biomarkers in Selenium-Replete Dairy Cows. *Biological Trace Element Research*, 2014.

HARTIKAINEN, H.: Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2005, vol. 28, p. 309-318.

HORKÝ P., P. JANČÍKOVÁ, J. SOCHOR, D. HYNEK, G. J. CHAVIS, B. RUTTKAY-NEDECKÝ, N. CERNEI, O. ZÍTKA, L. ZEMAN, V. ADAM, R. KIZEK. Effect of organic and inorganic form of selenium on antioxidant status of breeding boars ejaculate revealed by electrochemistry. *International journal of electrochemical science*, 2012, 7(10), 9643–9657 [cit. 2015-12-11] ISSN: 1452-3981.

HRABALOVÁ, A., ČAPOUNOVÁ, K., HORÁKOVÁ, S., Merboltice 26. 5. 2015
(KEZ, ČTPEZ tisková zpráva)

agris.cz/Content/files/main_files/110/188315/188315.docx

CHURCH, D. C. a POND W. G., 1989 *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 3rd ed.
John Wiley and Sons, New York.

JEŽKOVÁ, A., NÁŠ CHOV (Odborný časopis) 3.5.2016, <http://naschov.cz/pocet-dojnic-v-evrope-letos-klesne-a-mleko-poputuje-k-potrebnym/>

KAFILZADEH, F. H., KHEIRMANESH, H., KARAMI SHABANKAREH, M. R., TARGHIBI, E., MALEKI, M., EBRAHIMI, G. YONG MENG Comparing the effect of oral supplementation of vitamin E, injective vitamin e and selenium or both during late pregnancy on production and reproductive performance and immune function of dairy cows and calves. *Scientific World Journal*, 2014, 2014.

KALACĚ, P. Funkční potraviny: Kroky ke zdraví. České Budějovice: Dona, 2003. 130 s. ISBN 80-7322- 029-6.

KREJČOVÁ, S., Doušová, B., Kadlecová, R. *Chemické listy: Studium kontaminace zdrojů pitné vody selenem v obci Suchomasty (CHKO Český kras)*. Praha: Česká společnost chemická, 2013, **107**(3). ISSN 0009-2770.

KVÍČALA, J.: Selen v antioxidantivní ochraně organismu, *Diabet. Metabol. Endokrin. Výž.*, Suppl, 2001, roč. 4, č. 2, s. 32-33.

LEMLY, A. D.: Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example, *Aquatic Toxicology*, 2002, vol. 57, p. 39-49.

MÁCOVÁ, D.: Selen ve výživě člověka a jeho obsah v luštěninách, Diplomová práce, Masarykova Univerzita v Brně, Brno, 2003.

MEYER, U., K. HEERDEGEN, H. SCHENKEL, S. DÄNICKE, G. FLACHOWSKY Influence of various selenium sources on selenium concentration in the milk of dairy cows. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2014, 9(2), 101-109.

MOSNÁČKOVÁ, J., KOVÁČIKOVÁ, E., PPASTORKOVÁ, J., KOŠICKÁ, M., VOJTAŠŠÁKOVÁ, A., HOLČÍKOVÁ, K., SIMONOVÁ, E. - Selén v potravinách. In: Výskumný ústav potravinársky [online]. 2011 [cit. 2013-02-05]. Dostupné z: <http://www.vup.sk>

MURRAY, Robert K. *Harperova biochemie*. 2. české vyd., v H & H 1. Praha: H & H, 1998, 872 s. ISBN 80-85787-38-5.

NAVRÁTILOVÁ, P., VYHNÁLKOVÁ, J., JEŘÁBKOVÁ, J. Plotnová difuzní metoda pro stanovení reziduí inhibičních látek v mléce. (The plate diffusion method for determining inhibitory substance residues in milk). *Mlékařské listy - Zpravodaj*, 2014, vol. 25, no. 146, p. "IV"- "VII".

ODEH, R. M. CORNISH L. A.: Natural Antioxidant for the prevention of Atherosclerosis, *Pharmacotherapy*, 1995, vol. 15, Iss. 5, p. 645-659.

OLTRAMARI, C. E., M. G. PINHEIRO, M. S. DE MIRANDA, J. R. P. ARCARO, L. CASTELANI, L. M. TOLEDO, L. A. AMBRÓSIO, P. R. LEME, M. Q. MANELLA, I. ARCARO JÚNIOR Selenium sources in the diet of dairy cows and their effects on milk production and quality, on udder health and on physiological indicators of heat stress. *Italian Journal of Animal Science*, 2014, 13(1), 48-52.

PILARCZYK, B., R. PILARCZYK, A. TOMZA-MARCINIAK, A. KOWIESKA, J. WÓJCIK, P. SABLİK, A. TYLKOWSKA, D. HENDZEL Selenium concentrations in the serum and milk of cows from organic and conventional farms in West Pomerania. *Tierärztliche Umschau*, 2011, 66(6), 248-253.

PITTER P. *Hydrochemie*. 4. aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.

RAKOVA, T. *Selen ve výživě hospodářských zvířat*. Brno, 2015. Bakalářská Práce, Mendelova Univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Vedoucí práce Horký P.

RAYMAN, M. P.: The importance of selenium to human health, *Lancet*, 2000, vol. 356, p. 233-241.

SALMAN, S., D. DINSE, A. KHOL-PARISINI, H. SCHAFFT, M. LAHRSEN-WIEDERHOLT, M. SCHREINER, L. SCHAREK-TEDIN, J. ZENTEK Colostrum and milk selenium, antioxidative capacity and immune status of dairy cows fed sodium selenite or selenium yeast. *Archives of Animal Nutrition*, 2013, 67(1), 48-61.

SCHÖNE, F., O. STEINHÖFEL, K. WEIGEL, H. BERGMANN, E. HERZOG, S. DUNKEL, R. KIRMSE, M. LEITERER Selenium in feedstuffs and rations for dairy cows including a view of the food chain up to the consumer. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2013, 8(4), 271-280.

SCHMIDT R. H. a G. E. RODRICK. *Food safety handbook*. Hoboken: Wiley-Interscience, 2003, 850 s. ISBN 0-471-21064-1.

SCHRAUZER, G. N.: Selenomethionine: A Review of Its Nutritional Significance, Metabolism and Toxicity, *J. Nutr.*, 2000, vol. 130, p. 1653-1656.

SUNDE, R. A.: Selenium, In: Bowman, B. A. – Russel, R. M.: Present Knowledge in nutrition, 9th edition, Washington DC: ILSI Press, 2001, p. 352-364.

VAŠKOVÁ, P. Selen v lidské výživě. Brno: 2006. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí bakalářské práce TOTUŠEK J.

VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin II*, Tábor: Osis, 1999. ISBN 80-86659-01-1.

VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ J. *Chemie potravin*. 3. rozšířené a přepracované vydání. Tábor: Osis, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6

WASHINGTON, National Research Council, Subcommittee on Sheep Nutrition (1985). *Nutrient requirements of sheep*. 6th ed., National Academy Press, ISBN 0309035961.

WASOWICZ, W.: The Role of Essential Elements in Oxidative Stress, *Comments on Toxicology*, 2003, vol. 9, p. 39-48.

WHO.: Selenium in drinking water, Guidelines for drinker-water quality, 2nd edition, vol.2., Health criteria and other supporting information, Geneva, 1996.

ZADÁK, Z.: Výživa v intenzivní péči, Praha: Grada Publishing, 2002. ISBN 80-247-0320-3.

ZIGO, F., Z. FARKASOVÁ, J. ELECKO, M. LAPIN, M. CHRIPKOVÁ, A. CZERSKI Effect of parenteral administration of selenium and vitamin E on health status of mammary gland and on selected antioxidant indexes in blood of dairy cows. Polish journal of veterinary sciences, 2014, 17(2), 217-223.

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: <i>Potraviny bohaté na selen</i>	12
Tabulka 2: <i>Chemické složení mléka</i>	26
Tabulka 3: <i>Složení krmné dávky pro dojnice</i>	33
Tabulka 4: <i>Složení minerálního doplňku pro dojnice</i>	33
Tabulka 5: <i>Vliv zkrmování selenu na obsah selenu v mléce a antioxidační potenciál</i>	34

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: <i>Vývoj produkce mléka</i>	8
Graf 2: <i>Srovnání užítkovosti dojníc</i>	9
Graf 3: <i>Počet dojníc v EZ v zemích Evropské unie</i>	10
Graf 4 : <i>Vliv zkrmování selenu na doživost</i>	35
Graf 5: <i>Vliv zkrmování selenu na obsah tuku</i>	36
Graf 6: <i>Vliv zkrmování selenu na množství somatických buněk a močoviny</i>	36

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č.1: <i>Odběr mléka</i>	32
--	----

SEZNAM ZKRATEK

ANOVA	(Analysis of variance) - Analýza rozptylu
ATP	Adenosintrifosfát je důležitý nukleotid.
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
GPx	glutathion peroxidáza
mRNA	mediátorová Ribonukleová kyselina
ROS	Reaktivní formy kyslíku (Reactive Oxygen Species)
TMR	(total mixed ration) - Směsná krmná dávka
tRNA	transferová RNA je druh RNA v buňce, která se podílí na proteosyntéze
UZEI	Ústav zemědělské ekonomiky a informací
WHO	World Health Organization, (též SZO) je Světová zdravotnická organizace