

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Využití filtrátu z výroby tekutých ochucovadel jako
potenciálního krmného doplňku**

Diplomová práce

Bc. Milan Věrtelář

Výživa zvířat a dietetika

Ing. Vladimír Plachý, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Využití filtrátu z výroby tekutých ochucovadel jako potenciálního krmného doplňku" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 7.7.2020

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu mé diplomové práce Ing. Vladimírovi Plachému, Ph.D. za lidský přístup, cenné rady a připomínky k výzkumu dané problematiky. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Martinu Matušovi za pomoc při experimentálním převažování kuřat a za pomoc při laboratorním stanovování zkoumaných látek. Chtěl bych též poděkovat svým nejbližším za trpělivost, poznámky ke stylistické úpravě a podporu při psaní diplomové práce. Děkuji.

Využití filtrátu z výroby tekutých ochucovadel jako potenciálního krmného doplňku

Souhrn

Cílem předkládané diplomové práce bylo prozkoumat možnost využití filtrátů (odpadní produkt) z výroby tekutých ochucovadel jako krmného aditiva během výkrmu brojlerových kuřat. Byla provedena analýza čtyřech poskytnutých filtrátů (TSH, TSHB-N, TSH-N a TSH-BR), u nichž byl zjišťován obsah základních živin, aminokyselin, minerálních látek a huminových a fulvonových kyselin, které vznikají během výroby tekutých ochucovadel díky Maillardově reakci. Vstupními surovinami, ze kterých analyzované filtráty vznikaly, byly sójové produkty.

I přesto, že všechny filtráty pocházely ze stejné suroviny, bylo prokázáno, že mezi nimi byly statisticky významné rozdíly. Obsah aminokyselin (188 g/kg), dusíkatých látek (31,81 %) i fulvokyselin (6,18 %) byl nejvyšší u filtrátu TSH-BR. Množství organické hmoty (75,26 %), hrubé vlákniny (6,78 %), tuku (6,26 %) a huminových kyselin (11,40 %) pak bylo nejvyšší u filtrátu TSH-N. A nakonec nejvíce popelovin (30,1 %), a tudíž i většiny minerálních látek, bylo zjištěno u vzorku TSH. Z hlediska potravinové bezpečnosti byl sledován obsah rtuti, který byl u všech filtrátů nižší, než stanovují požadavky Evropské unie. Po provedení základních analýz byl filtrát TSH-BR zakomponován do krmné směsi, která byla zkrmována během experimentálního výkrmu.

Do výkrmu bylo zařazeno 192 jednodenních kuřat hybridní kombinace Ross 308. Kuřata byla rozdělena do 4 skupin (K – kontrola bez přidaného filtrátu $n = 69$; A – 0,5 % filtrátu $n = 39$; B – 1 % filtrátu $n = 40$; C – 1,5 % filtrátu $n = 44$) a byla vykrmována po dobu 35 dnů v souladu s metodikou firmy, jež produkuje rodičovská hejna brojlerů. V rámci výkrmu, který probíhal v Demonstrační a pokusné stáji na České zemědělské univerzitě v Praze, byla všechna kuřata v týdenních intervalech čtyřikrát individuálně převážena a byla zaznamenávána spotřeba a konverze krmiva.

Bylo zjištěno, že při 1% koncentraci filtrátu v krmné směsi (skupina B), dosahovala kuřata statisticky průkazně oproti skupině K i A nejnižší konverze krmiva (1,72 kg směsi/kg hmotnosti kuřete), nejvyšší průměrné váhy na konci výkrmu (1,718 kg) i nejvyšších přírůstků (0,658 kg/čtvrté vážení). Skupiny A i C na konci výkrmu dosahovaly lepších výsledků než skupina kontrolní, jež byla ve všech sledovaných parametrech nejhorší (konverze 1,823 kg; hmotnost na konci výkrmu 1,3515 kg a přírůstek 0,4568 kg/čtvrté vážení). Rozdíly mezi skupinami B a C nebyly na konci výkrmu statisticky průkazné.

Lze tak konstatovat, že přídavek filtrátu z výroby tekutých ochucovadel měl na všechny sledované parametry pozitivní účinky.

Klíčová slova: huminové kyseliny, huminové látky, fulvokyseliny, živiny, krmné aditivum, výživa hospodářských zvířat

Using the filtrate from the production of liquid seasonings as a potential feed supplement

Summary

The aim of this thesis was to investigate the possibility of using filtrates (waste products) from the production of liquid flavorings as a feed additive during the fattening of broiler chickens. An analysis of the four filtrates provided (TSH, TSHB-N, TSH-N and TSH-BR) was performed, which determined the content of basic nutrients, amino acids, minerals, and humic and fulvic acids, which are formed during the production of liquid flavors due to the Maillard reaction. The starting material from which the analyzed filtrates were formed, were soy products.

Although all filtrates originated from the same raw material, it was shown that there were statistically significant differences between them. The content of amino acids (188 g/kg), nitrogenous substances (31.81%), and fulvic acids (6.18%) was the highest in the TSH-BR filtrate. The amount of organic matter (75.26%), crude fiber (6.78%), fat (6.26%), and humic acids (11.40%) was the highest in the TSH-N filtrate. Finally, most ashes (30.1%), and therefore most minerals, were found in the TSH sample. Because of food safety, the mercury content was monitored and was lower for all filtrates than the requirements of the European Union. After basic analysis, the TSH-BR filtrate was incorporated into the feed mixture, which was fed during the experimental fattening.

A total of 192 one-day-old chickens of the Ross 308 hybrid combination were included in the fattening. The chickens were divided into 4 groups (K – a control group without added filtrate, n = 69; A – 0.5% filtrate, n = 39; B – 1% filtrate, n = 40; C – 1.5% of filtrate, n = 44) and were fattened for 35 days in accordance with the methodology of the company producing parental flocks of broilers. As a part of the fattening, which took place in the Demonstration and Experimental Stables at the Czech University of Life Sciences in Prague, all chickens were weighed individually four times at weekly intervals and feed consumption and conversion was recorded.

It was found that at 1% filtrate concentration in the feed mixture (group B), the chickens achieved statically significant lowest feed conversion (1.72 kg of mixture/kg of chicken weight), the highest average weight at the end of fattening (1.7181 kg), and the highest increments (0.658 kg/fourth weighing) compared to group K and A. The groups A and C at the end of fattening achieved better results than the control group, which was the worst in all monitored parameters (conversion 1.823 kg; weight at the end of fattening 1.3515 kg; increase 0.4568 kg/fourth weighing). The differences between groups B and C were not statistically significant at the end of fattening.

It can be stated that the addition of filtrate from the production of liquid flavors had positive effects on all monitored parameters.

Key words: humic acids, humic substances, fulvic acids, nutrients, feed additive, livestock nutrition

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Výkrm brojlerových kuřat	10
3.2	Dusíkaté látky, bílkoviny a aminokyseliny ve výživě drůbeže	14
3.2.1	Základní rozdělení aminokyselin.....	15
3.2.2	Limitující aminokyseliny a nadbytek a nedostatek aminokyselin v krmné dávce (toxicita)	16
3.2.3	Stravitelnost aminokyselin a koncept ideální bílkoviny	17
3.2.4	Aminokyseliny v organismu a jejich metabolity	20
3.3	Minerální látky ve výkrmu kuřat	20
3.3.1	Sodík a chlor (sůl) ve výživě kuřat	21
3.3.1.1	Intoxikace solí u drůbeže.....	22
3.4	Tekutá ochucovadla a jejich výroba	24
3.4.1	Kyselá hydrolýza a složení kyselého hydrolyzátu	25
3.4.2	Enzymatická hydrolýza	28
3.5	Krmná aditiva.....	28
3.6	Huminové látky.....	30
3.6.1	Původ huminových látek	30
3.6.2	Struktura a vlastnosti huminových látek.....	32
3.6.3	Rozdělení huminových látek	33
3.6.3.1	Fulvonové kyseliny	33
3.6.3.2	Huminové kyseliny.....	34
3.6.3.3	Huminy	34
3.6.4	Využití huminových látek jako krmného aditiva.....	34
3.6.4.1	Huminové kyseliny jako růstový stimulant	35
3.6.4.2	Huminové kyseliny a jejich účinek na stravitelnost a produkci	35
3.6.4.3	Vliv huminových kyselin na ukládání rizikových prvků do organismu	36
3.6.4.4	Vliv kyseliny huminové na růst plísní, imunitní systém a mikrobiální aktivitu	36

4	Metodika	38
4.1	Analyzovaný materiál	38
4.1.1	Stanovení sušiny zkoumaného materiálu.....	38
4.1.2	Stanovení popelovin materiálu	38
4.1.3	Stanovení minerálních látek ve vzorku pomocí optické emisní spektrometrie	38
4.1.4	Stanovení dusíkatých látek (dusíku) metodou podle Kjeldahla na přístroji Kjelttec 2400	39
4.1.5	Stanovení aminokyselin pomocí kyselé hydrolyzy a jejich analýza na přístroji AAA 400	39
4.1.6	Stanovení tuku na přístroji SER 146 (Velp)	40
4.1.7	Stanovení hrubé vlákniny s pomocí přístroje ANKOM220 Fiber Analyzer	40
4.1.8	Gravimetrické stanovení huminových frakcí ve vzorku.....	41
4.2	Výkrm kuřat s využitím filtrátu	42
4.2.1	Krmné směsi využití při výkrmu.....	43
4.3	Statistické vyhodnocení	43
5	Výsledky	44
5.1	Výsledky analýzy filtrátu z výroby tekutých ochucovadel	44
5.2	Výsledky výkrmu	47
6	Diskuze	51
7	Závěr	56
8	Literatura	57
9	Samostatné přílohy	I
9.1	Složení krmných směsí	I
9.2	Rozbor základních živin krmných směsí BR1 a BR2	V
9.3	Výsledky výkrmu	VI

1 Úvod

Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) (2017) očekává, že do roku 2050 vzroste počet lidí ze současných 7,8 miliard (Worldometers.info, 2020) na 10 miliard. Trend rostoucí populace a předpokládané prosperity znamená, že se i nadále bude zvyšovat poptávka po potravinách živočišného původu (FAO 2009; FAO 2017). Největší nárůst produkce by pak měl být zaznamenán u drůbežního masa, jehož produkce je nejsnazší a zároveň představuje ze všech živočišných produktů nejnižší ekologickou zátěž (FAO 2009; Springmann et al. 2016).

Aby mohl být uspokojen očekávaný nárůst poptávky, bude muset být navýšen objem produkce drůbežního masa. Jelikož není možné pro živočišnou výrobu neustále zabírat nová území, bude zapotřebí, aby se její výroba i nadále zefektivňovala (Springmann et al. 2016). Toho lze prakticky dosáhnout dvěma hlavními způsoby. Vhodným výběrem genetického materiálu a optimalizací krmných směsí. Pro ilustraci: díky selekci klesnul počet dní nutných k dosažení porážkové hmotnosti (2,3 kg) brojlerů z 52 dnů v roce 1995 na 36 dnů v roce 2017 (Aftab 2019). To znamená, že se v průměru snížil porážkový věk o jeden den každého 1,37 roku. Nelze však předpokládat, že by tento trend díky vhodnému výběru genetického materiálu postupoval stejně rychlým tempem i v budoucnosti. Producenti drůbežního masa se tak snaží zvýšit výkonnost kuřecích brojlerů využitím maximálně vybalancovaných krmných směsí s přídavkem aditiv, které by ještě výkonnost podporovaly.

Pryč jsou doby, kdy se růst brojlerů podporoval podáváním antibiotik. Ta byla na území Evropské Unie zakázána již v roce 2006, a tak bylo nutné najít jiné druhy růstových stimulantů (Mutus et al. 2006). V současnosti jsou jako krmná aditiva pro urychlení růstu využívány organické kyseliny, rostlinné extrakty, enzymy, probiotika a prebiotika či huminové a fulvonové kyseliny (Arif et al. 2019; Griggs & Jacob 2005; Dhama et al. 2015; Alagawany et al. 2018). K nim by se v budoucnu mohly přidat i filtráty z výroby tekutých ochucovadel, jež jsou zajímavým koktejlem látek, které by růst brojlerů mohly podporovat.

Tekutá ochucovadla vznikají nejčastěji kyselou hydrolyzou rostlinných bílkovin. To je rozkladná reakce, během které jsou rozrušeny všechny úrovně struktury bílkovin. Cílem kyselé hydrolyzy je získat volné aminokyseliny zastoupené v bílkovině, které jsou nositelem požadované chuti (Aaslyng et al. 1998). Volné aminokyseliny, které se nacházejí jak ve finálním produktu, tak ve filtrátu, který při výrobě vzniká a je předmětem výzkumu diplomové práce, jsou pro organismus snadno využitelné a mohou tak být jedním z faktorů, jež pozitivně ovlivňuje růst organismu (Hou et al. 2017). Dalším faktorem, který by na přírůstek kuřat mohl mít vliv, a jemuž je věnována podstatná část literární rešerše, jsou huminové a fulvonové kyseliny. Tyto organické látky, které mají průkazně pozitivní účinky na výkrm kuřat (Arif et al. 2019), se ve zkoumaných filtrátech nejspíše objevují jako důsledek Maillardovy reakce, která při výrobě tekutých ochucovadel probíhá. Třetím okruhem, kterému se v literární části věnujeme, jsou minerální látky s důrazem na sůl (NaCl). Ta vzniká jako důsledek neutralizace kyseliny chlorovodíkové (HCl) hydroxidem sodným (NaOH) během výroby tekutých ochucovadel a je ve větším množství obsažena i ve zkoumaných filtrátech.

Experimentální část se pak zabývá výzkumem možnosti využití filtrátu z výroby tekutých ochucovadel jako krmného doplňku pro podporu užitkovosti brojlerových kuřat.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cíl práce: Cílem práce je vyhodnocení filtrátu, tedy zbytku z výroby tekutých ochucovadel, jako potenciálního krmného aditiva s využitím ve výživě hospodářských zvířat.

Hypotéza 1: Filtráty z výroby tekutých ochucovadel mohou být zdrojem živin zařazovaných do krmných směsí pro hospodářská zvířata.

Hypotéza 2: Filtráty z výroby tekutých ochucovadel mohou být zdrojem huminových látek jako krmného aditiva pro zlepšení minerální výživy hospodářských zvířat.

Hypotéza 3: Filtráty z výroby tekutých ochucovadel mohou v krmných směsích pro brojlerová kuřata nahradit sůl.

3 Literární řešerše

3.1 Výkrm brojlerových kuřat

Když v roce 1935 vyšla statistická ročenka vydaná americkým ministerstvem zemědělství, objevilo se v ní poprvé slovo broiler. Ročenka uvádí, že v roce 1934 bylo v USA vykrmeno na 34 milionů kuřat masných plemen nazvaných podle anglického výrazu „to broil“ = grilovat. Až úsměvné by se mohly jevit hodnoty, kterých tato kuřata dosahovala. Průměrná hmotnost totiž byla pouze 1,29 kg, konverze krmiva 4,4 kg, úhyn činil 14 % a délka výkrmu byla dlouhých 14 týdnů (Skřivan et al. 2000). S tím, jak se zvyšovalo poznání v chovu brojlerových kuřat, hlavně v oblasti genetiky a šlechtění, se snižovala i doba potřebná k výkrmu. Již v roce 1975 se tato doba zkrátila na 56 dnů při konverzi krmiva 2,8 kg a porážkové váze přes 2 kilogramy (Zeman et al. 2015). Dnešní brojleři potřebují na 1 kg přírůstkem 1,7–1,8 kg krmné směsi, dají se vykrmit do porážkové hmotnosti 2 a více kilogramů za dobu kolem 35 dní, přičemž úhyn nepřevyšuje 5 % (Skřivan et al. 2000; Zelenka 2014; Zeman et al. 2015; Aftab 2019).

Drůbež je ve velkochovech krmena pouze kompletními krmnými směsmi, které obsahují ideální vyvážení živin, jež jsou potřebné pro správný růst (Tabulka 1). Základem směsi je obilná (energetická) složka, která se doplňuje vysokohodnotnými rostlinnými (např. sójový extrahovaný šrot), případně živočišnými (rybí moučka) bílkovinami. Dalšími částmi krmiva jsou přirozené zdroje vitaminů (kvasnice, úsušky, obilné klíčky), minerální látky a vhodně doplněné aminokyseliny (Tabulka 2). Krmiva pro drůbež jsou vyráběna v širokém sortimentu podle druhu a kategorie drůbeže. Aplikují se v sypké i granulované formě, přičemž granulovaná forma vede ke snížení ztrát krmiva a zvýšení produkce. Její nevýhodou jsou však zvýšené finanční náklady při jejich výrobě (Gálik et al. 2015).

Samotný výkrm brojlerových kuřat lze rozdělit do několika období (Kodeš et al. 2003; Zelenka 2014; Tůmová et al. 2019):

- období in ovo (před vylíhnutím),
- od vylíhnutí po 10. až 15. den, kdy je předkládána směs BR1 (starter),
- od 10. až 15. dne po 25. až 32. den, kdy je zkrmována směs BR2 (grower),
- od 25. až 32. dne do porážky, kdy je využívána krmná směs BR3 (finisher),
- (někdy bývá využívána i dokrmová směs BR4).

Jelikož se porážkový věk brojlerových kuřat neustále snižuje, je vhodné začít brojlery přikrmovat ještě před vylíhnutím (Zelenka 1998; Zelenka 2014). Uni a Ferket (2001) říkají, že se po aplikaci nejvýše 1 ml izotonického roztoku do amniové vrstvy pod skořáčku mezi 17. až 18. dnem zvýšila líhivost a životaschopnost kuřat po vylíhnutí.

Ačkoliv má trávicí trakt v období bezprostředně po vylíhnutí omezenou schopnost trávit a vstřebávat živiny, je zapotřebí poskytnout kuřatům odpovídající krmivo (Zelenka 2014). Kuřata sice ještě několik prvních dní (5–7) po vylíhnutí stále získávají živiny a protilátky ze žloutkového vaku, který se postupně vstřebává, ale nedostatek přísunu krmiva a vody během prvních 48 hodin způsobuje pomalejší vývoj trávicí trubice a menší plochu střevního epitelu,

což vede k celkově pomalejšímu růstu kuřete, s čímž je spojena ekonomická ztráta (Zelenka 2014; Tůmová et al. 2019). První dva týdny života charakterizuje rozvoj trávicího traktu, který je až čtyřikrát rychlejší v porovnání s intenzitou růstu zbytku těla (Tůmová et al. 2019). V počáteční fázi výkrmu je kuřatům předkládána adlibitně granulovaná krmná směs BR1 (starter), jejímž charakteristickým znakem je to, že obsahuje nejvíce dusíkatých látek ze všech krmných směsí používaných během výkrmu (Tabulka 1). Tyto N-látky musí být ve správném poměru s energií krmiva (Tůmová et al. 2019). Poměr metabolizovatelné energie v kJ krmiva k dusíkatým látkám v gramech vyjadřuje poměr živin, který je ve směsi BR1 nejnižší (54,8), což značí, že je v této směsi použito nejvíce dusíkatých látek v poměru k energii krmiva. Úkolem této krmné směsi je podpořit žravost kuřete a podnítit tak jeho potenciální růst. Starter se tak kuřatům předkládá jak v krmítku, tak na papír kolem něj (Zelenka 2014).

Následující dny a týdny jsou charakterizovány nejintenzivnějším růstem, který je spojen s tvorbou svaloviny a kostí (Ledvinka et al. 2009). Kuřatům je podávána směs BR2, a to po dobu 14 až 16 dnů. Zelenka (1998, 2014) uvádí, že v takové směsi má být 21 % dusíkatých látek, avšak Tůmová et al. (2019) říkají, že by měl být obsah dusíkatých látek nižší, a to 18–20 %. Poměr živin se v tomto krmivu zvyšuje na 63,3, což značí nárůst energie a úbytek dusíkatých látek (Tabulka 1). Vzhled krmiva v tomto období má nejčastěji podobu granulí ve velikosti od 3 do 5 mm (Kodeš et al. 2003).

Poslední fáze výkrmu je charakterizována předkládáním krmné směsi BR3, která má opět formu granulí (Kodeš et al. 2003). Poměr živin ve směsi BR3 je opět vyšší, což značí méně dusíkatých látek v krmivu. Obvykle se toto krmivo zkrmuje od 25. dne výkrmu kuřete do jeho porážky s ohledem na ochrannou lhůtu, kdy takové krmivo nesmí obsahovat antikokcidika (Zelenka 2014; Tůmová et al. 2019). Vývoj kokcidii totiž trvá právě 5 až 7 dní, v závislosti na druhu (Kodeš et al. 2003).

Delší výkrm kuřat, který je využíván u kuřat pomalu rostoucích (lahůdkových) či u kohoutků s hmotností vyšší než 2,5 kg, by obstarávala krmná směs BR4, která by měla za úkol převážně zabránit nadbytečnému tučnění (Zelenka 2014). Po ukončení růstu totiž ustává tvorba svalstva a kostí, a začíná se tvořit a ukládat tuk. Bod zlomu, kdy začne převládat tvorba tuku nad růstem kostry a svalů, se nazývá bod inflexe (Ledvinka et al. 2009).

Během výkrmu je zapotřebí také sledovat jeho úroveň, kterou lze chápat jako ekonomiku výkrmu a běžně ji charakterizují tyto vlastnosti (Ledvinka et al. 2009):

- délka výkrmu,
- dosažená živá hmotnost,
- spotřeba krmiva na 1 kg přírůstku (konverze),
- úhyn.

Lepší úrovně výkrmu lze dosáhnout i odděleným výkrmem kohoutků a slepiček, kdy stejné pohlaví zaručuje nižší rozptyl v hmotnosti. Při odděleném výkrmu jsou slepičky a kohoutci od 10. dne života krmeni rozdílnými krmnými směsmi. Slepičky dosahují horší konverze krmiva, avšak u kohoutků trvá výkrm déle a jsou poráženi ve vyšších hmotnostech (Zelenka 2014; Tůmová et al. 2019). Výkrm slepiček déle než 42 dní je nerentabilní, protože je cena krmiva vyšší než potenciální cena vyprodukovaného masa (Zeman et al. 2015).

Tabulka 1 Potřeba živin v 1 kg krmné směsi pro vykrmovaná kuřata (Zelenka et al. 2007)

	Dny výkrmu						
		od 1. do 10.	od 11. do 24. až 28.	od 25. až 29.		od 43.	
		do konce výkrmu					
	Pohlaví kuřat ¹⁾						
	K i S ²⁾	KS i K ³⁾	S ⁴⁾	KS i K	S	K	
MEn ⁵⁾	MJ	12,6	13,3	13,3	13,4	13,4	13,4
Dusíkaté látky	g	230	210	210	190	190	180
Kyselina linolová	g	12,5	12	12	10	10	10
Veškeré aminokyseliny							
Lysin	g	14,1	12,2	11,8	10,4	9,9	9,7
Methionin	g	5,3	4,6	4,5	4	3,8	3,8
Methionin + cystein	g	10,3	9,1	8,8	7,9	7,5	7,5
Threonin	g	9,4	8,3	8	7,2	6,8	6,8
Tryptofan	g	2,4	2,1	2,1	1,8	1,8	1,8
Arginin	g	14,6	12,8	12,4	11	10,5	10,4
Stravitelné aminokyseliny							
s. lysin	g	12,5	10,9	10,6	9,3	8,9	8,7
s. methionin	g	5	4,4	4,2	3,8	3,6	3,5
s. methionin + cystein	g	9,3	8,2	8	7,1	6,8	6,8
s. threonin	g	7,9	7	6,8	6	5,8	5,7
s. tryptofan	g	2,1	1,8	1,8	1,6	1,5	1,5
s. arginin	g	13,1	11,5	11,2	10	9,5	9,4
Ca	g	10	9	9	8,5	8,5	8,5
P využitelný	g	5	4,5	4,5	4,2	4,2	4,2
Mg	g	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
K ⁶⁾	g	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
Na ⁶⁾	g	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Cl	g	1,6-2,2	1,6-2,2	1,6-2,2	1,6-2,2	1,6-2,2	1,6-2,2
Mn	mg	100	100	100	100	100	100
Zn	mg	100	100	100	80	80	80
Fe	mg	80	80	80	80	80	80
Cu	mg	8	8	8	8	8	8
I	mg	1	1	1	1	1	1
Se	mg	0,2	0,2	0,2	0,15	0,15	0,15
Vit. A	tis.m.j.	14	12	12	11	11	11
D₃	tis.m.j.	5	5	5	4	4	4
E	mg	80	60	60	50	50	50
K₃	mg	4	3	3	2	2	2
B₁	mg	3	2	2	2	2	2
B₂	mg	8	6	6	5	5	5
B₆	mg	5	4	4	3	3	3
B₁₂	mg	0,02	0,02	0,02	0,015	0,015	0,015
Biotin	mg	0,18	0,18	0,18	0,05	0,05	0,05

Kys. listová	mg	2	1,8	1,8	1,5	1,5	1,5
Kys. nikotinová	mg	60	60	60	40	40	40
Kys. pantotenová	mg	16	16	16	15	15	15
Cholin	mg	1 800	1 600	1 600	1 400	1 400	1 400

- 1) KS – společný výkrm kuřat obou pohlaví
K – oddělený výkrm kohoutků
S – oddělený výkrm slepiček
- 2) směsi se spotřebuje 260 g pro 1 kuře
- 3) směsi se spotřebuje 1150–1700 g při společném výkrmu kuřat obou pohlaví a 1200–1800 g při výkrmu kohoutků
- 4) směsi se spotřebuje 1100–1600 g pro 1 slepičku
- 5) od věku 10 dní lze použít až o 0,5 MJ nižšího obsahu MEn; úměrně snížení obsahu energie je třeba zároveň snížit obsah živin, především aminokyselin
- 6) zařazujeme-li do směsi ionoforní látky, je třeba dodržet obsah K a Na doporučený jejich výrobcem

Nejen správná výživa ovlivňuje růst kuřete. Jelikož je růst polygenní znak, je ovlivněn vnitřními a vnějšími faktory. Z vnitřních faktorů to je převážně vliv genotypu, ve kterém se promítá příslušnost ke konkrétnímu plemeni, linii nebo konkrétní kombinaci a genetické založení, kdy se dědičné založení ze strany otce a matky uplatňuje různě v konkrétních fázích vývoje kuřete (Ledvinka et al. 2009). Je obecně platné, že dobrý genetický základ zdraví přináší lepší ekonomické výsledky než investice do úprav stájí, veterinárních programů anebo úprav krmných směsí (Zeman et al. 2015). Mezi vnější faktory růstu pak kromě správné výživy náleží: teplota, vlhkost, doba osvětlení, ventilace, hustota osazení ve stáji či lidský faktor (Tabulka 2) (Skřivan et al. 2000; Ledvinka et al. 2009; Tůmová et al. 2019).

Tabulka 2 Faktory mající vliv na užitkovost a ekonomiku výkrmu brojlerů (Zeman et al. 2015)

Výživa	Složení směsi	Pšenice Kukuřice Sójový ex. šrot Řepkový ex. šrot	
	Obsah živin	Energie	Vyšší je lepší Složení tuku
		Hrubý protein	Methionin Threonin Arginin Tryptofan
		Obsah vlákniny	Vyšší je horší
		Sacharidy	
		Minerály	
		Vitamíny	
	Ostatní aditiva		
Genetika	Hybrid	Vyrovnanost materiálu	
		Kvalita kuřat	
		Rodičovské hejno	
Prostředí	Teplota		Termoneutrální zóna
	Vlhkost		Optimální podle návodu
	Stáj		Klima
Zdraví	Genetika		Podle prostředí
	Veterinární programy		
Člověk	Management		
	Ošetřovatel		

3.2 Dusíkaté látky, bílkoviny a aminokyseliny ve výživě drůbeže

Dusíkaté látky sehrávají v organismu významnou úlohu a skládají se z bílkovin a nebílkovinného dusíku (volné aminokyseliny, peptidy, amidy, nukleové kyseliny, močoviny, amoniak atd.). Dusíkaté látky se v krmivu stanovují vynásobením dusíku (stanoveného metodou podle Kjeldahla) koeficientem 6,25, který znázorňuje to, že obsah dusíku v běžné bílkovině je přibližně 16 % ($100 : 16 = 6,25$) (Kodeš et al. 2003; Zelenka et al. 2007; Prombergerová 2012; Zelenka 2014). Tento koeficient je ale zavádějící a nadhodnocený, jelikož jsou laboratorními metodami stanoveny jak bílkovinný dusík, tak dusík nebílkovinného původu. Sriperm et al. (2011) tak navrhují tento koeficient snížit u kukuřice na 5,68, u sójového extrahovaného šrotu na 5,64 a u masokostní moučky by mělo dojít ke snížení na hodnotu 5,37.

Bílkoviny jsou velké molekuly tvořené různě složitým řetězcem aminokyselin, které jsou v bílkovině spojeny peptidovými vazbami (Salo-väänänen & Koivistoinen 1996; Hou et al. 2017). V organismu mají nepostradatelnou roli, jsou součástí hormonů, enzymů, jsou stavebním materiálem pro buňky, tkáně, kůži i peří či mohou sloužit jako alternativní zdroj energie

(Kříž 1997; Kodeš et al. 2003; Prombergerová 2007; Zelenka 2014). V krmivu je podstatné nejen množství bílkovin, ale i kvalita, která je dána obsahem esenciálních aminokyselin, jejich vzájemným poměrem a stravitelností. Vysokohodnotné bílkoviny tak obsahují pro organismus všechny potřebné esenciální aminokyseliny v odpovídajícím poměru. Nejčastěji je kvalita zjišťována v pokusech na zvířatech, ale dá se stanovit i chemickou analýzou, kdy se nejdříve zjistí obsah esenciálních aminokyselin ve zkoumané bílkovině, který se pak porovná s jednotlivými aminokyselinami v bílkovině standardní, jejíž biologická hodnota se považuje za 100 (vaječná bílkovina) (Kodeš et al. 2003).

Nejčastějšími charakteristikami kvality jsou tyto 3 hodnoty:

- **PER** = bílkovinný koeficient – posuzuje se přírůstek živé hmotnosti v poměru k přijatému množství bílkovin,
- **BHB** = biologická hodnota bílkovin – posuzuje tvorbu bílkovin (skutečně uložený dusík) ze skutečně stráveného dusíku – zohledňují se ztráty endogenního a metabolického dusíku,
- **NPU** = netto využití proteinu – sleduje množství dusíku skutečně uloženého v těle z dusíku přijatého.

3.2.1 Základní rozdělení aminokyselin

V těle drůbeže je 22 proteinogenních aminokyselin (Tabulka 1), přičemž všechny se vyskytují ve formě L- α -aminokyselin (kromě glycinu, který nemá chirální uhlík) a jsou pro organismus nezbytné (NRC 1994; Zelenka 2014). Z těchto 22 aminokyselin je 10 esenciálních (Tabulka 1), což znamená, že si je tělo není schopno vytvořit a musí je přijímat s potravou. Lysin a threonin si drůbež nemůže vytvořit vůbec, jelikož k jejich syntéze nemá potřebné transaminázy. Zbytek esenciálních aminokyselin by si tělo mohlo syntetizovat, ale jelikož krmivo neobsahuje dostatečné množství ketokyselin potřebných pro jejich tvorbu, je jejich syntéza spíše teoretickou záležitostí (Zelenka et al. 2007). Arginin a histidin jsou považovány za esenciální u rychlého metabolismu mláďat (Tvrzník et al. 2008). Jako jedenáctá esenciální aminokyselina převážně u rychle rostoucích kuřat bývá označován glycin. Tato aminokyselina je totiž nutná k tvorbě kyseliny močové, která vzniká jako hlavní odpadní zplodina dusíkového metabolismu. Glycin se sice může vytvářet z aminokyseliny serinu, ale jeho produkce na pokrytí potřeb spojených s intenzivním růstem a syntézou kyseliny močové nebývá dostatečná (Dean et al. 2006; Berres et al. 2010; Zelenka 2014). Kodeš (2003) pak dodává, že další potenciální esenciální aminokyselinou může být prolin.

Dvě z aminokyselin jsou semiesenciální (Tabulka 2). Ty sice mohou být v organismu syntetizovány, avšak pouze z některé esenciální aminokyseliny. Zatímco tak potřeba esenciálního fenylalaninu může být pokryta pouze fenylalaninem, potřeba semiesenciálního tyrosinu může být pokryta jak tyrosinem, tak fenylalaninem (NRC 1994; Zelenka 2014). Zbýlých deset AMK je neesenciálních (Tabulka 1) a tělo si je dokáže vytvořit z jiných neesenciálních nebo esenciálních aminokyselin, avšak syntéza z esenciálních aminokyselin nebývá pro tělo energeticky výhodná (Zelenka et al. 2007). Poměr mezi obsahem dusíku v esenciálních a neesenciálních aminokyselinách krmné směsi by měl být asi 1 : 1 (Zelenka 2014).

Tabulka 3 Rozdělení aminokyselin – podtržené AMK si organismus drůbeže nemůže za žádných okolností vytvořit sám; glycin může být syntetizován, ale jeho produkce nebývá dostatečná (Zelenka 2014)

Esenciální aminokyseliny	<u>lysín</u>, <u>threonín</u>, tryptofan, histidin, fenylalanin, leucin, isoleucin, methionin, valin, arginin, (glycin)
Semiesenciální aminokyseliny	tyrosin – syntéza z fenylalaninu, cystein – syntéza z methioninu
Neesenciální aminokyseliny	alanin, serin, prolin, kyselina glutamová, glutamin, asparagin, kyselina asparagová

3.2.2 Limitující aminokyseliny a nadbytek a nedostatek aminokyselin v krmné dávce (toxicita)

Některé esenciální aminokyseliny svým nedostatečným zastoupením v bílkovině snižují využitelnost ostatních. Takové aminokyseliny se nazývají limitující a zvyšují nároky na množství přijímaných dusíkatých látek v krmné dávce nebo při podání stejného množství v krmivu limitují užitek organismu (Kodeš 2003; Zelenka et al. 2007; Zelenka 2014). Pokud je limitující aminokyselina přítomna pouze z 50 % potřeby organismu, pak bude účinnost další esenciální aminokyseliny omezena také na 50 % (Blair 2018). Nejzásadnějšími a prvními limitujícími aminokyselinami ve výživě drůbeže jsou sирné aminokyseliny cystein a methionin, které jsou důležité pro tvorbu peří (Zelenka 2014; Blair 2018). Úroveň první limitující aminokyseliny v krmivu zásadně ovlivňuje využití i v pořadí dalších esenciálních aminokyselin (další limitující aminokyselinou bývá lysin, který je důležitý pro růst a osvalení první partie, následovaný threoninem a argininem, jež napomáhají optimální funkci imunitního systému) (Zelenka 1998; Zelenka et al. 2007). Princip limitující aminokyseliny vyplývá z Liebigova zákona minima.

Koncept limitující aminokyseliny také vysvětluje, proč nedostatek jednotlivých aminokyselin není doprovázen specifickými příznaky: nedostatek jakékoli esenciální aminokyseliny má za následek generalizovaný nedostatek proteinu. Primárním příznakem je obvykle snížení příjmu krmiva, které je doprovázeno plýtváním krmivem, narušeným růstem, snížením užitečnosti a celkovou nemotorností (Ledvinka et al. 2004; Blair 2018).

Závažnějším rizikem je však nadměrný příjem bílkovin, jenž má negativní vliv na fyziologické a biochemické procesy v organismu (Kříž 1997). Nejsnáze se drůbež otráví nadbytečným příjmem převážně průmyslově vyráběných aminokyselin, přičemž nejnebezpečnější je methionin (Zelenka 2014). Nadbytek bílkovin ve stravě snižuje obsah vápníku, hořčíku, zinku, draslíku, fosforu i síry. Nedostatek vápníku je pak provázen náchylností ke zraněním (natržené svaly a šlachy), zhoršenou kvalitou kostí, odvápněním či zakyselováním organismu. Nízký obsah zinku je spojován s imunodeficiencí a sníženou plodností (Tvrzník et al. 2008). Pokud je do organismu dodáváno příliš mnoho bílkovin, nebo je podáván protein biologicky méně hodnotný, dochází k přetěžování trávicího traktu zvýšenou

sekrecí proteolytických enzymů. Některé nestrávené bílkoviny ve střevě jsou tráveny hnilobnými bakteriemi, které se pak snáze množí a vytváří toxické látky (putrescin, kadaverin, merkaptany, trimethylamin), jež zatěžují celý trávicí trakt. Tyto látky pak mohou být přes střevní stěnu vstřebány do krevního oběhu a mohou mít negativní vliv na celý organismus (Tvrzník et al. 2008). Je nutné si uvědomit, že nadbytek bílkovin, na rozdíl od sacharidů a tuků, nemůže být v těle dlouhodobě a je pro zvíře stresogenním faktorem, jelikož jsou přebytečné aminokyseliny v glukoneogenezi deaminovány a vzniklý amoniak je pro zvíře toxický (Zelenka et al. 2007). Amoniak je menší molekula a snadno proniká do mozku, v němž poškozují nervové buňky (Tvrzník et al. 2008). Aby byl amoniak z těla vyloučen, musí být nejprve energeticky náročným procesem přeměněn na kyselinu močovou, která je pak vylučována močí do okolního prostředí. Pokud je tedy příjem dusíkatých látek nadbytečný, znamená to zátěž jak pro metabolismus organismu, tak i pro okolní prostředí, do kterého jsou tyto látky vylučovány (Namroud et al. 2008; Hernandez et al. 2013; Zelenka 2014). Takové plýtvání dusíkatými látkami je jak neekologické, tak neekonomické, jelikož bílkovinná část krmiva je v krmné dávce stále ta nejdražší (Zelenka 2014). V posledních desetiletích jsou tak zkoumány možnosti snižování hrubého proteinu v krmivu. Parr & Summers (1991) tvrdí, že při ideálně vybalancovaném poměru esenciálních aminokyselin by mohlo k výkrmu brojlerů stačit i 16,5 % dusíkatých látek v krmivu. Studie Karmara et al. (2008) však říká, že krmivo s nízkým obsahem dusíkatých látek a konstantním poměrem metabolizovatelné energie má nepříznivý dopad na růst, avšak parametry jatečně upraveného těla nejsou nízkým příjmem dusíkatých látek ovlivňovány. Výsledky Mohameda et al. (2016) pak ukazují, že brojleři krmení nízkoproteinovou stravou vykazují lepší ileální stravitelnost. Harn et al. (2019) však prokázali, že při snížení dusíkatých látek ve stravě brojlerů (ve směsi BR2 a BR3) o 2,2–2,3 % dochází ke zlepšení konverze krmiva při zachování stejného růstového výkonu. Nižší obsah dusíkatých látek v krmivu by také mohl přispět k nižší spotřebě vody, protože by byla snížena potřeba vylučovat přebytek dusíku z těla (Bailey 1999). Nižší příjem vody by pak mohl znamenat ekonomickou úsporu a zároveň by se snížilo riziko mokré podestýlky, která vede ke zhoršení životní pohody drůbeže. Mokrý podestýlka je totiž hlavní příčinou kožních dermatitid jako jsou léze na chodidlech, popáleniny hlezen či puchýře (Martland 1985). Snížení vlhkosti podestýlky bylo zaznamenáno i ve studii Harna et al. (2019), kteří krmili brojleři stravou s nižším obsahem hrubého proteinu.

3.2.3 Stravitelnost aminokyselin a koncept ideální bílkoviny

Hlavním faktorem, který rozhoduje o biologické hodnotě aminokyselin, je její stravitelnost, proto hodnota stravitelnosti slouží jako měřítko využitelnosti (Tabulka 4).

Tabulka 4 Doporučený % obsah dusíkatých látek (NL) a aminokyselin v krmné směsi pro hybrida ROSS 308 podle různých doporučení (Foltyn 2014)

Období výkrmu (dny)		0-10		11-22		23-42		43+	
		Celk.	Strav.	Celk.	Strav.	Celk.	Strav.	Celk.	Strav.
NL	%	21-22		19-20		18-19		17-18	
Lysin	%	1,43	1,24	1,24	1,10	1,06	0,94	1,00	0,89
Methionin	%	0,51	0,47	0,45	0,42	0,40	0,37	0,38	0,35
Methionin + Cystein	%	1,07	0,94	0,95	0,84	0,83	0,73	0,79	0,69
Tryptofan	%	0,24	0,20	0,20	0,18	0,17	0,15	0,17	0,14
Threonin	%	0,94	0,83	0,83	0,73	0,72	0,63	0,68	0,60
Arginin	%	1,45	1,31	1,27	1,14	1,10	0,99	1,04	0,93
Valin	%	1,09	0,95	0,96	0,84	0,83	0,72	0,79	0,69

Rozdíl mezi stravitelností a využitelností je v tom, že se některé aminokyseliny mohou v organismu vstřebat, ale jsou pro něj nevyužitelné (Zelenka 2014). Stravitelnost též aminokyseliny v různých krmivech je rozdílná, a i jednotlivé aminokyseliny téhož krmiva nejsou stejně stravitelné. Pokud je v krmivu nevhodný poměr mezi strukturálně příbuznými aminokyselinami, může dojít k jejich antagonismu, který je nejvíce patrný mezi lysinem a argininem. Využitelnost aminokyselin také může být omezena přirozenými enzymorezistentními vazbami bílkovin či působením antinutričních látek jako jsou polyfenoly, lektiny, neškrobové polysacharidy či inhibitory proteáz. Průmyslově vyráběné čisté aminokyseliny jsou na rozdíl od aminokyselin vázaných v bílkovinách peptidovými vazbami využívány téměř stoprocentně. Pro zjištění využitelnosti aminokyselin se využívá několik typů stravitelnosti (Zelenka et al. 2007):

- **fekální stravitelnost:** od obsahu aminokyselin v krmivu se odečte obsah AMK vyloučených ve výkalech; nevhodné z důvodu mikrobiálního trávení ve slepých střevech,
- **ileální stravitelnost:** vhodná; přijaté množství AMK - množství AMK v trávenině na konci tenkého střeva,
- při **bilanční stravitelnosti** se zanedbává vliv AMK endogenního původu (enzymy, odloupaný epitel, hlen), jejichž podíl je větší, čím je přívod AMK krmivem nižší,
- **standardizovaná stravitelnost:** bilanční stravitelnost se koriguje podle množství AMK endogenního původu, stanoveného při zkrmování bezdusíkaté diety; je vždy vyšší než bilanční stravitelnost.

Pro tvorbu krmných směsí, ke zpřesnění výpočtu a lepší konverzi krmiva, je vhodné využít standardizovanou ileální stravitelnost aminokyselin.

Stravitelnost může být ovlivněna i tepelnou úpravou krmiva. Bylo prokázáno, že použitím autoklávu po dobu 40 minut při 121 °C se stravitelnost lysinu snížila až o 20 % a u ostatních aminokyselin v průměru poklesla o 8 % (Parsons et al. 1992). Finley et al. (1978) zase přišli na to, že při zpracování krmiva za vyšších teplot vzniká z lysinu a dehydroalaninu lysinoalanin, který je pro zvířata zcela nevyužitelný.

Optimální poměr aminokyselin pro tvorbu bílkovin (růst) je odlišný než pro záchovné účely. Protože se podíl záchovné potřeby a potřeby pro růst s věkem kuřat mění, mění se i optimální poměr mezi aminokyselinami. Optimální zastoupení aminokyselin v bílkovině nejlépe definuje koncept ideální bílkoviny, což je hypotetická bílkovina, ve které všechny esenciální aminokyseliny limitují užitečnost stejnou měrou. Pokud je v krmivu dostatek neesenciálních aminokyselin, tak přidáním dalších esenciálních aminokyselin k ideální bílkovině nelze docílit zvýšení užitečnosti. Při sestavování krmné směsi se rozhodneme, kolik lysinu chceme zvířeti poskytnout na každý MJ metabolizovatelné energie. Obsah ostatních aminokyselin se pak odvozuje z množství lysinu v takových poměrech, v jakých jsou zastoupeny v ideální bílkovině. S přibývajícím věkem se snižuje poměr mezi lysinem a zbytkem esenciálních aminokyselin (Tabulka 5 a 6). To je dáno tím, že se růstová křivka postupem času zpomaluje, a tudíž lysinu, který je pro růst potřeba, není nutné takové množství (Kodeš 2003; Zelenka et al. 2007; Zelenka 2014).

Tabulka 5 Poměr aminokyselin v ideální bílkovině (Kodeš et al. 2003)

Aminokyselina	NRC (1994)		Baker (1993, 1996)	
	0–21 dnů	22–42 dnů	0–21 dnů	22–42 dnů
Lysin	100	100	100	100
Methionin	45	38	36	36
Methionin + cystein	82	72	72	75
Threonin	73	74	67	70
Arginin	114	110	105	108
Valin	82	82	77	80
Isoleucin	73	73	67	69
Leucin	109	109	109	109
Tryptofan	18	18	16	17
Histidin	32	32	32	32

Tabulka 6 Poměrné zastoupení standardizovaných ideálně stravitelných aminokyselin v ideální bílkovině pro vykrmovaná kuřata (Zelenka 2014)

Stravitelná aminokyselina	Kuřata ve věku		
	0–10 dní	11–28 dní	28 dní
Lysin	1	1	1
Methionin + cystein	0,74	0,76	0,78
Methionin	0,37	0,38	0,39
Threonin	0,65	0,66	0,67
Valin	0,75	0,76	0,77
Isoleucin	0,67	0,68	0,69
Arginin	1,03	1,04	1,05
Tryptofan	0,16	0,16	0,16
Obsah stravitelného lysinu ve směsi	1,27 %	1,09 %	0,93 %

Při sestavování krmných směsí je tedy nutné, abychom se snažili najít ideální poměr mezi množstvím bílkovin, poměrem aminokyselin, využitelností a stravitelností bílkovin organismem.

3.2.4 Aminokyseliny v organismu a jejich metabolity

Bílkoviny jsou pro savce a ptáky jediným zdrojem využitelné formy dusíku v potravě a v organismu se nacházejí v dynamickém stavu mezi syntézou a degradací, ke kterým dochází nepřetržitě, a tudíž je vyžadován jejich konstantní, ale přiměřený příjem (Blair 2018). Trávení bílkovin začíná v žaludku, kde dojde k jejich denaturaci enzymem pepsinem. Následně jsou vzniklé peptidy štěpeny ve dvanáctníku pankreatickými endo- a exopeptidázami na aminokyseliny, které se přes střevní stěnu dostávají do krevního oběhu. Získané aminokyseliny se uplatňují k syntéze nových bílkovin, k syntéze specifických látek či se mohou transaminací, dekarboxylací, oxidativní deaminací a přeměnou uhlíkatého skeletu transformovat na jinou látku (Murray et al. 2002). Mezi specifické látky vzniklé z aminokyselin patří hem, hormony, neurotransmitery, purinové a pyrimidinové deriváty a biologicky aktivní peptidy. Glycin se podílí na biosyntéze hemu, z argininu vzniká oxid dusnatý, jenž je významný neurotransmitter a vazodilatátor, z tyrosinu vznikají stresové hormony noradrenalin a adrenalin či se podílí na tvorbě hormonů štítné žlázy (thyroxinu a trijodthyroninu) a histidin je přítomný při tvorbě histaminu, který ovlivňuje sekreci žaludečních šťáv a rozšiřuje krevní kapiláry. Mezi významné metabolity tryptofanu patří serotonin, jenž je neurotransmiterem a ovlivňuje peristaltiku střev a hladké svaloviny, a melatonin, který souvisí se spánkovou činností (Murray et al. 2002; McMurry 2012). Lysin a methionin, jež patří mezi první limitující aminokyseliny ve výživě drůbeže, se kromě osvalení a tvorby peří podílejí na vzniku karnitinu, který je významný membránový přenašeč vyšších mastných kyselin do mitochondrie buňky. Některé studie také tvrdí, že karnitin má protizánětlivý a imunomodulační účinek (Cibulka 2005).

3.3 Minerální látky ve výkrmu kuřat

Rychlý růst vykrmované drůbeže vyžaduje dostatečný příjem nejen bílkovin, ale i minerálních látek, které v těle zvířete plní důležité funkce a jsou nezbytné pro jejich správný růst (Zelenka 2014; Blair 2018). Jsou součástí kostí i vajec drůbeže. Chybějící minerály ve stravě mohou mít za následek celkovou nedostatečnost jedince spojenou s nízkým a nedostatečným příjmem krmiva, zpomalením růstu, problémy nohou, neobvyklý vývoj peří, strumu, nemotornost, šlechtitelské a reprodukční problémy a v krajním případě i zvýšenou úmrtnost (Blair 2018). Drůbež potřebuje alespoň 14 minerálních prvků, které si v přírodě zajišťuje přirozenou cestou. Ve velkochovu však takové možnosti drůbež nemá, a tudíž musí být krmivo obohaceno i o minerální látky (Zelenka 2014).

Minerály požadované organismem ve velkém množství jsou známy jako makroprvky. Zahrnují vápník, fosfor, síru, sodík, chlor, draslík a hořčík. Obsah makroprvků v krmivu se uvádí v g/kg (Kodeš et al. 2003). Minerály, které jsou pro organismus potřebné v malých koncentracích, se nazývají mikroprvky. Mezi ně patří železo, zinek, měď, mangan, jod a selen (Zelenka 2014). Důležitým mikroprvkem je i kobalt, který však není zapotřebí dodávat zvlášť do krmné dávky, jelikož je součástí molekuly vitamínu B12. Pokud by se kobalt doplňoval, tak

již dávka 50 mg/kg je považována za toxickou (Kodeš et al. 2003). Měď a železo jsou v krmivu povětšinou přítomny v dostatečné míře, a proto není třeba je zvlášť doplňovat (Blair 2018). Nutriční požadavky podle NRC (1994) na makro a mikroprvky jsou znázorněny v Tabulce 7.

Mikroprvky mohou být součástí větších organických molekul. Železo je součástí hemoglobinu a cytochromů, jód je součástí hormonu tyroxinu. Měď, mangan, selen a zinek zase mohou fungovat jako enzymatické kofaktory (Blair 2018). Požadavky na množství mikroprvků v krmivu bývají často splněny přidáním krmného doplňku do krmiva. Minerální soli používané jako doplňky stravy jsou obvykle nečisté sloučeniny, jež kromě požadovaného minerálu obsahují i jiné látky. Požadavky na obsah minerálních látek v krmné dávce zvířete závisí především na potřebě zvířete a na využitelnosti minerálie, jež nikdy není úplná, a z různých zdrojů minerální látky je i velmi rozdílná (Zelenka 2014). Je pravděpodobné, že při sestavování krmné dávky bude mít drůbež nedostatek převážně těchto prvků: vápník, fosfor, sodík, měď, jód, mangan, selen a zinek. Nedostatek ostatních základních minerálních prvků jsou méně časté, jelikož použité složky krmiva je většinou obsahují v dostatečném množství (Blair 2018).

Tabulka 7 Nutriční požadavky brojlerů jako procenta nebo jednotky na kilogram stravy (90 procent sušiny) podle NRC (1994)

Makroprvky		0-3 týdny	3-6 týdnů	6-8 týdnů
Vápník	%	1.00	0.90	0.80
Chlor	%	0.20	0.15	0.12
Hořčík	mg	600	600	600
Nefytátový fosfor	%	0.45	0.35	0.30
Draslík	%	0.30	0.30	0.30
Sodík	%	0.20	0.15	0.12
Mikroprvky		0-3 týdny	3-6 týdnů	6-8 týdnů
Měď	mg	8	8	8
Jód	mg	0.35	0.35	0.35
Železo	mg	80	80	80
Mangan	mg	60	60	60
Selen	mg	0.15	0.15	0.15
Zinek	mg	40	40	40

3.3.1 Sodík a chlor (sůl) ve výživě kuřat

Sodík a chlor společně s draslíkem zodpovídají v organismu za udržování acidobazické rovnováhy a osmotického tlaku. Tyto tři prvky mezi sebou mají vztah a jejich molární součet by se měl pohybovat v rozpětí 220–300 mM/kg krmné směsi (Zelenka 1998; Kodeš 2003; Zelenka 2014). Johnson & Karunajeewa (1985) pak říkají, že nejlepší elektrolytová rovnováha je mezi 200 a 350 mM/kg. Správný poměr sodíku, draslíku a chloridu je nezbytný pro růst, vývoj kostí, kvalitu skořápek a využití aminokyselin (Blair 2018). Zdrojem chloru a sodíku v

krmivu je především krmná sůl, přičemž molekula soli obsahuje při molární hmotnosti sodíku 22,99 g/Mol a chloru 35,453 g/Mol přibližně 39,3 % Na⁺ a 60,7 % Cl⁻. Dalšími zdroji sodíku může být hydrogenuhličitan sodný (jedlá soda). Chlor pak bývá v krmivu doplňován společně s aminokyselinou lysinem jako lysin hydrochlorid (Kodeš 2003). Doporučené dávkování těchto makroprvků se v literatuře různí, ale většina autorů se shoduje, že v rozmezí 0,15–0,25 sodíku v krmivu dochází k nejvyšším hmotnostním přírůstkům brojlerových kuřat (NRC 1994; Zanardo 1994; Murakami et al. 2001; Oviedo-Rondón et al. 2001; Zelenka 2014).

Ačkoliv je sodík zastoupen v organismu pouze 0,2 %, je jeho role pro životní funkce nezastupitelná. Nejvíce sodíku se nachází v krevní plazmě, svalech, kostech a dalších tkáních (Berger & Cunha 1993). Ovlivňuje difuzní pochody v těle, a tím podporuje trávení, látkovou výměnu, a má vliv na proces tvorby buněk (Garbovská & Chýlková 2014). Je důležitý v transportu dalších látek přes buněčnou membránu (glukóza, aminokyseliny, galaktóza, mastné kyseliny s krátkým řetězcem, draslík, vápník, hořčík), udržuje osmotický tlak, je nezbytný pro využívání vody v organismu či se podílí na stálosti pH krevního séra a tkáňových tekutin (Veselý 1984; Kodeš et al. 2003; Blair 2018). Schopnost svalů stahovat se také závisí na správné koncentraci sodíku (Berger & Cunha 1993). Sodík také tvoří s bílkoviny sodíkbílkovinné komplexy, které mají funkci při růstových procesech a při metabolismu (Veselý 1984).

Nedostatek, ale i nadbytek sodíku snižuje u drůbeže snášku i hmotnost vajec, zhoršuje konverzi krmiva, a protože se sodík vylučuje močí, tak při nadbytku zvyšuje spotřebu vody, s čímž je spojená zvýšená vlhkost podestýlky (Kodeš et al. 2003).

Chlor se u drůbeže nachází ve všech tkáních, v extracelulární tekutině i v žaludeční šťávě (Čermák 2000). Jeho hlavními funkcemi jsou regulace osmotického tlaku, aktivace řady enzymů a podíl na trávení v žaludku díky kyselině chlorovodíkové, která se vylučuje žaludeční stěnou (Veselý 1984). Všeobecně je chlor spojován se zadržováním vody a s ovlivňováním pH tělních tekutin (Kodeš et al. 2003). Chloridy se z potravy rychle vstřebávají a vylučují se močí. Metabolismus chloru de facto doprovází pochody sodíku z důvodu zachování elektrolytové rovnováhy (Garbovská & Chýlková 2014).

Nedostatek chloru v organismu je spojen s negativním vlivem na nervovou soustavu mladé drůbeže, což se projevuje pády a zvláštními zvuky (Zelenka 2014). Čermák (2000) říká, že snížené vylučování kyseliny chlorovodíkové způsobené právě deficitem, má za následek poruchu trávení bílkovin. Blair (2018) pak dodává, že dlouhodobý nedostatek vede k nechutenství, s tím spojeným špatným růstem a předčasným úmrtím.

Nadbytek chloru může vyvolat acidózu, zhoršuje mineralizaci kostí, zhoršuje kvalitu skořápek a snižuje využití některých vitaminů (Zelenka 2014).

3.3.1.1 Intoxikace solí u drůbeže

Zvýšený příjem soli v krmné dávce jsou zvířata, pokud mají přístup k pitné vodě, obecně schopna zvládat dobře. Při dlouhodobě nadbytečném příjmu soli dochází v mezibuněčném prostoru ke zvýšení koncentrace iontů chloru a sodíku, které pak mohou za vnitřní dehydrataci organismu, jelikož z buněk vytahují vodu (Mohanty & West 1994; Garbovská & Chýlková 2014). Je nutné říct, že intoxikace sodíkem, respektive solí, je v moderním drůbežářském průmyslu vzácným jevem i přesto, že je drůbež k tomuto typu otravy náchylnější než ostatní

hospodářská zvířata (Modrá et al. 2009). Vysoké standardy výroby krmiv, kontrola kvality a analytické metody však umožňují dávkování soli a dalších makroelementů ve velmi přesných dávkách. Pokud se tedy stane, že dojde k otravě zvýšeným příjmem soli, je většinou na vině lidský faktor nebo selhání míchací techniky. V současné době je za toxickou úroveň považována hladina soli 4 g/kg (0,4 %), která způsobuje zvýšený příjem vody a mokrou podestýlku. Při požití vysokých hladin soli (9 až 12 g/kg krmiva) jsou pozorovány závažnější klinické příznaky a úhyn (Poultry DVM 2019).

Závažnost klinických příznaků a úmrtnost se v jednotlivých hejnech liší v závislosti na množství soli v krmivu, na věku ptáků či na individuálních schopnostech tolerovat sůl. Mezi hlavní klinické příznaky intoxice patří svalová slabost, průjem, nervozita, tvorba edémů, respirační potíže, srdeční a ledvinová hypertrofie, ve kterých dochází ke zvětšení glomerulů (Krakover & Goettsch 1945; Doll et al. 1946; Krista et al. 1961; Berger & Cunha 1993). Panuje shoda, že sůl je pro drůbež toxická, nicméně již nepanuje shoda, jaká dávka je skutečně zdraví ohrožující. Mladší kuřata jsou citlivější na účinky způsobené intoxikací solí a mají vyšší riziko úmrtí než starší drůbež zejména kvůli nižší koncentraci plazmatických proteinů (Berger & Cunha 1993; Modrá et al. 2009). Selye (1943) testoval toleranci soli v pitné vodě u dvoudenních kuřat a zjistil, že 2 % NaCl ve vodě způsobuje úmrtí ve 100 % případů během několika dnů. Studie provedená ve třicátých letech minulého století říká, že starší kuřata ve věku 8 až 9 týdnů mohou být bez příznaků chována i na dávce soli 8 g/kg krmiva (Quigley & White 1932). Kanadská data z novějšího experimentu ukázala, že k vyšší úmrtnosti došlo, když se ke stravě kuřat chovaných od líhnutí do věku 9 týdnů přidaly 3 nebo více procent soli (Barlow et al. 1948). Hauser pak v roce 1952 ve svém experimentu neprokázal žádný účinek soli na úmrtnost kuřat (do věku 8 týdnů) při dávce 4 % v krmivu. Kare & Biely (1948) konstatují, že 5,18 % soli v potravě může být pro některá kuřata fatální, avšak některá mohou přežít. V roce 2006 pak provedli korejsí vědci experiment na kuřatech ve věku 0–14 dní po vylíhnutí, a prokázali, že úmrtnost přesahující 75 % byla zaznamenána při podávání 4 % soli v krmné dávce (HwangBo et al. 2006). Studie Scotta et al. (1960) však tvrdí, že pro bažanty a křepelky je toxická dávka soli až od 7,5 %, přičemž koncentraci 5 % byly schopni přežít bez příznaků otravy.

Jeden z největších zaznamenaných případů poslední doby se stal v Izraeli v roce 2015. Intoxikací solí (1,2 % v krmivu) bylo postiženo několik brojlerových a chovných farem. Byly pozorovány různé projevy otravy od zvýšené spotřeby vody a vlhkého steliva bez úhynu až po 20% úhyn v několika brojlerových farmách. Nejvíce byla postižena hejna brojlerových kuřat do pěti dnů života, přičemž nejčastějším projevem intoxikace byly kromě úhynu také neschopnost stání, špatná koordinace pohybů, závažné respirační problémy, apatie a některé neurologické příznaky, které naznačovaly postižení mozku. Patologické nálezy u brojlerů zahrnovaly těžké edémy v podkoží, hromadění čiré tekutiny v perikardu či zvětšené ledviny. Chovná hejna sice nevykazovala žádné úhyny, ale intoxikace se u nich projevila zvýšenou spotřebou vody, mokrou podestýlkou a poklesem produkce vajec o 8 %. I v těchto hejnech se při pitvě prokázalo zvětšení ledvin. Během vyšetřování problému se ukázalo, že za otravu mohl problém v systému dávkování soli v krmném mlýně, což vedlo v několika šaržích krmiva ke zvýšenému obsahu soli (Perelman et al. 2016).

V roce 2019 byl v Americe zaznamenán případ otravy solí u sedmnáctidenních brojlerů. Dvanáct z nich bylo odesláno na pitvu, kde bylo zjištěno, že všichni zkoumaní ptáci měli otok na mozku se špatně definovanými mozkovými listy a mozkovými laloky. Dále měla většina

pitvaných ptáků řídkou krev a temná játra. Jeden z nich měl mírnou akumulaci čirého želatinového materiálu v podkožní tkáni břišní oblasti. Při toxikologickém rozboru byly zjištěny vysoké koncentrace sodíku (0,81–1,43 %/kg), přičemž koncentrace Na⁺ 0,76 %/kg v mozku je považována za toxickou (Gabriel 2019).

3.4 Tekutá ochucovadla a jejich výroba

Ačkoliv je sůl pro organismus nepostradatelnou složkou, její přebytek v krmivu může být toxickým. Tato chemická sloučenina, jež se v přírodě vyskytuje v podobě nerostu halitu, je i jednou z hlavních složek tekutých ochucovadel, díky kterým se vaření značně zjednodušilo. Autentická chuť vývaru, obnova chuti pokrmu po konzervaci, sušení nebo mrazení během několika vteřin dává přípravě jídel nové možnosti. Není tak s podivem, že se ochucovadla v potravinářském průmyslu i domácí kuchyni těší značné oblibě. Tím, jak narůstá jejich obliba, zvyšuje se i jejich úloha v lidské výživě. Co tedy jsou a čemu vděčíme za jejich vlastnosti?

Tekutá ochucovadla jsou hydrolyzáty rostlinných bílkovin, které jsou vyráběny hydrolyzou, což je rozkladná reakce za přítomnosti vody, během které jsou rozrušeny všechny úrovně struktury bílkovin (včetně primární). Cílem hydrolyzy bílkovin je identifikovat všechny aminokyseliny zastoupené v hydrolyzované bílkovině a získat tak požadovanou chuť (Aaslyng et al. 1998). Hydrolytický proces je přirozeným mechanismem trávení i v živých organismech. Organismus není schopen využít proteiny v jejich původní formě a musí je tak trávením rozštěpit na základní jednotky, aminokyseliny. Vlastní trávení se nazývá enzymová hydrolyza (proteolýza) a je katalyzovaná (urychlovaná) proteolytickými enzymy (proteázami). Proteázy urychlují buď rozklad peptidové vazby uvnitř polypeptidového řetězce, přičemž vznikají peptidy (sloučenina složená z aminokyselin spojených peptidovou vazbou) různé velikosti, nebo odštěpují jen koncové aminokyseliny. Hydrolyza proteinů probíhá v několika krocích. Nejdříve vznikají polypeptidy, z nich oligopeptidy a konečnými produkty jsou jednotlivé aminokyseliny. Každý krok hydrolyzy je katalyzován jiným enzymem. Vznikající aminokyseliny jsou pak v tenkém střevě vstřebávány a transportovány lymfatickým oběhem do tkání nebo krevním oběhem do jater, kde jsou dále metabolizovány (Velíšek 1999).

Již mnoho let neplatí, že by se tekutá ochucovadla získávala z živočišných bílkovin. Jsou získávána hydrolyzou rostlinné bílkoviny, jejímž zdrojem může být sójový šrot, pšeničný či kukuřičný lepek a případně rýže (Jarunrattanasri et al. 2005; Hou et al. 2017). Hydrolyzovaná rostlinná bílkovina (HVP) je slaný aromatický produkt nejčastěji používaný v potravinářství jako dochucovadlo polévek, omáček, masných výrobků apod. (Pánek et al. 2014). Upravených bílkovinných hydrolyzáatů (směs volných aminokyselin) se využívá i v lékařství, kde mohou sloužit jako složky diet a infuzí (Molín et al. 2014). Chuť HVP je obecně způsobena obsahem volných aminokyselin, menších peptidů, solí a jiných sloučenin. Volné aminokyseliny mohou mít výrazné chuťové profily, zejména kyselina glutamová je důležitá kvůli své umami chuti, která je považována za pátý druh chuti (Aaslyng et al. 1998; Kuda et al. 2014). Při výrobě tekutých ochucovadel se rozlišují dva postupy (Molín et al. 2014):

- enzymaticky hydrolyzovaný protein (typicky sójová omáčka), který se vyrábí fermentací rybího masa, sóji, pšenice či kvasinek,
- protein získaný pomocí kyselé hydrolyzy, většinou s využitím kyseliny chlorovodíkové.

3.4.1 Kyselá hydrolýza a složení kyselého hydrolyzátu

Za zakladatele výroby ochucovadel kyselou hydrolýzou bývá považován švýcarský mlynář Julius Maggi (Reineccius 2013). Komerčně se kyselý hydrolyzáty získávají použitím 4 až 9 M kyseliny chlorovodíkové. Podmínky při hydrolýze (teplota, tlak, doba hydrolýzy) závisí na typu suroviny. Obvykle se používá teplot v rozmezí 105 až 120 °C za tlaku 0,15 až 0,20 MPa po dobu 4 až 24 hodin, nejčastěji však 8 hodin (Aaslyng et al. 1999; Velíšek et al. 1993; Dai et al. 2014; Molín et al. 2014). Po ochlazení se hydrolyzáty neutralizuje buď uhličitanem sodným nebo hydroxidem sodným na pH 8 až 13 při teplotě mezi 90 až 100 °C po dobu 90 až 180 minut, a poté se ke směsi přidá kyselina chlorovodíková pro úpravu pH na 4,8 až 5,2. Během neutralizace (acidobazické reakce mezi HCl a NaOH) vzniká sůl a voda. Hydrolyzáty se následně promývá, aby se odstranila nerozpustná uhlovodíková frakce (humínové látky) (CAC/RCP 2008). Humínové látky obsahují nehydrolyzovatelnou část původních surovin (hlavně celulózu, případně lignin a další látky), barviva (ve vodě nerozpustné melanoidiny), která vznikají jako produkt reakcí neenzymového hnědnutí, chlorid sodný a případně i nezreagované bílkoviny, které se vysrážely při neutralizaci (Pánek et al. 2014). Tento odpadní produkt může být dále upraven a využit jako hnojivo či krmivo, a pro jeho výraznou vůni ho využívají myslivci k přilákání okolní zvěře. Uskladněním po dobu 1 až 6 měsíců dochází ke zrání hydrolyzátu, při kterém hydrolyzáty získávají jemnější chuť i vůni a světlejší barvu. Současně sedimentuje určitý podíl chloridu sodného a některé špatně rozpustné aminokyseliny (hlavně s alifatickým řetězcem – glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin). Po neutralizaci a zrání následuje další filtrace a následná sterilizace hydrolyzátu. Celý proces výroby tekutých ochucovadel v komerční sféře schematicky znázorňuje Obrázek 1.

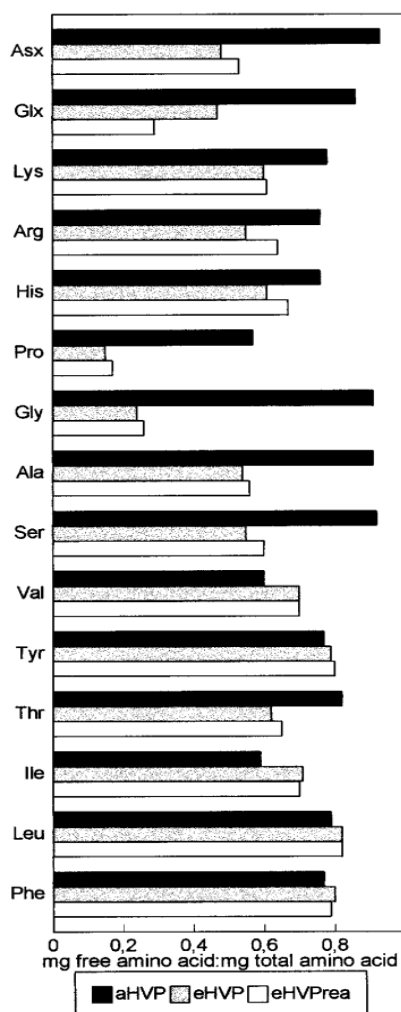
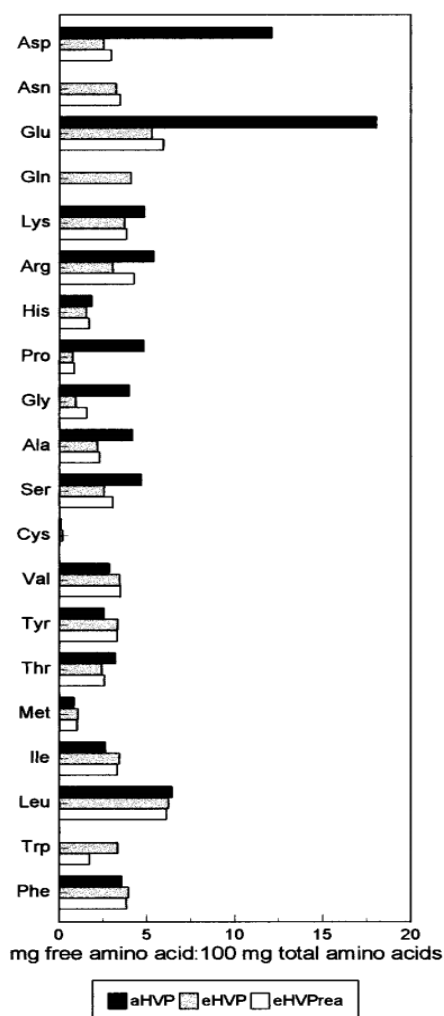
Během kyselý hydrolýzy mohou být produkovány některé karcinogenní sloučeniny, jako jsou mono- a dichlorpropanoly a monochlorpropandioly (MCPD) (Nagodawithana 1994; Feiner 2016). Ty vznikají reakcí chloridových iontů z HCl s lipidy, které se ve stopovém množství nacházejí v hydrolyzovaných rostlinách (Feiner 2016). Limitní hladina MCPD v komerčních hydrolyzátech je dána legislativně a v současné době je stanovena na 20 µg/kg produktu (Pánek et al. 2014). Při dodržení správného postupu výroby a dekontaminace zařízení se však množství MCPD pohybuje hluboko pod tímto limitem.

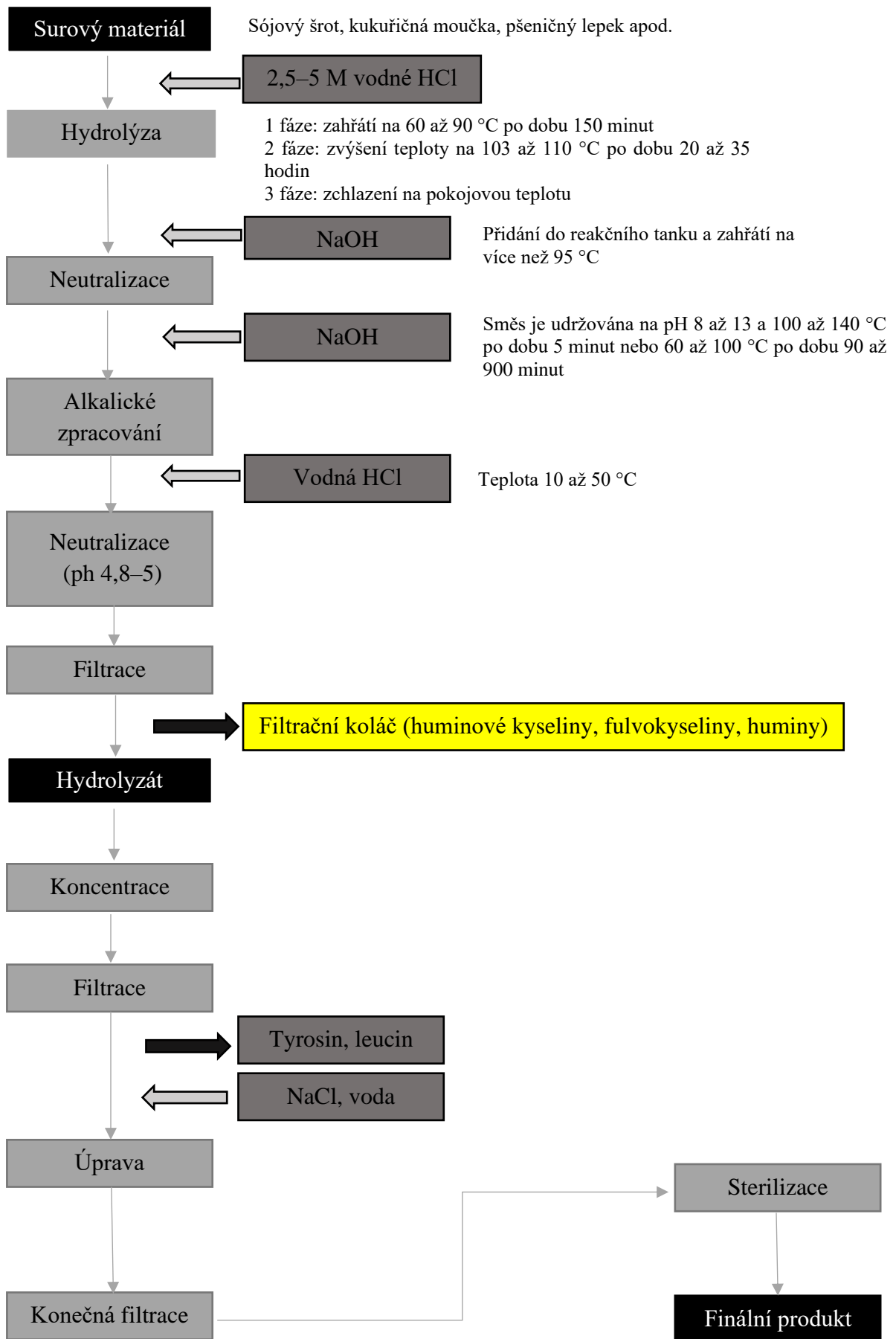
Konečný výrobek obsahuje množství těkavých i netěkavých látek, které ovlivňují jejich chemické a sensorické vlastnosti. Kromě 30–40 % chloridu sodného (soli), vody a volných aminokyselin, které jsou hlavními produkty hydrolýzy a spadají mezi hlavní netěkavé látky, obsahují i ve vodě rozpustná hnědá barviva a aromatické látky (Pánek et al. 2014). Volné aminokyseliny, které vznikají rozštěpením bílkovin během kyselý hydrolýzy, jsou pro organismus snadno využitelné, avšak nejsou přes střevní bariéru vstřebávány tak rychle jako peptidy (Hou et al. 2017). Obsah jednotlivých aminokyselin je závislý na použité surovině a podmínkách výrobních postupů hydrolýzy (Jarunrattanasri et al. 2005; Pęksa & Miedzianka 2014; Hou et al. 2017). Během kyselý hydrolýzy se některé aminokyseliny úplně (tryptofan) či částečně (serin, threonin, histidin, fenylalanin, tyrosin) rozkládají (Graf 1) (Aaslyng et al. 1998; Molín et al. 2014). Dai et al. (2014) pak dodávají, že během kyselý hydrolýzy dochází i k částečné ztrátě methioninu a přeměně glutaminu na kyselinu glutamovou, asparaginu na kyselinu asparagovou a cysteinu na cystin. Aminokyseliny s alifatickým řetězcem (glycin, alanin, valin, leucin, isoleucin) jsou při hydrolýze stabilní, málo rozpustné a po neutralizaci

přecházejí do filtračních zbytků, tudíž je jejich obsah v hydrolyzátu nižší než v původní surovině (Pánek et al. 2014). Nejvíce zastoupenou aminokyselinou v hydrolyzátu je, nehledě na použitou surovinu, kyselina glutamová, která je součástí MSG (monosodium glutamát), jenž je znám kvůli své umami chuti (Reineccius 2013). Dalšími hojně zastoupenými aminokyselinami jsou kyselina asparagová, prolin, arginin, alanin atd. (Graf 1 a 2) (Džanič et al. 1985; Aaslyng et al. 1998; Aaslyng et al. 1999; Molín et al. 2014).

Graf 1 Množství volných aminokyselin v HVP v mg/100 mg proteinu. aHVP, kyselý hydrolyzáat; eHVP, enzymatický hydrolyzáat za použití dvou směsí proteolytických enzymů (Flavourzyme a Alcalase, oba od Novo Nordisk A / S, Dánsko); eHVPrea, enzymatický hydrolyzáat vyrobený stejným postupem jako eHVP, ale byla k němu přidána glukóza a následně byl 1 hodinu zahříván (Aaslyng et al. 1998).

Graf 2 Poměr volných aminokyselin k celkovému množství aminokyselin v HVP. Podíl aminokyselin, které jsou přítomny jako volné aminokyseliny, popisuje účinnost skutečné hydrolyzy proti peptidové vazbě (Aaslyng et al. 1998).





Obrázek 1 Proces výroby kyselého hydrolyzátu podle CAC/RCP (2008)

3.4.2 Enzymatická hydrolýza

Jak již název napovídá, tento typ výroby hydrolyzátu vyžaduje enzymy. Enzymy obecně jsou proteiny, které mají katalytickou aktivitu (urychlují chemické reakce). Enzymatická hydrolýza vyžaduje oproti kyselé mnohem mírnější teploty. Nejdříve je surovina smíchána s vodou, pasterizována teplotou mezi 85 až 90 °C po dobu několika minut, poté je ochlazena na 50 °C a její pH je zvýšeno pomocí NaOH na 7. Poté může být zahájen rozkladný proces bílkoviny, který je závislý na trávicím enzymu, jež je pro hydrolýzu použit. Nejčastěji používaný enzym je alkaláza, která je produkována *Bacillus Licheniformis* (Aaslyng et al. 1998; Šlyžité et al. 2005). Po 5 hodinách je pH upraveno pomocí HCl na hodnotu 5. Vzhledem k tomu, že během výrobního procesu nevzniká žádná sůl, je běžnou praxí do směsi přidávat sůl jako přísadu. Následně se směs nechá, v závislosti na aktivitě enzymů, až 24 hodin odstát při teplotě kolem 50 °C. Směs se poté zahřívá, aby se inaktivovaly enzymy, a poté se filtruje, aby se odstranila nerozpustná huminová kyselina (Aaslyng et al. 1998).

Aminokyselinové složení hydrolyzátu je podobné jako u výchozího materiálu. Oproti kyselé hydrolýze má enzymatická několik výhod. Enzymatické hydrolyzáty vykazují určité technologické výhody jako je lepší rozpustnost, relativně vysoká odolnost vůči vysrážení či tepelná stabilita. Enzymatický hydrolyzát je obvykle světlejší barvy a má mnohem méně výraznou masitou nebo pikantní chuť (Weir 1992). Méně výrazná chuť může být způsobena nižším zastoupením kyseliny glutamové v hydrolyzátu (Graf 1) a světlejší barva může být způsobena využitím nižších teplot během výrobního procesu, které znemožňují neenzymové hnědnutí (Maillardova reakce).

3.5 Krmná aditiva

Právním podkladem pro povolování, výrobu, uvádění do oběhu, používání a zpracování doplňkových látek je Nařízení ES 1831/2003 Evropského Parlamentu a Rady o doplňkových látkách pro použití ve výživě zvířat (Zelenka 2014). Podle tohoto nařízení jsou krmná aditiva definována jako "Látky, mikroorganismy nebo přípravky, jiné než krmné suroviny a premixy, které se záměrně přidávají do krmiva nebo vody, aby splnily zejména některé z následujících funkcí: musí mít příznivý vliv na vlastnosti krmiva, pozitivní vliv na vlastnosti živočišných produktů, pozitivní vliv na zbarvení okrasných ryb a ptáků, uspokojovat potřeby zvířat týkající se výživy, mít příznivý vliv na důsledky živočišné výroby pro životní prostředí, mít příznivý vliv na živočišnou produkci, užitek nebo dobré životní podmínky zvířat, zejména působením na flóru trávicího traktu nebo trávení krmiva nebo mít kokcidiostatický nebo histomoniostatický účinek." (ES 1831/2003). Nad některými aditivami je vyhlášena ochranná lhůta, což je minimální doba, která musí uplynout od ukončení příjmu krmiva, jež obsahovalo krmné aditivum, do porážky zvířete nebo počátku produkce živočišných produktů určených pro lidskou výživu (Zelenka 2014).

Na trh mohou jít pouze ty látky, které prošly schvalovacím procesem. Změny v registru krmných aditiv jsou časté a dějí se vždy, když se udělí, změní, pozastaví, skončí platnost, obnoví, rozšíří nebo odvolá použití některého krmného doplňku. V současné době (11/2019) jich je schváleno 249 (online: <https://ec.europa.eu/>). Veterinární přípravky se mezi krmná aditiva nezařazují.

Krmná aditiva jsou dle směrnice EU členěna do těchto kategorií (ES 1831/2003):

- **nutriční aditiva** (vitaminy, provitaminy, sloučeniny stopových prvků, aminokyseliny, jejich soli a analogy),
- **zootechnická aditiva** (látky, které mohou zlepšit užitkovost zvířat nebo příznivě ovlivnit životní prostředí),
- **aditiva ovlivňující senzorické vlastnosti** (látky, které zlepšují organoleptické vlastnosti krmiva nebo vzhled živočišných produktů),
- **technologické doplňkové látky** (konzervační látky, antioxidanty, emulgátory, stabilizátory, pojiva, regulátory kyselosti, silážní aditiva apod.),
- **antikokcidika a látky pro prevenci histomonázy.**

Schválené krmné aditivum také musí být řádně označeno. Označení aditiva musí být jasné, viditelné, čitelné a nesmazatelné. Štítek s popiskem obsahuje tyto informace (ES 1831/2003):

- specifický název doplňkových látek podle povolení, funkční skupiny a jejich identifikační číslo,
- jméno a adresa nebo registrované místo podnikání osoby odpovědné za tyto údaje,
- čistá hmotnost nebo čistý objem doplňkových látek,
- případně schvalovací číslo provozu, který doplňkovou látku vyrábí nebo uvádí na trh,
- návod k použití a jakékoliv bezpečnostní doporučení týkající se použití,
- zvláštní požadavky uvedené v povolení,
- referenční číslo šarže a datum výroby.

Samotný schvalovací proces může být zdlouhavý a byrokraticky náročný. Žadatel o zařazení do seznamu povolených doplňkových látek nejdříve předloží svoji žádost Evropské komisi. Ta následně zajišťuje informovanost členských států EU a předává žádost Evropskému úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). Žadatel pak zasílá EFSA kopii žádosti včetně úplné dokumentace, která obsahuje údaje o žadateli, způsobu výroby, popisu zamýšleného využití doplňkové látky, navrhované podmínky pro uvedení látky na trh a dále pak studie o účinnosti a bezpečnosti aditiva. Žadatel musí rovněž zaslat vzorky do referenční laboratoře EU k analýze. Během posuzovacího řízení si EFSA od žadatele může vyžádat další informace a dokumenty o předkládané látce. Do 6 měsíců od podání žádosti musí EFSA k předkládanému aditivu zaujmout stanovisko, ve kterém je uvedena hodnotící zpráva. Ta musí obsahovat informace o druhu zvířat, pro které je aditivum určeno, dále informace o podmínkách nebo omezeních týkajících se manipulace, nebo požadavků na sledování aditiva po uvedení na trh. Ve zprávě je taktéž zahrnut i požadavek na označování doplňkové látky, případně i návrh na stanovení maximálního množství reziduí doplňkové látky v potravinách živočišného původu (ES 2003).

Na základě stanoviska EFSA Komise EU rozhodne, zda povolí nebo zamítne zařazení doplňkové látky. Pokud žadatel obdrží kladné rozhodnutí, může být látka uvedena na trh. Odpovědnost za uvedení na trh a za dodržení všech podmínek nebo omezení stanovených právními předpisy mají Provozovatelé krmivářských podniků (European Commission 2019).

Povolení doplňkové látky je platné po dobu 10 let v celé EU a Evropském hospodářském prostoru (EHP). Tato povolení jsou obnovitelná na dobu 10 let. Žádost o obnovení zasílá žadatel Komisi EU nejméně 1 rok před uplynutím doby platnosti povolení. Postup pro prodloužení povolení je popsán v článku 14 v nařízení evropské směrnice č. 1831/2003.

3.6 Huminové látky

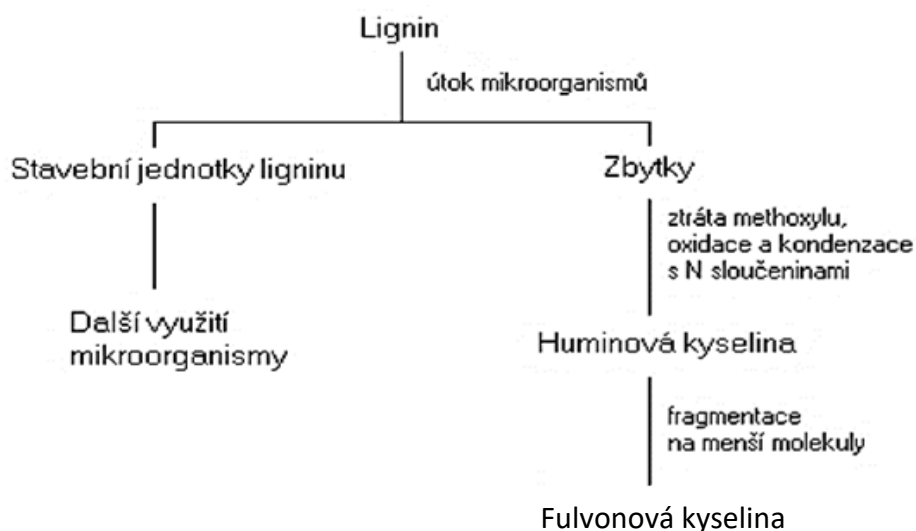
Přestože zatím nejsou huminové látky uznány Evropskou unií jako krmné aditivum, tak bylo konstatováno, že mají pro organismus prospěšný vliv (Evropská komise 2019). Domníváme se tedy, že je pouze otázkou času, kdy budou tyto látky na seznam krmných aditiv zapsány.

Huminové látky jsou přírodní organické sloučeniny, které vznikly chemickým a biologickým rozkladem (humifikací) organického materiálu (zbytků rostlin, živočichů apod.) či syntetickou činností mikroorganismů (Stevenson 1994; Veselá et al. 2005; Skokanová & Dercová 2008; Tinti et al. 2015). Vyskytují se rozpuštěné ve vodě, kalech, kompostech v sedimentech, zeminách, rašelinách, lignitu či hnědém uhlí. Jelikož jsou složkou všech typů půd i vody, lze předpokládat, že se s nimi lidé i zvířata setkávali po celou dobu své existence (Suchý et al. 2011; Tinti et al. 2015). V přírodních zdrojích obsah huminových látek značně kolísá. V písku je jeho zastoupení v jednotkách procent, kdežto například v rašelině je huminových látek až 80 procent. Obsah huminových látek v půdách je závislý především na klimatických podmínkách, rostlinných společenstvech či způsobu obdělávání krajiny. Jsou důležitým zdrojem organického uhlíku ve vodě i půdě (Veselá et al. 2005).

3.6.1 Původ huminových látek

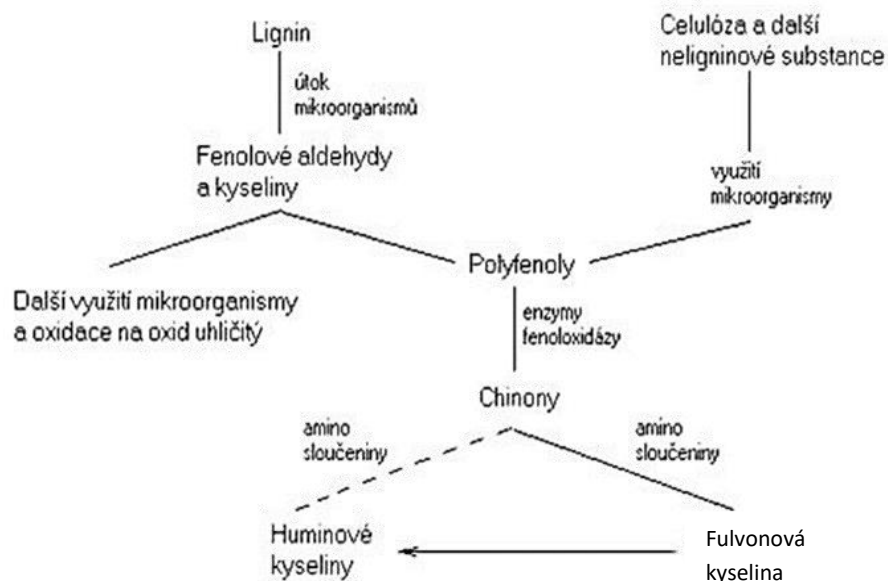
Během minulého století byl výzkum původu huminových látek velmi populární. Ačkoliv do dnešního dne není přesný původ znám, tak bylo vytvořeno několik hlavních teorií. Nejčastěji jsou v literatuře zmiňovány tři teorie, které vycházejí z předpokladu, že huminové látky vznikly rozkladem organické hmoty (Veselá et al. 2005).

První z nich je ligninová teorie (Obrázek 2), jejímž smyslem je degradace organického materiálu. Při rozkladu rostlinného materiálu se nejdříve rozkládají látky rozpustné ve vodě (bílkoviny, nízkomolekulární látky atd.), následovány hemicelulózami a celulózou. Zbývající látky jsou prakticky nerozpustné, přičemž nejvýraznější je lignin s kutinem. Tyto nerozpustné zbytky se transformují na vysokomolekulární sloučeniny, jež následně oxidují na huminové kyseliny a fulvokyseliny. Pokud degradace probíhá dál, jsou huminové látky postupně rozloženy až na oxid uhličitý a vodu (Pivokonský et al. 2010). Fischer a Schrader (1921) předpokládali, že mateřskou substancí při vzniku huminových kyselin je lignin. Svou teorii experimentálně ověřili tím, že odvlhčovali lignin alkalickými látkami za současného působení kyslíku a získali tak látky, které svým složením odpovídaly přirozeným huminovým kyselinám (Skokanová & Dercová 2008).



Obrázek 2 Vznik huminových kyselin (ligninová teorie) podle Stevenson (1982)

Druhou teorií je syntetická (polyfenolová) teorie (Obrázek 3). Ta vychází z předpokladu, že se z malých molekul stávají větší. Nejdříve jsou rostlinné tkáně degradovány na karboxylové kyseliny, fenoly apod. Z nich jsou nejprve syntetizovány fulvokyseliny, poté se z nich syntetizují huminové kyseliny, a nakonec vznikají huminy (Skokanová & Dercová 2008).



Obrázek 3 Vznik huminových kyselin (polyfenolová teorie) podle Stevenson (1982)

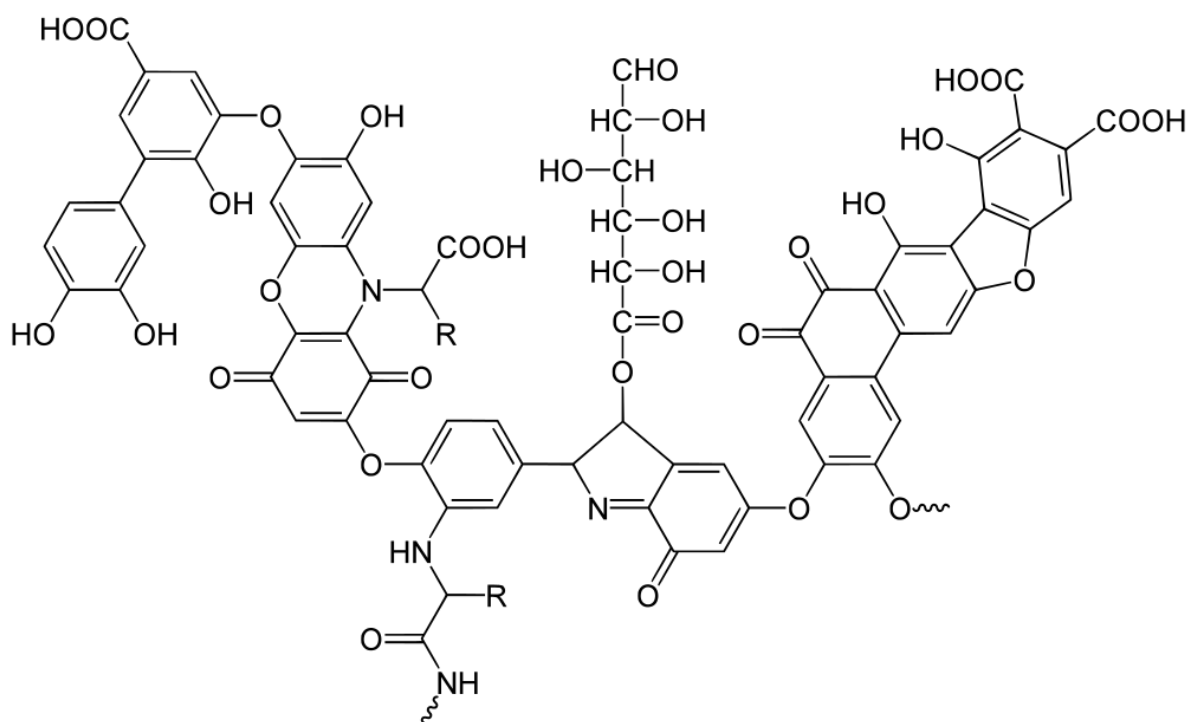
Je pravděpodobné, že oba mechanismy se vzájemně doplňují, přičemž se mohou různě prolínat.

Poslední teorie vzniku huminových látek vychází z práce zveřejněné francouzským vědcem Maillardem v roce 1911, který popsal reakci neenzymového hnědnutí. Tato teorie zjednodušeně říká, že hnědé, dusík obsahující polymery (melanoidiny), které jsou svojí strukturou huminovým látkám velmi podobné, vznikají reakcí neenzymového hnědnutí mezi redukcujícími sacharidy nebo produkty jejich degradace s aminokyselinami či bílkovinami

(Huang et al. 2005; Plavšić et al. 2006). Pro tuto teorii vzniku huminových látek v půdě hovoří dva fakty. Prvním z nich je, že reaktanty této reakce (cukry, aminokyseliny atd.) jsou v půdě produkovány v dostatečném množství díky aktivitě mikroorganismů. Druhým atraktivním faktem je, že tato teorie poskytuje vysvětlení tvorby huminových látek i v prostředí, ve kterém nepřevládá lignin ani produkty jeho degradace (Stevenson 1994). Proti této teorii však hovoří fakt, že při běžných teplotách v přírodě probíhá Maillardova reakce velmi pomalu (Stevenson 1994; Čechová 2008). Drastické a časté změny v půdním prostředí (zmrznutí × tání; vysoušení × promočení apod.) společně s mísením reaktantů s půdními minerály však mohou celou reakci urychlit (Stevenson 1994).

3.6.2 Struktura a vlastnosti huminových látek

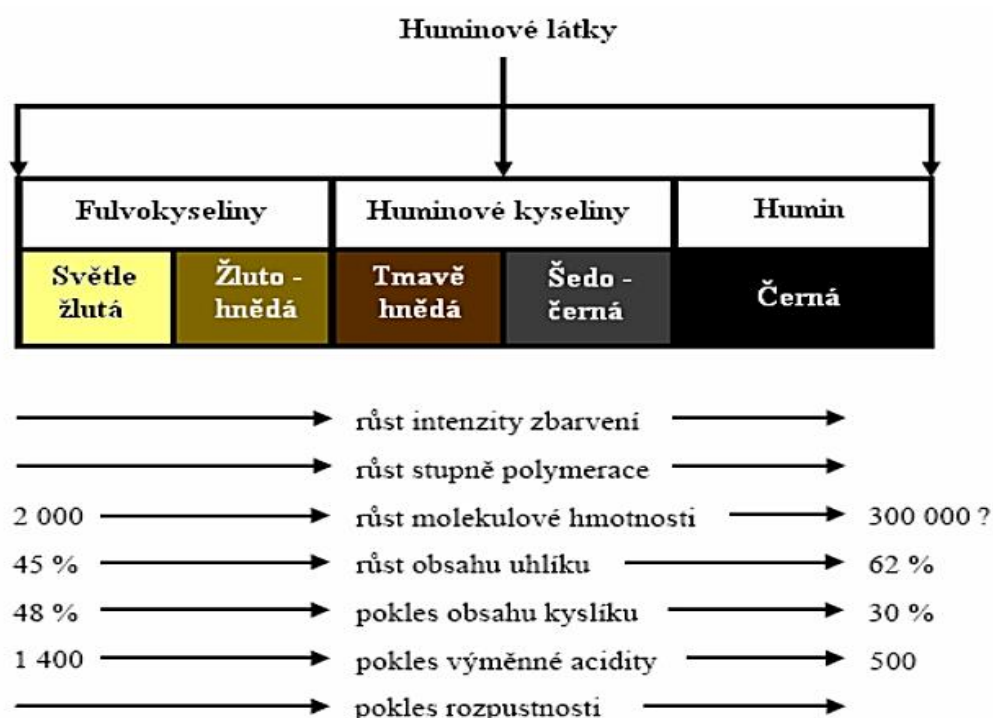
Z chemického hlediska jsou huminové látky složité vysokomolekulární polycyklické sloučeniny s relativní molekulovou hmotností v rozmezí několika stovek až desítek tisíců (Stevenson 1994; Pivokonský et al. 2010; Havelcová et al. 2011; Tinti et al. 2015). Pravděpodobné návrhy struktury huminových kyselin byly předloženy F. J. Stevensonem (1972) a R. D. Harworthem (1973) (Veselá et al. 2005). V přírodě se vyskytují jako jednotlivé molekuly, které jsou vzájemně spojeny slabými vazbami do supramolekulárních struktur, avšak mohou se vyskytovat i jako micelární koloidy s hydrofobní částí molekuly umístěnou uvnitř a hydrofilní vně molekuly (Pivokonský et al. 2010). Hypotetická struktura huminové kyseliny obsahuje volné a vázané fenolické –OH skupiny, chinonové struktury, atomy kyslíku a dusíku ve funkci můstků a karboxylové skupiny –COOH umístěné na aromatických jádrech (Obrázek 4). Následnými výzkumy se však prokázalo, že struktura huminových kyselin je složitější (Veselá et al. 2005).



Obrázek 4 Struktura huminové kyseliny podle Stevensona (1982)

Mezi vlastnosti huminových látek patří rozpustnost ve vodě, schopnost spojovat se (agregace) a zase se rozpadat (disociace) či možnost utvářet komplexy především s vícemocnými kationty. Tato vlastnost je ovlivněna přítomností karboxylových a fenolových skupin a také aromaticitou molekuly. Se vzrůstající hodnotou pH se schopnost tvorby komplexů zvyšuje (Havelcová et al. 2011). Rozpustnost komplexu je pak dána hmotnostním poměrem jeho složek: čím je poměrné zastoupení kationtů větší, tím je rozpustnost celku menší. Tyto vlastnosti huminových látek souvisí s jejich složením, jež je ovlivněno humifikačními procesy. Vedle těchto procesů jsou také významně ovlivněny velikostí jednotlivých molekul a částic, polaritou, která je dána charakterem skeletu (aromatický či alifatický) a hlavně druhy, počty a disociačními schopnostmi funkčních skupin (Pivokonský et al. 2010). Podstatnou vlastností je také odolnost vůči mikrobiální degradaci (Veselá et al. 2005).

3.6.3 Rozdělení huminových látek



Obrázek 5 Rozdělení huminových kyselin podle Stevenson (1982)

Za hlavní složky huminových látek jsou obvykle považovány huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy (Obrázek 5). Molekulová hmotnost těchto látek se pohybuje v rozmezí 2000 až 300000 g.mol⁻¹ (Skokanová & Dercová 2008).

3.6.3.1 Fulvonové kyseliny

Fulvonové kyseliny jsou látky s nejnižší molekulovou hmotností a silně kyselým pH, které se pohybuje v rozmezí 2,6–2,8. Kyselost fulvokyselin je dána především vysokým množstvím karboxylových skupin (Veselá et al. 2005; Tinti et al. 2015). Od huminových kyselin se liší makromolekulární stavbou i celkovým složením. Jsou dobře rozpustné ve vodě,

minerálních kyselinách, loužích i v roztocích zásaditých solí (Jandák et al. 2007; Tinti et al. 2015). Jejich barva je žlutá až hnědá (Pivokonský et al. 2010).

3.6.3.2 Huminové kyseliny

Huminové kyseliny jsou rozpustné v zásadách, ale ne v kyselinách (Tinti et al. 2015). Z půdy je možné je extrahovat reakčními činidly. Během výroby kyselého hydrolyzátu jsou přítomny ve filtračním koláči. Při nízkém pH blížícím se 1 se huminové kyseliny sráží. Oproti fulvokyselinám mají vyšší molekulovou hmotnost, obsahují více aromatických struktur a mají méně homogenní strukturu (Domany et al. 2002; Veselá et al. 2005). Barvou jsou tmavé až šedočerné (Jandák et al. 2007). Nejvíce zastoupeným prvkem v huminových kyselinách je uhlík, který je utváří z 50 až 57 % (Veselá et al. 2007). Huminové kyseliny jsou považovány za nejhodnotnější produkt humifikačních procesů v půdě, jelikož významně ovlivňují půdní vlastnosti jako pufovací schopnosti či půdní strukturu (Jandák et al. 2007).

3.6.3.3 Huminy

Huminy představují látky, jež mají nejvyšší molekulovou hmotnost a jsou nerozpustné v kyselých i zásaditých roztocích (Domany et al. 2002). Jejich nerozpustnost je způsobena pevnou vazbou s anorganickou složkou půdy a jejich makromolekulárním charakterem. Jsou černé a tvoří asi 50 % organické hmoty v půdě (Hayes & Clapp 2001). Vznikají také jako odpadní produkt při kyselé hydrolýze rostlinného proteinu (Molín et al. 2014; Pánek et al. 2014).

3.6.4 Využití huminových látek jako krmného aditiva

Ačkoliv Evropská komise (2011) stále neschválila huminové látky jako krmné aditivum, tak bylo konstatováno, že je jejich vliv na organismus příznivý a podle nařízení 37/2010 jsou definovány jako farmakologicky účinné látky bez maximálních hladin reziduí a bez omezení použití. Letální dávka LD₅₀ u potkanů je při perorálním podání vyšší než 11 500 mg/kg tělesné hmotnosti, což značí nízkou toxicitu huminových látek. Při parenterálním (podávaným mimo střeva = injekcí, infuzí apod.) podání se však stávají toxickými (EMEA = The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines 1999).

Huminové látky se používají u koní, přežvýkavců, vepřů a drůbeže při perorálních dávkách 500 až 2000 mg/kg tělesné hmotnosti k léčbě průjmů, dyspepsie a akutních intoxikací (Humitech 2019). Mají ochranný účinek na sliznici střeva a mají antiflogistické, adsorpční, antitoxické a antimikrobiální vlastnosti (EGTOP = Expert Group for Technical Advice on Organic Production 2011).

Na brojlerových kuřatech bylo provedeno již mnoho pokusů s využitím huminových látek. Byly zkoumány vlivy huminových látek na růstové schopnosti brojlerů, na stravitelnost a využitelnost živin, na zvýšení příjmu krmiva a konverze, na imunitu, na růst plísni, na stimulaci mikrobiální aktivity či na některé zdravotní parametry krve (Arif et al. 2019). Výsledky většiny studií ukazují, že huminové látky mají na výše jmenované oblasti pozitivní vliv.

3.6.4.1 Huminové kyseliny a fulvokyseliny jako růstový stimulant

Když bylo v Evropské Unii v roce 2006 zakázáno využití antibiotik jako růstového stimulantu, bylo nutné najít alternativní látky podporující růst. Panovaly totiž obavy, že nadměrné využívání antibiotik povede k přílišné rezistenci bakterií, s čímž bude spojen klesající účinek antibiotik (Mutus et al. 2006). V současnosti jsou jako růstové stimulanty používány organické kyseliny, rostlinné extrakty, enzymy, probiotika či prebiotika (Griggs & Jacob 2005; Dhama et al. 2015; Alagawany et al. 2018). V posledních dekádách se k výše jmenovaným přidaly i huminové látky (Humitech 2019). Bylo zjištěno, že huminové kyseliny lze využít jako růstový stimulant a jako látku podporující celkové zdraví drůbeže (Ceylan et al. 2003; Islam et al. 2005; Arif et al. 2019). Taklimi et al. (2012) dále uvádějí, že huminové kyseliny (0,2 % a 0,3 % / kg) mají pozitivní vliv na růst klků, čímž se zvětšuje plocha pro absorpci živin (prodloužení délky klků) do organismu, což má za následek lepší tělesný přírůstek. Arif et al. (2016) pak dodávají, že nejlepšího výsledku bylo dosaženo, pokud bylo v krmné dávce obsaženo 2,25 g huminových kyselin na kg hmotnosti krmiva. Zrychlení růstu může být způsobeno úlohou, kterou huminové kyseliny mají při konverzi krmiva. Přidáním huminových látek do krmiva (2,5 g/kg) se totiž konverze krmiva zlepšila (Arif et al. 2019). Edmonds et al. (2014) zkoumali rychlost růstu u kuřat, která byla vystavena teplotám přesahujícím jejich tepelný komfort, a zjistili, že po přidání huminových látek se rychlost růstu kuřat v tepelném diskomfortu zvýší. Wang et al. (2013) pak zkoumali účinek fulvokyselin na výkon brojlerových kuřat a došli k závěru, že přidání fulvokyselin do krmné dávky v rozsahu 0,024–0,24 % významně zlepšuje přírůstek a konverzi krmiva. K podobným závěrům došla i Xiu-yu (2010), která říká, že přírůstek 0,03 % fulvokyselin statisticky významně oproti kontrolní skupině zvyšuje přírůstek a snižuje konverzi krmiva.

Ne všechny studie však význam huminových kyselin jako růstového stimulantu prokázaly. Karaoglu et al. (2004) a Kaya et al. (2009) ve svých studiích tvrdí, že přidání huminových kyselin do krmné dávky nemá na přírůstek tělesné hmotnosti vliv. Při studiu konverze krmiva u brojlerových kuřat bylo dle studií Kaya et al. (2009) a Arafata et al. (2015) dosaženo lepších výsledků po přidání huminových kyselin do napájecí vody.

3.6.4.2 Huminové kyseliny a jejich účinek na stravitelnost a produkci

Zdálo by se, že když byl relativně spolehlivě prokázán pozitivní vliv huminových kyselin na růst brojlerů, tak budou mít stejný vliv i na zvýšení produkce vajec, kvalitu skořápky, mez pevnosti, žloutkový index apod. Tuto tezi vyvracejí Yalcin et al. (2006), kteří tvrdí, že na žádný z těchto faktorů neměl přírůstek huminových kyselin vliv. Ke skeptické části spektra ve využití huminových látek se přidali Sopoliga et al. (2016), kteří nepotvrdili pozitivní vliv na konverzi krmiva, hmotnost vajec a ani příjem krmiva u nosnic bažantů. Wang et al. (2007) sice potvrdili, že se hmotnost vajec po přidání 5 nebo 10 % huminových látek zlepšila, ale na druhou stranu říkají, že se snížila produkce. Nejen skepse se našla ve vědeckých kruzích. Ve svých experimentech byli úspěšní například Arpašová et al. (2016), kteří prokázali, že suplementace HA v potravě na úrovni 0,5 % zlepšila hmotnost a produkci vajec ($P > 0,05$). K podobným závěrům došli již v roce 1998 Shermer et al., kteří přidávali do krmné dávky 5 nebo 10 % huminových kyselin. Výsledky získané skupinou kolem Ergina (2009) přinesly poznatek, že

přídavek huminových kyselin (30 mg/kg) zvyšuje pevnost skořápky vajec bez ovlivnění vaječné produkce. U brojlerových kuřat přinesl přídavek huminové kyseliny (1,8 %) do krmiva nárůst hmotnosti (Pistová et al. 2016).

Účinek huminových látek jako doplňkové látky ve výživě brojlerů byl zkoumán Windischem et al. (2008), kteří zjistili, že přidání huminových kyselin zlepšilo stravitelnost živin udržováním střevní mikroflóry. Islam et al. (2008) také uvedli, že suplementace huminových kyselin ve stravě brojlerů zlepšila využití živin a růstový výkon zlepšením zdraví střev. Kromě toho Ozturk et al. (2014) konstatují, že přidáním 15 až 22,5 g huminových kyselin na kg se výrazně zvyšuje stravitelnost živin. Lepší stravitelnost živin lze přičítat i tomu, že v důsledku přidávání huminových látek do krmiva se zvyšuje množství klků, a tudíž mají živiny větší prostor pro průchod střevní stěnou. K tomuto poznatku došli i Taklimi et al. (2012), kteří konstatovali, že prodloužení délky jejunálních klků je ve vzájemném vztahu s lepšími koeficienty stravitelnosti, a to především díky rozšířenému enzymatickému trávení a snížení rychlosti průchodu střevního obsahu.

3.6.4.3 Vliv huminových kyselin na ukládání rizikových prvků do organismu

Zkoumán byl i vliv kyseliny huminové na ukládání rizikových prvků jako jsou kadmium, měď, olovo či zinek ve tkáních brojlerových kuřat. Bylo zjištěno, že se ve skupině, v níž byly přidávány huminové kyseliny (0,5 g na kus/den) do krmné dávky, jež obsahovala chlorid kademnatý (0,3 g), snížila hladina kadmia ve sledovaných tkáních o 37,5 % v ledvinách, 34 % v játrech a ve svalovině dokonce o 80,8 % v porovnání se skupinou, která byla zatížena podáváním krmné dávky s chloridem kademnatým bez huminových kyselin (Herzig et al. 2007). Při sledování účinku huminových kyselin na snižování koncentrace mědi v orgánech kuřat bylo též zjištěno, že skupina, která dostávala v krmné dávce 0,16 g síranu měďnatého společně s 0,5 g/kg huminových kyselin, vykazovala prokazatelně nižší zastoupení mědi ve sledovaných orgánech (o 3,2 % nižší koncentrace Cu v játrech, o 14,1 % v ledvinách a o 30 % ve svalovině) než skupina, jež byla v krmné dávce zatížena pouze síranem měďnatým (Suchý et al. 2011). Huminové kyseliny také dokázaly přispět ke snížení koncentrace olova v orgánech a svalovině kuřat (Zralý et al. 2007). K výrazným změnám však nedošlo při zkoumání vlivu kyseliny huminové na ukládání zinku v orgánech a svalovině brojlerových kuřat (Herzig et al. 2009).

Autoři těchto studií však upozorňují i na možná negativa přidávání humátů (především oxihumolitu) do krmné dávky. Říkají, že tyto látky jsou v krmivu balastní složkou a snižují tím jeho nutriční hodnotu (Suchý et al. 2011). Existuje také riziko při vylučování vyvázaných látek do životního prostředí. Při vylučování by tak mohlo docházet ke kumulaci či případné reinfekci vyvázaných látek. Kontaminanty by se tak znovu mohly dostat do potravního řetězce (Suchý et al. 2011).

3.6.4.4 Vliv kyseliny huminové na růst plísní, imunitní systém a mikrobiální aktivitu

Zkoumání účinku huminových kyselin směřovalo i k výzkumu vlivu huminových kyselin na imunitní systém a růst plísní. Předpokládalo se, že huminové kyseliny mají potenciál inhibovat růst plísní a bakterií, čímž sníží i hladinu toxinů v organismu. Dalším předpokladem

bylo to, že složitá makrokoloidní struktura huminových kyselin by mohla mít ochranný vliv na sliznici střeva a žaludku, a tím zabránovat absorpci toxických metabolitů (Arif et al. 2019).

Arafat & Khan et al. (2017) zjistili, že přidání 0,1–0,3 % huminových kyselin do krmiva dokáže snížit účinky aflatoxinu a zároveň snižuje zbytky tohoto toxinu v játrech, což přispívá k ochraně tohoto orgánu. Jejich výzkum pak potvrdili i Ghahri et al. (2009), kteří říkají, že k potlačení nepříznivých účinků aflatoxinu u brojlerů postačují dávky 0,2–0,4 % huminových kyselin.

Ukázalo se také, že huminové kyseliny mají imunostimulační vlastnosti. Zvyšují počty lymfocytů, leukocytů, globulinu i fagocytózy (Salah et al. 2015). Bylo také zjištěno, že huminové kyseliny mají vliv na aktivitu neutrofilů, které by mohly chránit organismus před patogenními bakteriemi a snižovat tak úmrtnost během akutní bakteriální infekce (Dabovich et al. 2003). Tím, že mají schopnost zabránit kolonizaci střevních patogenů, zlepšují i nutriční hodnotu krmiva (Kocubagli et al. 2002).

Již v roce 1998 Schermer et al. uvedli, že by huminové kyseliny mohly mít pozitivní vliv i na mikrobiální aktivitu v tenkém střevě, čímž by se mohla zvýšit užitečnost lepším využitím živin. Bylo zjištěno, že huminové látky vykazují antimikrobiální aktivitu. Mezi druhy, u nichž bylo zjištěno, že přírodní huminové deriváty jsou inhibiční, patří: *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Strpyogenes* a *Staphylococcus epidermidis* (Riede et al. 1991). V těle tak huminové kyseliny potlačují škodlivé mikroorganismy, čímž podporují růst a vývoj zdraví prospěšným organismům (Schepetkin et al. 2003).

Společným výsledkem těchto pokusů s huminovými látkami je ve většině studií potvrzení zvýšení živé hmotnosti zvířat, zrychlení růstu, zvýšení příjmu krmiva a konverze potravin a silnější odolnost proti chorobám. Huminové kyseliny zlepšují fungování imunitního systému zejména mladých zvířat a také snižují výskyt střevních nemocí a průjmů (Islam et al. 2005).

4 Metodika

4.1 Analyzovaný materiál

V první části experimentu bylo analyzováno složení vzorků, které pocházely z výroby tekutých ochucovadel a byly získány jako odpad během kyselé hydrolýzy sójových produktů. Principem výroby ochucovadel je hydrolýza vstupní suroviny v kyselině chlorovodíkové, přičemž přebytek kyseliny je neutralizován uhličitanem sodným (jedlou sodou) a námi analyzované vzorky jsou odpadním produktem, který byl od výrobku oddělován při filtraci hydrolyzovaného a neutralizovaného materiálu. Každý vzorek filtrátu (TSH; TSHB-N; TSH-N i TSH-BR) byl analyzován dvakrát a výsledek analýzy je aritmetickým průměrem těchto hodnot.

4.1.1 Stanovení sušiny zkoumaného materiálu

Sušina byla stanovena pomocí vysoušení naváženého vzorku (5 g), který byl umístěn do předem zvážené hliníkové misky. Vážení probíhalo na analytických vahách s přesností na desetitisíciny gramu. Takto připravený vzorek byl umístěn do vysoušecí pece, kde byl ponechán při 103 °C po dobu 6 hodin. Následně byl přemístěn do exsikátoru, kde vychladnul, a poté byl zvážen. Množství sušiny vzorku v procentech bylo stanoveno výpočtem s využitím následujícího vzorce:

$$\text{Obsah sušiny vzorku (\%)} = \frac{\text{hmotnost vysušeného vzorku s miskou (g)} - \text{hmotnost prázdné misky (g)}}{\text{hmotnost naváženého vzorku (g)}} * 100$$

4.1.2 Stanovení popelovin materiálu

Obsah popela je hrubým ukazatelem množství minerálních látek ve vzorku. Byla využita vážková metoda stanovení popelovin. Navážený vzorek (5 g) byl přemístěn do předem zvážené porcelánové misky, v níž byl umístěn do spalovací pece, ve které byl ponechán při teplotě 550 °C po dobu 4 hodin. Následně byl přemístěn do exsikátoru a po vychladnutí byl zvážen. Procentuální zastoupení popelovin ve vzorku bylo stanoveno výpočtem:

$$\text{Obsah popelovin (\%)} = \frac{\text{hmotnost spáleného materiálu s miskou (g)} - \text{hmotnost prázdné misky (g)}}{\text{hmotnost naváženého vzorku (g)}} * 100$$

4.1.3 Stanovení minerálních látek ve vzorku pomocí optické emisní spektrometrie

Pro stanovení obsahu minerálních látek ve zkoumaných vzorcích byla využita metoda ICP-OES („Inductively coupled plasma optical emission spectrometry“). Ta je, jak z názvu vyplývá, založena na optické emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem. Navážený vzorek (0,5 g) se nejdříve zpopelnily a popel se rozpustil v HCl. Tento roztok byl zmlžen a vzniklá mlha byla proudem argonu vedena do hořáku, ve kterém je za pomoci střídavého vysokofrekvenčního pole udržováno plazma o teplotě 5726 až 9726 °C. Pomocí vysoké teploty došlo k excitaci a ionizaci prvků ve zkoumaném vzorku. Při jejich přechodu do stavů s nižší energií byla vyzářena charakteristická kvanta záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity

záření na charakteristické linii se stanovila koncentrace zkoumaného prvku ve vzorku metodou kalibrační křivky. Pracovní postup byl v souladu s postupem ČSN EN 15510 (467026) (2018).

4.1.4 Stanovení dusíkatých látek (dusíku) metodou podle Kjeldahla na přístroji Kjelttec 2400 (Foss)

Stanovení dusíkatých látek bylo provedeno na přístroji Kjelttec 2400 a skládalo se ze tří základních kroků: navážení; mineralizace a analýza.

K samotnému navážení byly zapotřebí: analytické váhy s přesností vážení na 0,0001 g, navažovací lodička, navažovací lžička, štětec nebo špachtle a mineralizační tuba (250 ml). Hmotnost navážky byla 0,5 g s odchylkou 0,05 g, přičemž každý vzorek byl analyzován minimálně dvakrát. Výsledek navážky byl aritmetický průměr. Po vložení navažovací lodičky byly vynulovány váhy a na lodičku bylo vloženo cca 0,5 g vzorku. Po zapsání hmotnosti byl vzorek vložen do mineralizační tuby, a poté byla zvážena prázdná lodička (u suchých a sypkých vzorků stačí pouze vymést štětcem z lodičky všechen materiál a pro kontrolu vložit na váhu).

$$\text{Hmotnost vzorku} = (\text{prázdná lodička} + \text{navážka}) - \text{lodička po vložení vzorku do tuby}$$

K naváženému vzorku v tubě byla přidána mineralizační tableta Kjeltabs, 10 ml 96% kyseliny sírové a 10 ml 33% peroxidu vodíku. Vzorek byl následně mineralizován při 420 °C po dobu 45 minut. Během mineralizace se dusík přítomný ve vzorku převedl na amoniak vázaný ve formě síranu amonného. Po uplynutí stanovené doby byl stojan se vzorky vyjmut a nechal se vychladnout. Následně se do mineralizačních tub přidalo 2 × 5 ml destilované vody a obsah byl promíchán.

Vlastní analýza probíhala v přístroji na základě titrace pomocí alkalického hydroxidu sodného, díky kterému se amoniak ze síranu amonného uvolnil a stanovil se tak obsah dusíkatých látek. Ten byl na přístroji uveden jako % dusíkatých látek ve vzorku.

4.1.5 Stanovení aminokyselin pomocí kyselé hydrolýzy a jejich analýza na přístroji AAA 400 (Ingos)

Principem stanovení aminokyselin je jejich extrakce ze vzorku zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. Kromě aminokyselin jsou v extraktu i dusíkaté makromolekuly, které se odstraní filtrací. Extrahovaný a přefiltrovaný roztok aminokyselin se upraví na pH 2,2. Jednotlivé aminokyseliny se pak separují katexovou chromatografií a stanoví se po reakci s ninhydrinem fotometrickou detekcí při 570 nm na přístroji AAA400.

Ke zjištění obsahu jednotlivých aminokyselin ve vzorku byly potřeba tyto chemikálie: 6M HCl (roztok vznikl smícháním destilované vody a 35 % HCl v poměru 1/1), plynný dusík, destilovaná voda, ethanol a ředící pufr.

Z nástrojů se pro hydrolýzu používají: analytické váhy; teflonové nádoby, nebo speciální tuby s teflonovou zátkou; ostředivka, vakuová rotační odparka; pH metr a odparné baňky.

Do nádoby byl navážen vzorek (0,5 g ± 0,2 mg), na který se nakapalo několik kapek ethanolu. To bylo provedeno kvůli tomu, aby se vzorek snadno rozmíchal v kyselině. Poté bylo ke vzorku přidáno 50 ml 6 M HCl a následně byl vzorek probublán dusíkem, aby se odstranil přebytečný vzduch. Vlastní hydrolýza probíhala při 110 °C 23 hodin. Vzorek se pak nechal

vychladnout a následně byl přefiltrován přes filtrační papír se střední rychlostí průtoku do odparné baňky hruškovitého tvaru o objemu 1000 ml. Zbytky hydrolyzovaného vzorku na stěnách nádoby byly promyty 3 × 5 ml destilovanou vodou a znovu přefiltrovány. Na vakuové rotační odparce se pak vzorek při 60 °C odpařil do sirupovité konzistence. Odpařený vzorek se po doplnění o ředící pufr přenesl do 50 ml odměrné baňky a nechal se vychladnout. Aminokyselinové složení vzorku pak bylo analyzováno na přístroji AAA 400, který funguje na principu fotometrické detekce.

4.1.6 Stanovení tuku na přístroji SER 146 (Velp)

Pro stanovení množství tuků ve zkoumaném vzorku jsou zapotřebí: petroléter; celulosové patrony; extrakční skleničky a sušárna (103 °C). Principem stanovení tuku je extrakce tukových frakcí vhodným rozpouštědlem. Po odstranění rozpouštědla se získaný extrakt zváží.

Do celulosových patron byly po 5 g ± 0,2 mg naváženy vzorky. Poté byly patrony ucpány vatou a vloženy do přístroje SER 146. Ke každé patroně byla přiřazena vysušená a zvážená skleněná extrakční nádoba s rozpouštědlem (petroléter; 75 ml). Během první fáze extrakce byly patrony se vzorkem ponořeny do rozpouštědla. Ve druhé fázi byly patrony z rozpouštědla vytaženy a nechaly se prokapávat. V poslední fázi se extrakční nádoby, ve kterých byl extrahovaný tuk, vysušily po dobu 1 hodiny ve vysoušecí peci. Po vyjmutí ze sušárny se nechaly vychladnout a následně byly nádoby s tukem váženy. Obsah tuku v nádobce pak byl stanoven výpočtem:

$$\text{Množství tuku ve vzorku (\%)} = \frac{\text{extrakční nádoba s tukem (g)} - \text{extrakční nádoba}}{\text{navážený vzorek}} * 100$$

4.1.7 Stanovení hrubé vlákniny s pomocí přístroje ANKOM220 Fiber Analyzer (Ankom)

Hrubá vláknina je nerozpustná frakce vlákniny, která je složena z celulózy a ligninu. Pro její stanovení byla použita slabá kyselina a slabá zásada. Tzv. rozpustná vláknina při tomto stanovení přechází do inkubačního roztoku.

Pro stanovení hrubé vlákniny bylo zapotřebí slabých roztoků H₂SO₄ (c = 0,1275 mol.dm⁻³): 14,16 ml 96% H₂SO₄ bylo smícháno s 2 l destilované vody a NaOH (c = 0,313 mol. dm⁻³): 25 g NaOH bylo přidáno do 2 l destilované vody.

Filtrační sáčky byly nejprve promyty v acetonu, a poté nechány na vzduchu odvětrat. Sáčky byly poté popsány fixem a zváženy. Do každého z nich byl navážen 1 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Takto připravené vzorky v sáčku byly zataveny. Jeden sáček byl ponechán prázdný, tzv. kontrola.

Obsah sáčků byl před uložením do přístroje ANKOM220 Fiber Analyzer rovnoměrně rozprostřen. Sáčky byly vloženy do nosiče (tři vzorky do jednoho oddílu). Do přístroje byla nalita H₂SO₄ (c = 0,1275 mol.dm⁻³), bylo zapnuto topení (100 °C) a míchání, a poté byl přístroj uzavřen. Po 45 minutách bylo vypnuto míchání a topení a pomocí vypouštěcího ventilu byla vypuštěna kyselina. Po otevření víka byl obsah přístroje i se vzorky třikrát propláchnut horkou vodou (100 °C). Pak byl do přístroje vlit NaOH (c = 0,313 mol.dm⁻³) a bylo opět zapnuto míchání a topení. Po dalších 45 minutách bylo vypnuto míchání i topení a pomocí vypouštěcího

ventilu byl NaOH vypuštěn. Následovalo dvojí promytí přístroje horkou vodou (100 °C). Poslední proplach byl proveden studenou vodou, aby došlo k ochlazení přístroje i sáčků. Po každém naplnění analyzátoru bylo na 5 minut zapnuto míchání. Následně byly sáčky vyjmuty, vysušeny pomocí filtračního papíru a vloženy na 3 minuty do acetonu. Sáčky se pak na filtračním papíru nechaly vyschnout a odvětrat. Poté byly na 4 hodiny vloženy do sušárny o teplotě 103 °C. Po vychladnutí v exsikátoru byly zváženy a každý sáček byl vložen do předem zváženého porcelánového kelímku a žíhán při 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po vychladnutí v exsikátoru byl porcelánový kelímek zvážen a byla zaznamenána hmotnost spáleného obsahu. Hrubá vláknina CF v % byla vypočtena pomocí vztahu:

$$CF (\%) = \left(\frac{m_3 + m_4 - m_5 - (m_1 * c_1)}{m_2} \right) * 100 \qquad c_1 = \frac{m_3}{m_1}$$

kdy:

- m_1 je hmotnost prázdného sáčku v g,
- m_2 je hmotnost navážky vzorku v g,
- m_3 je hmotnost sáčku po vysušení v g,
- m_4 je hmotnost prázdného kelímku po vysušení v g,
- m_5 je hmotnost kelímku po spálení,
- c_1 je korekční faktor prázdných sáčků daných do analýzy bez vzorků.

4.1.8 Gravimetrické stanovení huminových frakcí ve vzorku

Principem stanovení huminových frakcí ve zkoumaném vzorku byla metoda gravimetrického stanovení, kterou publikovali Ghabbour et al. (2012). Tato metoda je sice časově náročná, ale z hlediska bezpečnosti a jednoduchosti stanovení je výhodnější než ostatní metody využívané pro stanovení huminových látek. Celý postup byl opakován třikrát.

Ke stanovení byly využity tyto nástroje: 50 ml falkonky; analytické váhy; sušárna a odstředivka.

Z chemikálií byly využity slabé roztoky: 0,1M NaOH (998 ml H₂O + 4 g NaOH) a HCl.

Nejprve byly označeny prázdné falkonky, pak do nich byl navážen 1 g zkoumaného vzorku s přesností na 0,1 mg. Ke každému vzorku ve falkonce bylo přilito 25 ml demineralizované vody a vzniklá směs byla protřepávána 15 minut rychlostí 250 rpm při pokojové teplotě. Následovalo odstředění suspenze při 11 000 rpm na 30 minut. Supernatant byl posléze odstraněn. Ke zbylému sedimentu bylo přidáno 25 ml 0,1M NaOH, poté byl zkoumaný vzorek 24 hodin při pokojové teplotě rychlostí 250 otáček za minutu protřepáván. Následovalo odstředění při 11 000 rpm a 4 °C po dobu 30 minut. Supernatant byl přelit do další falkonky, která se ještě jednou odstředila. Po druhém odstředění bylo potřeba upravit pH roztoku na 1,6 pomocí koncentrované HCl. Usazený pelet z obou odstředěných vzorků se sloučil do jedné baňky, přidalo se k němu 25 ml NaOH a vzniklá suspenze se nechala míchat dalších 24 hodin při 250 otáčkách za minutu. Supernatant se po okyselení nechal stát při pokojové teplotě dalších 24 hodin. Oddělily se 2 fáze, přičemž horní žlutá obsahovala fulvokyseliny a spodní hnědá a gelovitá obsahovala huminové kyseliny. Světlý supernatant byl slit do předem zváženého keramického kelímku a nechal se vysušit při 103 °C po dobu 4 hodin.

Následně se nechal vychladnout v exsikátoru, a pak byl zvážen. Po zvážení byl spálen v muflové peci, aby bylo zjištěno množství popelovin. Množství fulvonových kyselin pak bylo vypočteno:

$$\text{Hmotnost fulvonových kyselin (g)} = \text{hmotnost po vysušení (g)} - \text{hmotnost po spálení (g)}$$

Tmavý podíl byl 2 × promyt destilovanou vodou a nechal se odstředit. Následně byl vysušen, zvážen a spálen v peci. Výsledná hmotnost byla hmotností huminových kyselin ve vzorku.

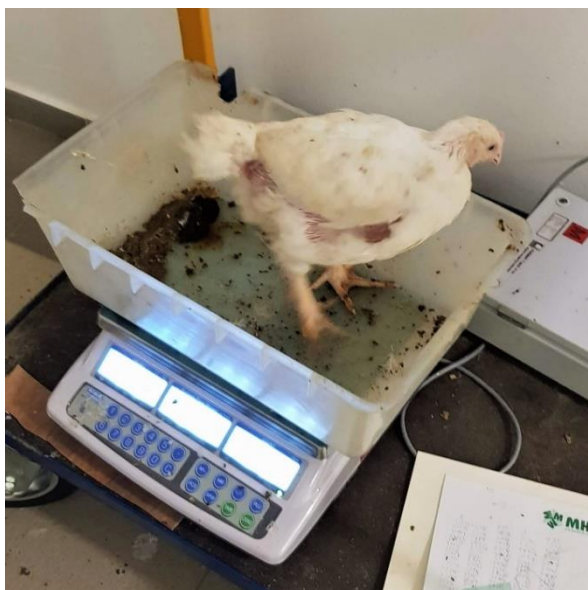
4.2 Výkrm kuřat s využitím filtrátu

Druhá část experimentu se věnovala výkrmu kuřat s využitím filtrátu z výroby tekutých ochucovadel v krmné směsi. K výkrmu bylo použito 192 jednodenních, 36 g vázících, nesexovaných kuřat hybridní kombinace Ross 308, která byla chována a vykrmována podle metodiky firmy Aviagen (2018), jež produkuje rodičovská hejna brojlerů. Výkrm byl proveden v Demonstrační a pokusné stáji na České zemědělské univerzitě v Praze od 07.11.2019 do 11.12.2019. Doba výkrmu byla 35 dnů.

Jednodenní kuřata byla rozdělena do čtyř skupin. V kontrolní skupině (K) bylo 69 kuřat, v pokusné skupině (A – 0,5 %) bylo 39 kuřat, v pokusné skupině (B – 1 %) bylo 40 kuřat a ve třetí pokusné skupině (C – 1,5 %) bylo 44 kuřat. Procenta u každé skupiny znázorňují množství filtrátu z výroby tekutých ochucovadel v krmné směsi. Každá skupina byla umístěna do svého boxu, který velikostně odpovídal podmínkám pro výkrm daného počtu kuřat. Hustota zástavu byla max. 33 kg/m², což je hodnota vyplývající ze Směrnice EU o dobrých životních podmínkách brojlerů (2007). Podestýlka v jednotlivých boxech byla rozhrnuta rovnoměrně do výšky 3–5 cm. Vlhkost ve stáji byla po celou dobu výkrmu mezi 50–70 %. Světelné podmínky se brojlerům měnily v souladu s doporučenou metodikou. Během prvních 7 dnů se kuřatům svítilo intenzitou 30–40 luxů a byla jim poskytnuta 1 hodina tmy (méně než 0,4 luxu), aby se kuřata mohla adaptovat na nové prostředí a byl podpořen příjem vody a krmiva. V následujících dnech byla intenzita osvětlení snížena minimálně na 5–10 luxů. V noci byla zvířatům poskytnuta nepřerušovaná doba tmy nejméně na 4 hodiny (méně než 0,4 luxů). Teplota ve stáji byla při naskladnění 30 °C. Postupně byla snižována a po 27 dnech stáří kuřat byla udržována na konstantní teplotě 20 °.

Během výkrmu měla kuřata adlibitní přístup k vodě i krmivu. Krmivo bylo distribuováno ve formě granulované směsi o průměru 1 až 3 mm a bylo umístěno do červeného krmítka se zásobníkem. K napájení sloužily kloboukové napáječky. Voda v nich byla průzračná bez organických látek nebo nečistot a měněna byla v takových časových intervalech, aby nedošlo k její kontaminaci mikroorganismy. Teplota vody korespondovala s teplotou prostředí.

V rámci výkrmu byla provedena čtyři kontrolní vážení. První proběhlo 12. den (18.11.2019) věku kuřat, druhé ve věku 21 dnů (27.11.2019), třetí 28. den (04.12.2019) a poslední 35. den (11.12.2019). Kuřata byla nejdříve vybrána ze svých boxů a přemístěna do plastových přepravek, ve kterých byla odnesena do místnosti s elektronickými váhami (přesnost na 0,1 g). Vážení probíhalo individuálně a výsledek byl zapsán do záznamového archu (Obrázek 6). Během vážení byla kuřatům vyměněna podestýlka.



Obrázek 6 Brojlerové kuře v plastové misce na elektronické váze (foto: vlastní archiv)

4.2.1 Krmné směsi využité při výkrmu

Pro výkrm byly využity 2 základní druhy krmných směsí, které neobsahovaly žádné medikamenty a byly vytvořeny s pomocí programu Optimix 2017. Směs BR1 byla kuřatům podávána do 12. dne věku života, poté byla nahrazena směsí BR2, která se zkrmovala až do konce výkrmu. Směs BR3, která je standardně využívána ve velkochovech, nebyla pro účely experimentu využita. Do experimentálních směsí BR1 a BR2 pro skupiny kuřat A, B a C, byl zařazen filtrát TSH-BR, jehož složení je zobrazeno v samostatné příloze v Tabulce 22: 0,5 % pro skupinu A, 1 % pro skupinu B a 1,5 % pro skupinu C. Směsi BR1 i BR2 pro kontrolní skupinu (K) žádný filtrát neobsahovaly. Celkem tak bylo vytvořeno 8 krmných směsí.

Základem sacharidové složky v krmivu byla pšenice. Sójový extrahovaný šrot a řepkové výlisky dodaly většinu dusíkatých látek a k doplnění energie v krmivu posloužil řepkový olej. Další důležité složky směsi jako aminokyseliny, vápník, fosfor, sodík a chlor byly doplněny podle potřeby jednotlivých receptur. Sodík a chlor byly doplněny pomocí krmné soli a jedlé sody, jejichž složení je v Tabulce 18 a 19. Do každé směsi bylo doplněno 1 % premixu biofaktorů pro brojlerová kuřata BR výkrm, jenž je vyráběn firmou Trow Nutrition Biofaktory s.r.o. Složení jednotlivých receptur krmných směsí včetně rozboru základních živin je zobrazeno v samostatné příloze v Tabulkách 14–17.

4.3 Statistické vyhodnocení

Pro statistické zhodnocení výsledků byl použit program Statistica 12 (Statsoft). Podrobné statistické vyhodnocení výsledků bylo vyhodnoceno analýzou rozptylu ANOVA Tukeyovou a Scheffého metodou. Analýze rozptylu předcházela analýza normálního rozdělení. Pro grafické znázornění hmotnostních přírůstků brojlerů byla použita metoda nejmenších čtverců. Tabulky a ostatní grafy byly vytvořeny pomocí programu Microsoft office Excel.

5 Výsledky

5.1 Výsledky analýzy filtrátu z výroby tekutých ochucovadel

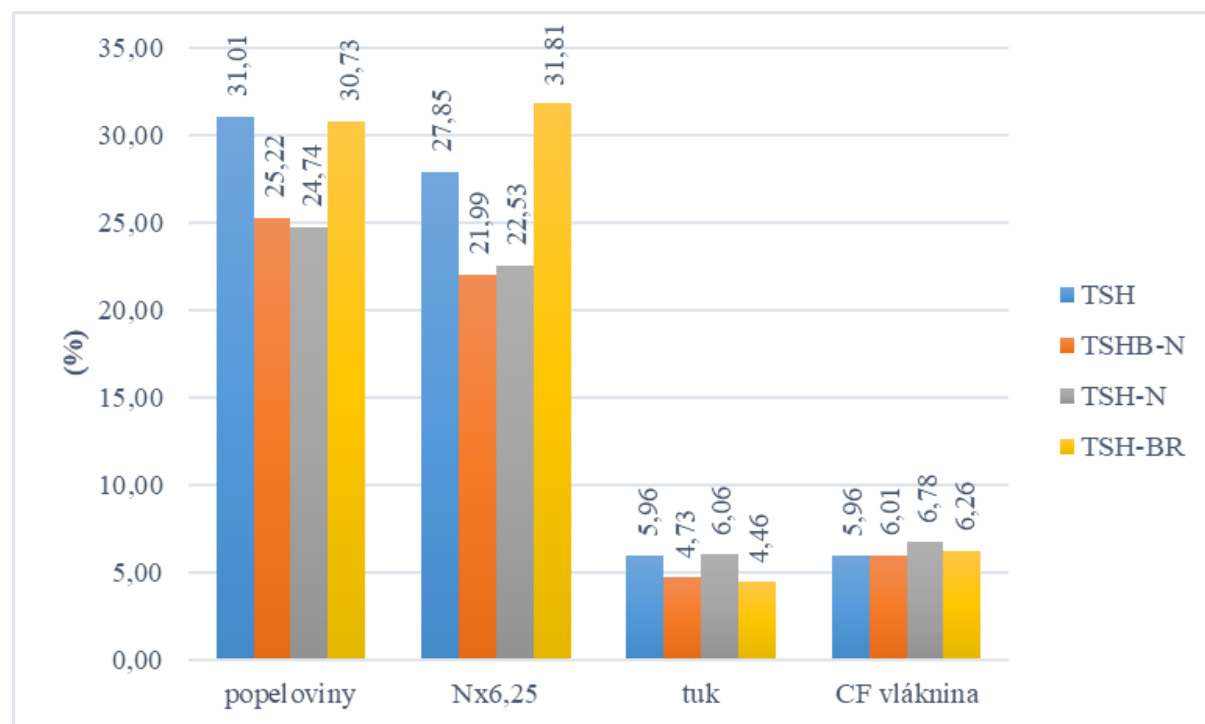
V rámci experimentu byly provedeny čtyři hlavní analýzy zkoumaných filtrátů. Byl zkoumán obsah základních živin; huminových a fulvonových kyselin; aminokyselin a minerálních látek. Byla též provedena základní chemická analýza živin jednotlivých krmných směsí, jejíž výsledky jsou zaznamenány v Tabulce 21 v samostatné příloze I.

Z výsledků rozboru základních živin filtrátů (Tabulka 8, Graf 3) je zřejmé, že filtráty TSH s TSH-BR a TSHB-N s TSH-N, jsou si v procentuálním zastoupení dusíkatých látek a popelovin velmi blízké. Nejvyšší obsah minerálních látek (popelovin) 31,01 % byl zjištěn ve filtrátu TSH, naopak nejnižší množství bylo zaznamenáno ve filtrátu TSH-N (24,74 %). Dusíkaté látky byly nejvíce obsaženy ve vzorku TSH-BR (31,81 %). Tuk (6,06 %) a vláknina (6,78 %) pak byly v nejvyšším množství zaznamenány ve filtrátu TSH-N.

Tabulka 8 Rozbor základních živin ve zkoumaných filtrátech podle Weendenské analýzy v (%); žluté buňky v tabulce znázorňují nejvyšší zaznamenané hodnoty

Filtrát	Sušina (%)	Popeloviny	N×6,25	Tuk	CF vláknina	OH	BNLV
TSH	100	31,011	27,855	5,955	5,961	68,989	29,218
TSHB-N	100	25,217	21,992	4,732	6,010	74,783	42,050
TSH-N	100	24,737	22,527	6,060	6,775	75,263	39,901
TSH-BR	100	30,727	31,809	4,455	6,258	69,272	33,611

Graf 3 Znázornění procentuálního zastoupení základních složek ve zkoumaných filtrátech



V rámci rozboru zkoumaných filtrátů byl nejvyšší obsah huminových kyselin (Tabulka 9) naměřen ve filtrátu TSH-N (11,41 %) a nejvyšší obsah fulvokyselin pak byl zjištěn u vzorku TSH-BR (6,18 %). Z Tabulky 9 je zřejmé, že rozdíl v obsahu fulvokyselin byl mezi jednotlivými vzorky v rozmezí jednotek procent. Větší rozdíl pak byl zaznamenán u huminových kyselin. Statistické vyhodnocení rozdílů obsahu fulvonových kyselin mezi vzorky (Tabulka 10) však ukázalo, že mezi zkoumanými filtráty (kromě vztahu TSH-N a TSHB-N), byly statisticky významné rozdíly ($p \leq 0,05$). V obsahu huminových kyselin neexistoval s 95% pravděpodobností statisticky významný rozdíl pouze mezi vzorky TSH a TSH-BR (Tabulka 11).

Tabulka 9 Obsah huminových a fulvonových kyselin ve zkoumaných filtrátech; žluté buňky znázorňují nejvyšší zaznamenané hodnoty

Filtrát	Sušina (%)	Huminové kyseliny (%)	Fulvokyseliny (%)
TSH	100	7,885	5,502
TSHB-N	100	9,589	4,979
TSH-N	100	11,406	4,779
TSH-BR	100	8,597	6,180

Tabulka 10 Statistické vyhodnocení rozdílů mezi množstvím fulvokyselin v jednotlivých filtrátech; Tukeyův HSD test; proměnná byla množství fulvonových kyselin v %; reziduální rozptyl $P\check{C} = ,01903$; $\alpha = 0,05$; červené hodnoty jsou statisticky významné

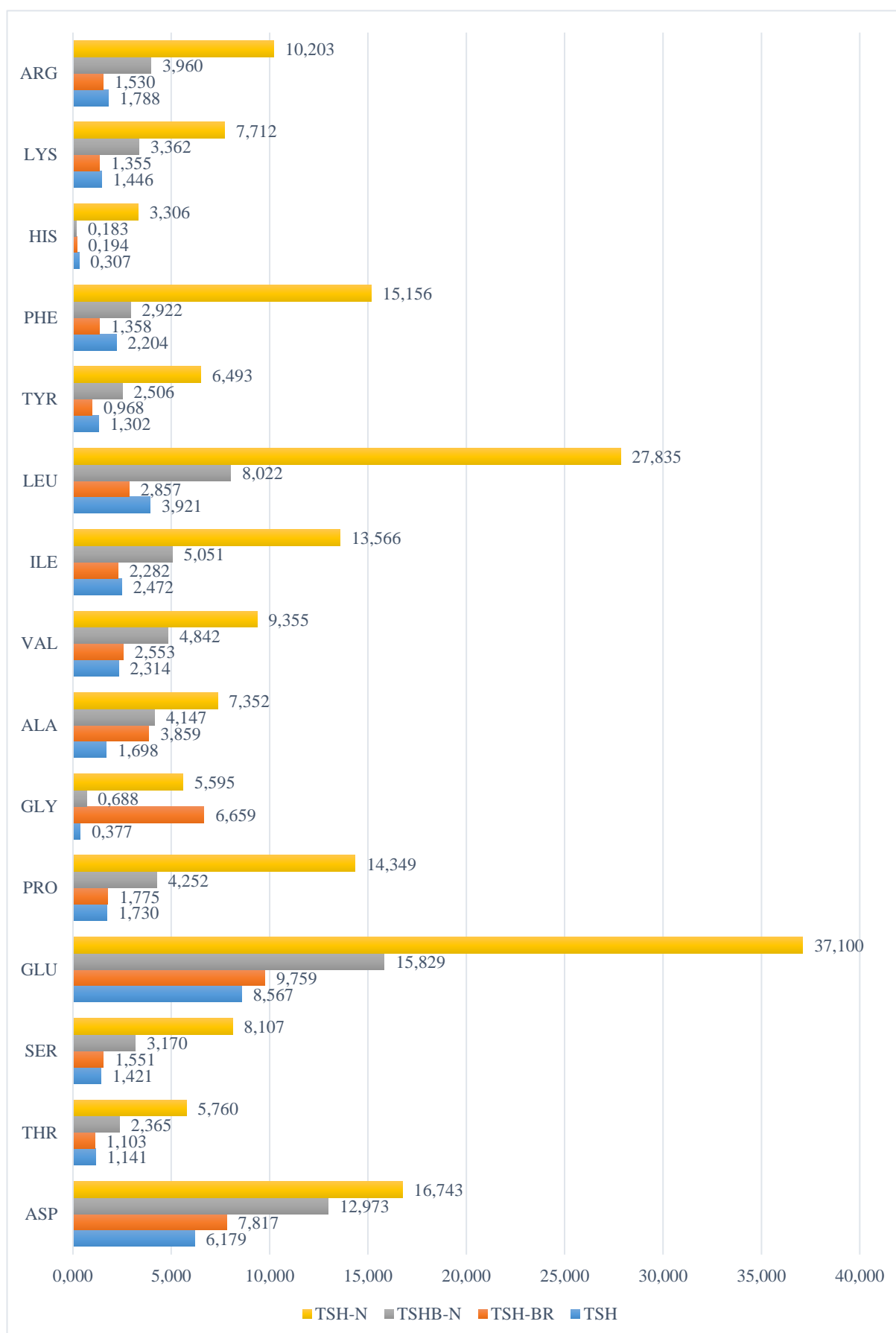
Vzorek	TSH-N	TSHB-N	TSH	TSH-BR
TSH-N		0,348001	0,001092	0,000232
TSHB-N	0,348001		0,007344	0,000239
TSH	0,001092	0,007344		0,001576
TSH-BR	0,000232	0,000239	0,001576	

Tabulka 11 Statistické vyhodnocení rozdílů mezi množstvím huminových kyselin v jednotlivých filtrátech; Scheffého test; proměnná byla množství huminových kyselin, reziduální rozptyl $P\check{C} = ,07031$, hladina významnosti $\alpha = 0,05$; červené hodnoty jsou statisticky významné

Vzorek	TSH-N	TSHB-N	TSH	TSH-BR
TSH-N		0,000255	0,000002	0,000010
TSHB-N	0,000255		0,000402	0,012579
TSH	0,000002	0,000402		0,065395
TSH-BR	0,000010	0,012579	0,065395	

V rámci analýzy filtrátů bylo stanoveno 15 proteinogenních aminokyselin. Aminokyselinové zastoupení ve filtrátech TSH-N a TSHB-N, s výjimkou glycinu a alaninu, bylo značně podobné (Graf 4). Druhý nejvyšší obsah aminokyselin (kromě glycinu) byl zaznamenán u filtrátu TSH. Nejvyšší naměřené hodnoty u všech aminokyselin byly zjištěny u filtrátu TSH-BR (nejméně 3,31 g/kg u histidinu a nejvíce 37,10 g/kg u kyseliny glutamové). Aminokyselina, jež byla u všech filtrátů nejvíce zastoupena, byla kyselina glutamová (8,57 g/kg u TSHB-N až 37,10 g/kg u TSH-BR). Naopak nejméně bylo ve zkoumaných filtrátech aminokyseliny histidinu (0,18 g/kg u TSH až 3,31 g/kg u TSH-BR).

Graf 4 Grafické znázornění zastoupení aminokyselin ve zkoumaných filtrátech (g/kg)



Množství minerálních látek (g/kg) bylo sledováno u 3 filtrátů (Tabulka 12). Filtrát TSH-BR nebyl do rozboru zařazen. Nejvyšší zastoupení všech minerálních látek kromě zinku (Zn) a mědi (Cu) bylo zjištěno u filtrátu TSH. Zn (0,00670 g/kg) a Cu (0,3871 g/kg) byly v nejvyšší míře zaznamenány u filtrátu TSHB-N. V rámci rozboru bylo provedeno i stanovení rtuti, jež byla nejméně zastoupena u filtrátu TSH (0,00163 ppm).

Tabulka 12 Obsah minerálních prvků ve zkoumaných filtrátech (g/kg u Hg ppm); žluté buňky značí nejvyšší naměřenou hodnotu

Filtrát	Na g/kg	Cl g/kg	K g/kg	Zn g/kg	Ca g/kg	Mg g/kg	Cu g/kg	Hg ppm
TSH	104,884	113,867	5,920	0,0063	0,387	0,647	0,0267	0,00163
TSHB-N	86,955	101,582	3,390	0,0067	0,185	0,235	0,0406	0,00230
TSH-N	66,397	88,887	3,523	0,0032	0,186	0,236	0,0333	0,00233

5.2 Výsledky výkrmu

Během výkrmu kuřat byly sledovány čtyři základní parametry: váha, přírůstek, konverze a spotřeba krmiva. Vyhodnocení výkrmu brojlerových kuřat základními popisnými statistickými metodami je uvedeno v samostatné příloze v Tabulce 25.

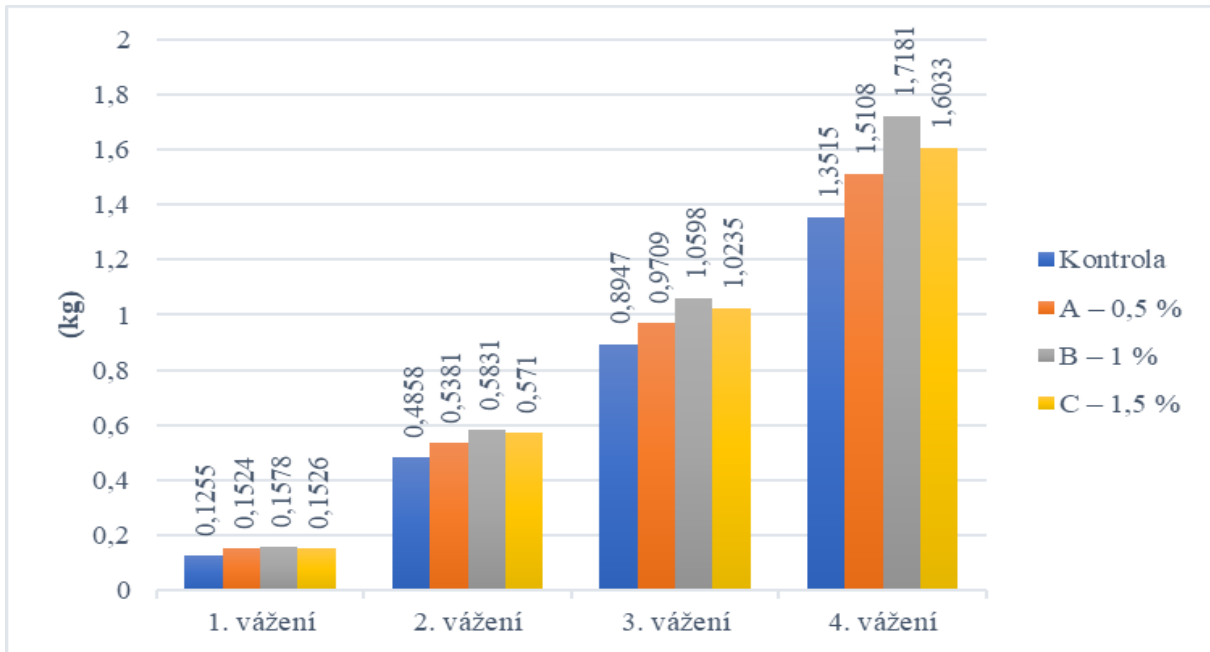
Ze znázornění v Grafu 5 vyplývá, že nejlepších hmotnostních výsledků dosahovala během všech vážení skupina B (1,7181 kg ± 0,04839 kg ve čtvrtém vážení), která měla v krmné směsi zařazené filtráty z výroby tekutých ochucovadel v 1 %. Skupina C, jež byla krmena směsí s 1,5 % filtrátu, si vedla vždy lépe než skupina A. Výsledky kontrolní skupiny (K) byly vždy nejhorší bez ohledu na číslo vážení (1,3515 kg ± 0,04638 kg ve čtvrtém vážení).

V Grafu 6 byly zaznamenány průměrné hodnoty hmotnosti jednotlivých skupin a 95% interval spolehlivosti pro dva faktory (váha a číslo vážení). Spojnice v grafu je mezi hmotnostními průměry skupin během jednoho vážení. Vertikální čáry vycházející z každého bodu jsou konfidenční intervaly. Pokud by docházelo k jejich překryvu mezi skupinami na spojnici, mohlo by to znamenat, že mezi skupinami není v hmotnosti statisticky významný rozdíl. Tento jev byl velmi dobře zřetelný během prvního vážení, kdy se všechny konfidenční intervaly překrývaly. Opačný jev byl pak patrný při čtvrtém vážení, kdy konfidenční interval skupiny B (v krmivu filtrát v 1 %) výrazně převyšoval skupinu K i A. Dalo se tedy předpokládat, že mezi průměrnými hmotnostmi skupin B × K i B × A existoval statisticky významný rozdíl. Tuto domněnku však bylo nutné ověřit vhodnou metodou analýzy rozptylu ANOVA.

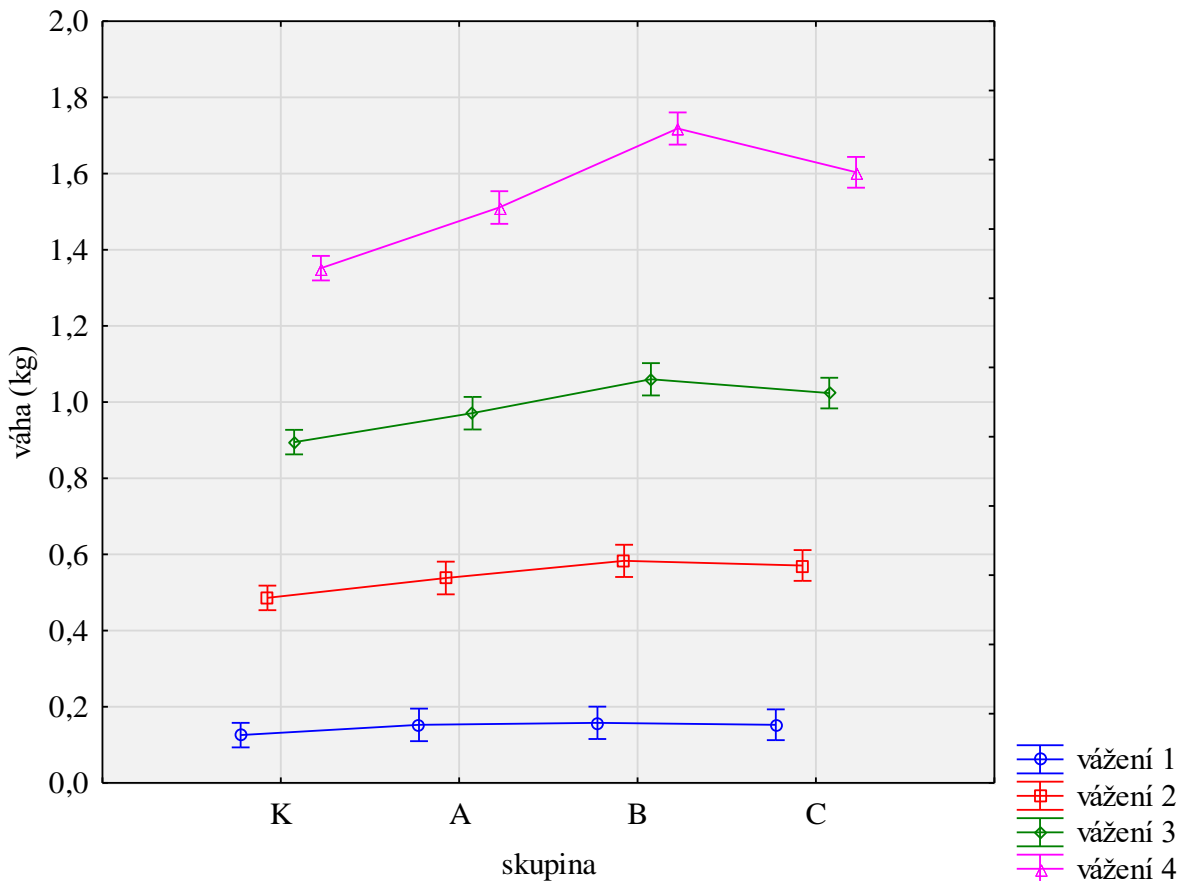
Ze statistického vyhodnocení analýzy rozptylu čtvrtého vážení (11.12.2019) Tukeyovou metodou při 95% pravděpodobnosti vyplývá, že mezi skupinami B × C i A × C není statisticky významný rozdíl; $p \geq 0,05$ (Tabulka 13). Ostatní interakce mezi skupinami během 4. vážení byly statisticky významné; $p \leq 0,05$.

Výsledky analýzy rozptylu ANOVA Tukeyovou metodou pro první tři vážení jsou znázorněny v Tabulkách 22–24 v samostatné příloze. Pokud byla hodnota $p \leq 0,05$, existoval mezi sledovanými skupinami statisticky významný rozdíl.

Graf 5 Znárodnění průměrné hmotnosti sledovaných skupin drůbeže během jednotlivých vážení; číslo nad každým sloupcem je průměrná váha v kg



Graf 6 Znárodnění váhových rozdílů mezi skupinami během jednotlivých vážení; průměry byly měřeny metodou nejmenších čtverců; vertikální sloupce v bodech označují 95% intervaly spolehlivosti; hodnoty na ose y jsou uvedeny v kg



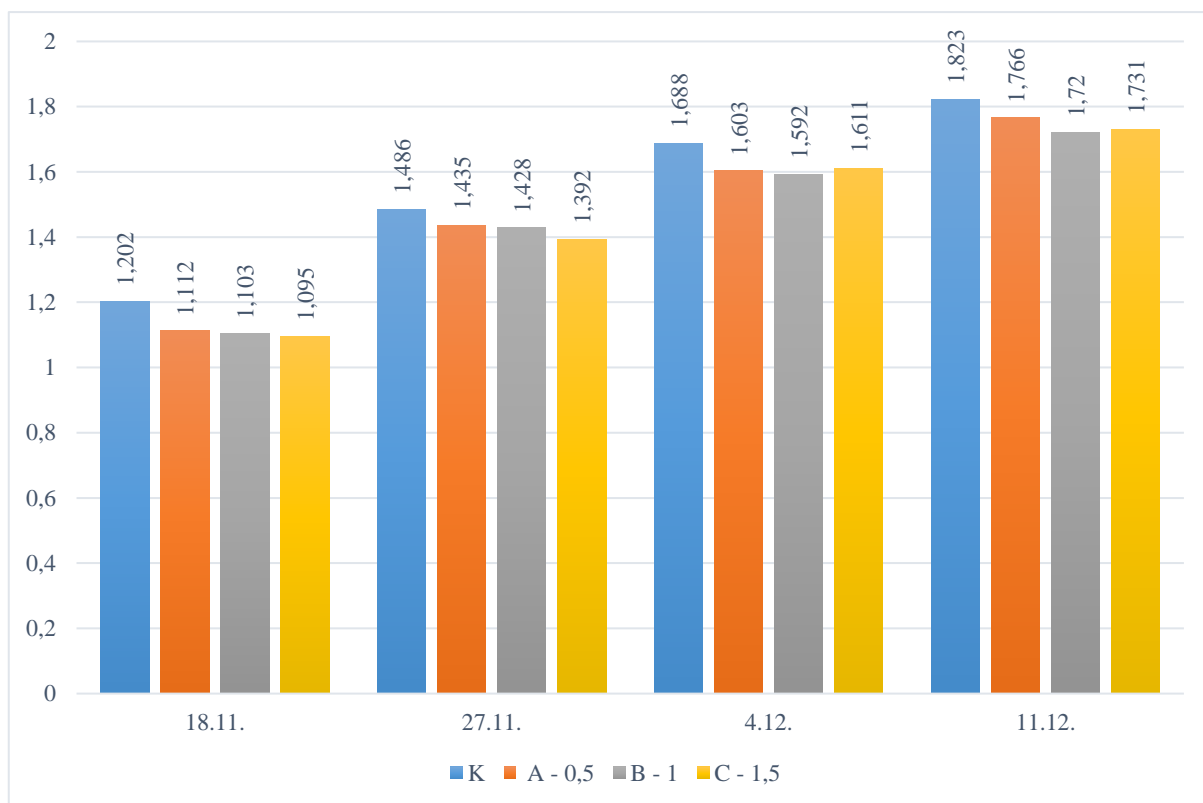
Tabulka 13 Tukeyův HSD test pro čtvrté vážení (11.12.2019); proměnná váha; hladina významnosti $\alpha = 0,05$; reziduální rozptyl PC \check{r} = ,04327; červené hodnoty jsou statisticky významné

Skupina	K	A – 0,5 %	B – 1 %	C – 1,5 %
K		0,000777	0,000008	0,000008
A – 0,5 %	0,000777		0,000062	0,180230
B – 1 %	0,000008	0,000062		0,055897
C – 1,5 %	0,000008	0,180230	0,055897	

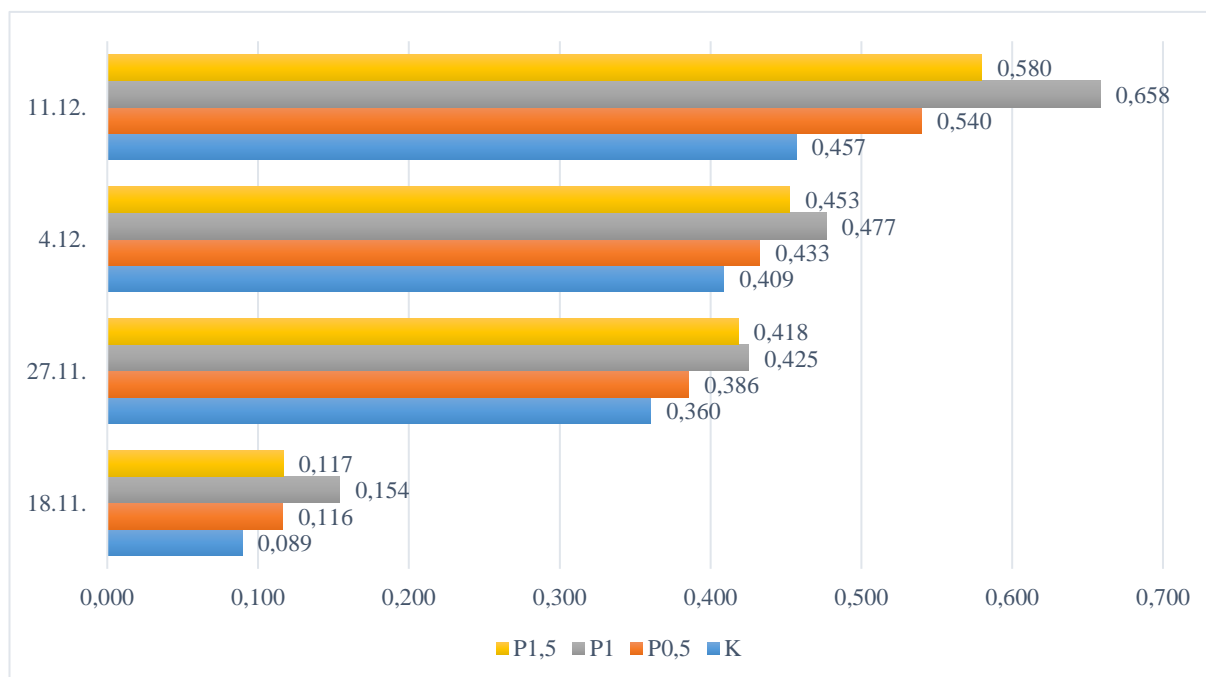
Konverze krmiva se v průběhu výkrmu u všech skupin zvyšovala (Graf 7). U skupiny K se zhoršila z hodnoty 1,202 kg krmiva/kg přírůstku po prvním vážení na 1,823 kg krmiva/kg přírůstku po posledním vážení. Nejlépe si vedla v průběhu prvních dvou vážení skupina C, u které se konverze zvýšila pouze o 0,297 kg směsi/kg přírůstku. Mezi 3. a 4. vážením dosahovala nejnižších hodnot konverze krmiva skupina B (1,72 kg krmiva po posledním vážení), které bylo do krmné směsi přidáváno 1 % filtrátu TSH-BR.

Dalším sledovaným parametrem během výkrmu bylo měření průměrného přírůstku brojlerových kuřat (Graf 8). Nejvyšších průměrných přírůstků během celého výkrmu dosahovala kuřata ve skupině B (0,154 kg po prvním vážení až 0,658 kg po čtvrtém vážení). Nejhorších přírůstků dosahovala kontrolní skupina K (0,089 kg po prvním vážení až 0,457 kg po posledním vážení). Skupiny A a C dosahovaly po prvním měření téměř identických přírůstků (A = 0,116 a C = 0,117), avšak od druhého vážení dosahovala lepší výsledků kuřata ve skupině C, kterým bylo do krmné dávky přidáváno 1,5 % filtrátu TSH-BR.

Graf 7 Konverze krmiva sledovaných skupin mezi jednotlivými váženími (kg směsi/kg přírůstku)

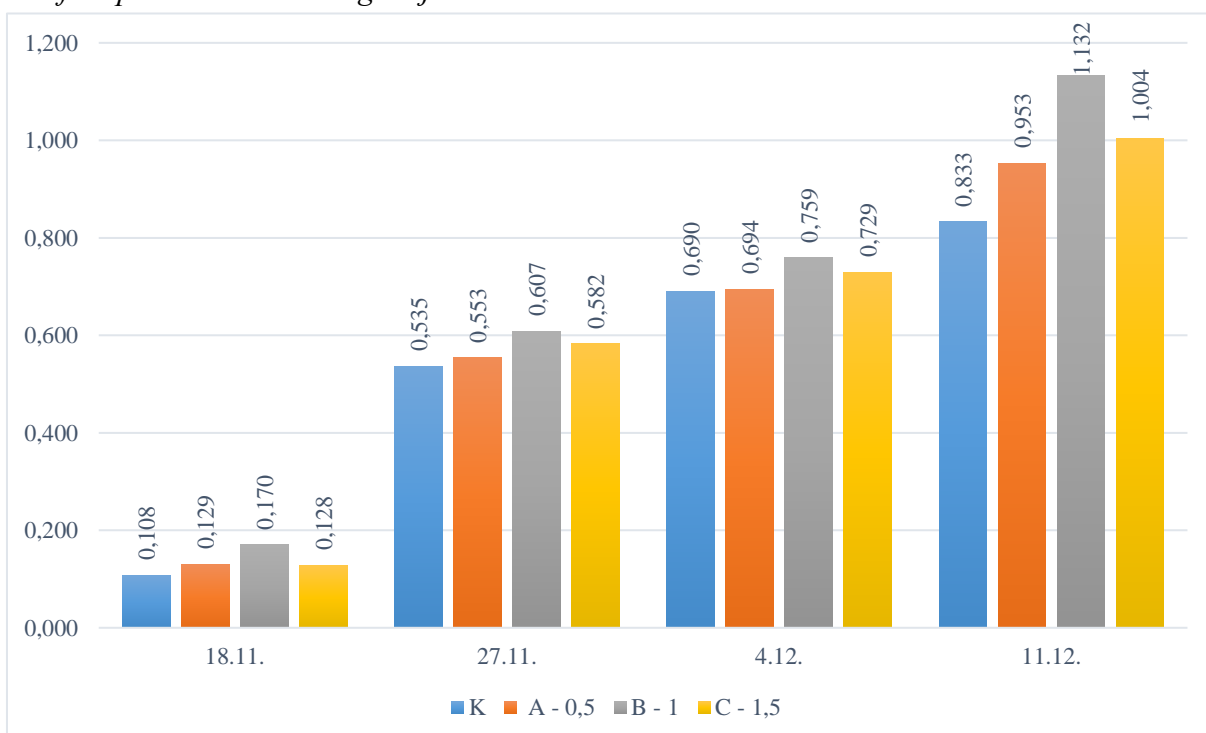


Graf 8 Průměrný přírůstek kuřat mezi jednotlivými váženími v kg



Posledním sledovaným parametrem během výkrmu byla spotřeba krmiva v kg na jedno kuře mezi jednotlivými váženími (Graf 9). Jak je z grafického znázornění patrné, nejvyšší spotřeby po celou dobu výkrmu dosahovala kuřata ze skupiny B (1 % filtrátu v krmné směsi). Po posledním vážení byl mezi kontrolní skupinou a skupinou B, jež dosahovala nejlepších výsledků z hlediska finální hmotnosti, rozdíl ve spotřebě krmiva téměř 36 %. Rozdíl ve spotřebě krmiva po posledním vážení mezi dvěma nejlepšími skupinami z hlediska průměrné hmotnosti (B a C) byl pak téměř 13 %.

Graf 9 Spotřeba krmiva v kg na jedno kuře



6 Diskuze

Z uvedených výsledků vyplývá, že přidavek filtrátu TSH-BR z výroby tekutých ochucovadel do krmné směsi v množství 0,5 %, 1 % i 1,5 % statisticky průkazně oproti kontrolní skupině zvyšuje hmotnost kuřat na konci výkrmu (Graf 5), průměrný přírůstek (Graf 8), spotřebu krmiva (Graf 9) a snižuje konverzi krmiva (Graf 7). Domníváme se, že pozitivní účinky filtrátů mohly být způsobeny jak přítomností dusíkatých látek a volných aminokyselin (Graf 4), tak vlivem huminových látek (huminových kyselin a fulvokyselin) (Tabulka 9). Tato domněnka koresponduje s výsledky studií, ve kterých byla zaznamenána zvýšená výkonnost kuřat buď přidáním huminových látek, nebo vhodným doplněním volných aminokyselin (Eren et al. 2000; Ceylan et al. 2003; Islam et al. 2005; Erwan et al. 2009; Berres et al. 2010; Xiu-yu 2010; Mirnawati et al. 2013; Wang et al. 2013; Arif et al. 2016; Arif et al. 2019; Harn et al. 2019). Jelikož je tato diplomová práce pilotním výzkumem, nemůžeme naše výsledky porovnávat se závěry studií, ve kterých by se jejich autoři možnostmi zkrmování filtrátů z výroby tekutých ochucovadel zabývali.

Nejlepších výsledků na konci výkrmu dosahovala skupina B (Graf 5), přestože rozdíl mezi hmotnostmi kuřat na konci výkrmu mezi skupinou B×C nemůžeme prohlásit za statisticky průkazný (Tabulka 13). Nepředpokládáme však, že by se se zvyšující se koncentrací filtrátu v krmné směsi i nadále zvyšovala i užítkovost. Tyto limity jsou nejspíše způsobeny obsahem makroprvků, převážně Na^+ a Cl^- , respektive soli ve filtrátu. Ta se ve filtrátech objevuje jako důsledek acidobazické reakce mezi HCl a NaOH , která probíhá během jejich výroby (Džanič et al. 1985; Aaslyng et al. 1998). Není tedy možné do krmné směsi zařadit filtráty v libovolném množství. Jejich analýzou (Tabulka 12) jsme prokázali, že množství Na^+ a Cl^- neodpovídá běžnému rozdělení těchto prvků v molekule soli (40 Na^+ : 60 Cl^-). Hodnoty chloru by po propočtu musely dosahovat úrovně 157,326 g/kg u filtrátu TSH, 99,596 g/kg u TSH-N a 130,425 u TSHB-N, avšak množství chloru bylo u TSH filtrátu o 38,11 %, u TSH-N o 10,76 % a u TSHB-N o 28,41 % nižší (100% sušina). Tento rozdíl se dá vysvětlit tím, že ve filtrátech nebyl sodík přítomen pouze ve formě chloridu sodného, ale i v jiných sloučeninách (glutaman sodný jako sůl kyseliny L-glutamové či Na^+ obsažený v sójových produktech, které byly vstupní surovinou pro výrobu tekutých ochucovadel). Naměřené hodnoty tak více korespondovaly s doporučeným poměrem 1 : 1 mezi Na^+ a Cl^- podle NRC (1994). U TSH byl poměr 1 (Na^+) : 1,086 (Cl^-), 1 (Na^+) : 1,168 (Cl^-) u TSHB-N a 1 (Na^+) : 1,339 (Cl^-) u TSH-N. Filtrát TSH-BR nebyl z hlediska obsahu minerálních látek analyzován, jelikož jsme ho v době, kdy byl rozbor prováděn, neměli k dispozici. Výrobce filtrátů však tvrdil, že by se obsah minerálních látek u filtrátu TSH a TSH-BR měl shodovat, a s těmito hodnotami jsme také počítali při výpočtu složení krmné směsi.

Ačkoliv vykrmovaná kuřata dosahovala nejlepších výsledků při 1% koncentraci filtrátu v krmné směsi, je zřejmé, že takové množství filtrátu v krmivu není ideální, jelikož toto nepokryje potřebu Na^+ i Cl^- podle NRC (1994) ani Zelenky (2014). Tyto makroprvky pak musejí být doplněny pomocí NaCl a Na_2CO_3 (Tabulka 16), což zvyšuje množství položek ve směsi, a tím i nároky na zamíchání. Obsah Na^+ byl u skupiny B 0,15 % v krmivu BR1 a 0,174 % v BR2, což jsou hodnoty, které korespondují s doporučením Zelenky (2014) a Murakamiho (2001). Při 1,5% koncentraci filtrátu v kg krmiva sice nemusely být do krmné dávky doplňovány ani NaCl ani Na_2CO_3 , avšak během výkrmu byla senzoricky zaznamenána

zvýšená spotřeba vody i vlhčí podestýlka, což jsou jedny z hlavních důsledků nadměrné konzumace soli u drůbeže (Mohanty & West 1969; Perelman et al. 2016). To mohlo být způsobeno tím, že hodnota chloru při této koncentraci převyšuje doporučené množství chloru v potravě podle NRC (1994) i Zelenky (2014) v průměru o 23,71 %. Bohužel rozdíly mezi skupinami ve spotřebě vody a vlhkosti podestýlky nemůžeme podložit daty, jelikož nebyly během výkrmu zjišťovány. Hodnoty sodíku a chloru se v jednotlivých krmných směsích také mohly lišit i vinou lidského faktoru. Pokud by došlo k nedostatečnému zamíchání filtrátu, soli a dalších komponent do krmné směsi, mohlo by to vést v jednotlivých krmných dávkách ke zvýšeným hodnotám sodíku a chloru, což by u citlivé drůbeže mohlo způsobit intoxikaci solí. Nadbytečný přísun chloru také mohl být důvodem, proč kuřata ze skupiny C nedosahovala nejlepších výsledků v rámci výkrmu, ačkoliv rozdíly ve hmotnostech po posledním vážení mezi skupinou B a C nebyly statisticky významné (Tabulka 13). Ideální množství filtrátu, při kterém by koncentrace Na^+ i Cl^- odpovídala požadavkům doporučených Zelenkou (2014) i NRC (1994), bylo vypočteno pomocí programu Optimix na 1,3 g/kg. Při tomto množství by do krmiva nemusely být přidávány další látky obsahující tyto makroprvky. Došlo by tak k redukci počtu vstupních surovin, ze kterých by byla složena kompletní krmná směs, což by mohlo vést ke snížení nároků na promíchání a zároveň k jejímu zlevnění. Doporučujeme tak, aby v rámci dalšího výzkumu byla do výkrmu zařazena i skupina, které by se filtrát zkrmoval v doporučeném množství programem Optimix.

Jak jsme konstatovali v úvodu diskuze, jednou z možných příčin vyšší výkonnosti vykrmovaných skupin, kterým byl do krmné směsi přidáván filtrát, mohla být přítomnost dusíkatých látek a volných aminokyselin ve filtrátu. Přidáním 1 % TSH-BR došlo u skupiny B, která dosáhla nejlepších výsledků, k navýšení dusíkatých látek o 0,31 % a volných aminokyselin o 0,19 %. Volné aminokyseliny jsou uvolňovány pomocí kyselé hydrolyzy během výroby tekutých ochucovadel. Studie Džaniže et al. (1985) a Aaslynga et al. (1998) však říkají, že během tohoto procesu dochází k úplné či částečné destrukci tryptofanu, methioninu a cysteinu a zároveň přeměně glutaminu a asparaginu na kyselinu glutamovou a asparagovou. Jelikož jsme během analýzy filtrátů dospěli ke stejným výsledkům, není těchto 5 aminokyselin znázorněno v Grafu 4. Suplementace zbylých 15 proteinogenních, volných, esenciálních i neesenciálních aminokyselin, však zvýšený růstový výkon podpořit mohla. Tento předpoklad koresponduje s výsledky studie Kidda et al. (2004) a Nasra & Kheiryho (2011), kteří dosáhli nejlepších výsledků při doplnění esenciálních aminokyselin ve vhodném poměru do krmiva se standardním obsahem dusíkatých látek. Erwan et al. (2009); Berres et al. (2010) i Harn et al. (2019) pak suplementací volných esenciálních aminokyselin dokázali v porovnání s kontrolní skupinou, která přijímala standardní množství dusíkatých látek, zachovat stejnou růstovou výkonnost i přes snížení dusíkatých látek v krmné směsi. Ve všech těchto studiích byly volné aminokyseliny doplňovány tak, aby jejich poměr odpovídal zastoupení aminokyselin v ideální bílkovině. Tento koncept je blíže popsán v kapitole 3.2.3. Z výsledků (Graf 4) vyplývá, že z hlediska aminokyselinového složení v ideálním proteinu podle NRC (1994) (Tabulka 5) byly po přepočtu na lysin zaznamenány vyšší hodnoty zejména u leucinu a isoleucinu. To mohlo být zapříčiněno způsobem výroby filtrátů kyselou hydrolyzou, jelikož vyšší hodnoty těchto aminokyselin byly zjištěny i Aaslyngem et al. (1998). Ostatní esenciální aminokyseliny (threonin, arginin, valin, tryptofan, histidin) se svým zastoupením v TSH-BR ideálnímu proteinu podle NRC (1994) přibližovaly více, ačkoliv i jejich hodnoty byly vyšší, než by

v ideálním proteinu měly být. Z esenciálních aminokyselin, jež byly detekovány, mohly na růstový výkon mít vliv především lysin a tyrosin, které patří mezi jedny z prvních limitujících aminokyselin (viz kapitola 3.2.2.) a glycin, jenž je převážně na počátku výkrmu zapotřebí suplementovat kvůli jeho nedostatečné endogenní syntéze v prvních dnech života. Vzhledem k tomu, že doplněním 1 % filtrátu do krmné směsi došlo k navýšení koncentrace lysinu pouze o 0,0077 %, tyrosinu o 0,0058 % a glycinu o 0,0056 %, domníváme se, že jejich reálný vliv na lepší užitkové výsledky byl minimální.

Ze zbylých neesenciálních proteinogenních aminokyselin byla ve všech filtrátech nejvíce zastoupena kyselina glutamová. Tento výsledek koresponduje s výsledky studií Džaniče et al. (1985), Aaslynga et al. (1998), Jarunrattanasri et al. (2005) či Pęksy & Miedzianké (2014), kteří se shodují, že vyšší množství kyseliny glutamové je způsobováno deaminací glutaminu během hydrolyzy. Kyselina glutamová mohla být brojlery využita jako jeden z významných neurotransmitterů či jako zdroj volného dusíku k tvorbě jiných neesenciálních aminokyselin, což v důsledku mohlo mít vliv na zlepšení pozorovaných výkonnostních znaků. Tato myšlenka byla potvrzena i ve studii Berrese et al. (2010), kteří prokázali stejné přírůstky u brojlerů, kterým byla suplementována kyselina glutamová do krmné dávky v rozmezí 1,04–2,4 %, avšak v krmivu s nižším obsahem hrubého proteinu. Studie Kerra et al. (1999) však tvrdí, že přídavek kyseliny glutamové do krmné směsi se sníženým obsahem dusíkatých látek sice neměl žádný vliv na konverzi krmiva, ale oproti kontrolní skupině se zhoršil příjem krmiva i konečná tělesná hmotnost. K podobným výsledkům došli i Moran & Stilborn (1996), kteří neprokázali vliv kyseliny glutamové na přírůstek u krmné dávky se sníženým obsahem proteinu. Pokud ale byla kyselina glutamová přidávána do krmiva se standardním obsahem dusíkatých látek, bylo dosaženo vyšších přírůstků. Sůl této aminokyseliny (glutamát sodný) také mohla být jedním z důvodů vyšší spotřeby krmné směsi u všech skupin, kterým byl do krmné směsi filtrát přidán. Díky masové (umami) chuti mohla tato sůl přispět ke zvýšení chutnosti, a tím vyšší spotřebě krmiva. To podporují i studie Kuda et al. (2014) a Liua et al. (2018), kteří u kuřat prokázali přítomnost receptorů GPCR T1R (T1R1 a T1R3), které slouží k její percepci. Pro další výzkum navrhuje, aby byl se zkoumanými zvířaty proveden test chutnosti krmiva pomocí preferenčního testu.

Otázkou zůstává, jak by výkrm dopadl, kdyby se do krmné směsi přidával jiný filtrát než TSH-BR. Mezi jednotlivými filtráty byly totiž během analýzy zaznamenány v obsahu aminokyselin značné rozdíly (Graf 4). Ty mohly být způsobeny tím, že při výrobě nebyl filtrát TSH-BR dostatečně promyt, tudíž v něm zůstaly i nadbytečné aminokyseliny, které u ostatních vzorků nebyly v takové míře detekovány. Zvýšené hodnoty aminokyselin ve filtrátu TSH-BR také mohly být způsobeny chybou během pracovního postupu analýzy obsahu aminokyselin, avšak díky trojímu opakování stanovování aminokyselin ve filtrátu je to nepravděpodobné. V rámci dalšího výzkumu možnosti využití filtrátu jako krmného aditiva navrhuje, aby byl pokus opakován s využitím ostatních filtrátů.

Dalším faktorem, který dle našeho názoru mohl způsobit lepší výsledky všech sledovaných parametrů experimentálních kuřat skupin A, B i C v porovnání s kontrolní skupinou, byla přítomnost huminových látek (huminové a fulvonové kyseliny) obsažených ve filtrátech z výroby tekutých ochucovadel (Tabulka 9). Opět podotýkáme, že je možné, že by výkrm dopadl jinak, kdyby byly do krmných směsí zahrnuty i ostatní filtráty. Bylo totiž zjištěno, že mezi nimi jsou v obsahu huminových a fulvonových kyselin statisticky významné

rozdíly (Tabulka 10–11). Přidání 1 % filtrátu TSH-BR do krmné směsi skupiny B znamenalo přídavek 0,11 % huminových a 0,05 % fulvonových kyselin v krmné dávce, což mohlo přispět k vyšší tělesné hmotnosti o 27 % a o 5,9 % nižší konverzi při čtvrtém vážení v porovnání s kontrolní skupinou. Lepší výsledky sledovaných parametrů všech skupin v porovnání s kontrolní skupinou jsou v souladu se zjištěními firmy HUMAC Czech s.r.o., kteří říkají, že zařazení 0,4–0,7 % HUMAC® Natur AFM Monogastric (57 % huminových a 5 % fulvonových kyselin v přípravku) do krmné dávky drůbeže zvýší denní přírůstek (6–8 %), spotřebu krmiva a sníží konverzi. Tento přípravek se však svými účinky nerovná námi použitému filtrátu. Příčinu nižší účinnosti bychom mohli připočítat tomu, že tento preparát neobsahuje oproti námi využitému filtrátu aminokyseliny ani jiné látky, které organismus může využít pro svůj růst. Pozitivní vliv huminových kyselin na hmotnost vykrmovaných kuřat i konverzi krmiva přinesly závěry studií Kocabagliho et al. (2002), Ozturka & Koskuna (2008) či Erena et al. (2000), kteří říkají, že přídavek 0,25 % huminových kyselin do krmné směsi statisticky prokazatelně zvyšuje tělesnou hmotnost i přírůstek. I studie Mirnawatiho et al. (2013) statisticky prokazatelně potvrdila pozitivní účinky huminových látek na spotřebu krmiva, přírůstek tělesné hmotnosti, konverzi krmiva i výtěžnost na jatečně upraveném tělu. Tato studie se však od naší práce odlišovala způsobem podávání huminových látek. Ty byly kuřatům předkládané rozpuštěné v pitné vodě. Pro další výzkum navrhuje, aby byla prověřena možnost zkrmování filtrátů rozpuštěním v napájecí vodě. Rath et al. (2006) pak dodávají, že přídavek kyseliny huminové sice snížil na konci výkrmu tělesnou hmotnost, ale ukázalo se, že zlepšuje poměr konverze krmiva. Kladné účinky fulvonových kyselin pak potvrzuje studie Wanga et al. (2013), ve které říkají, že 0,024 % a 0,240 % fulvonových kyselin statisticky prokazatelně snižuje konverzi krmiva. Xiu-yu (2010) pak dodává, že přídavek 0,03 % fulvonových kyselin do krmné směsi statisticky prokazatelně zvyšuje průměrný denní přírůstek. Takové množství fulvonových kyselin bylo přibližně obsaženo i v námi předkládaných směsích, avšak s vyšším účinkem na vykrmovanou drůbež. Oproti tomu Bailey et al. (1996), Karaoglu et al. (2004) Kaya et al. (2009) či Nagaraju et al. (2014) říkají, že suplementace huminových kyselin nemá na přírůstek tělesné hmotnosti či konverzi krmiva žádný vliv. Tento nesoulad ve výsledcích naší práce s pracemi ostatních vědců by mohl být vysvětlen původem huminových látek, které nebyly součástí filtrátu z výroby tekutých ochucovadel, či jiným krmným postupem během výkrmu brojlerových kuřat.

Důležitým aspektem, který s huminovými látkami souvisí, je jejich barva (viz kapitola 3.6.3.1 až 3.6.3.3), která pak má vliv na výslednou podobu krmiva. Tmavá barva, která je huminovým kyselinám vlastní a která způsobuje obarvení krmné směsi, by totiž mohla u kuřat, kteří se orientují při výběru potravy zrakem (Senaranta et al. 2012), ovlivnit její příjem. Do budoucna by tak bylo vhodné preferenčním testem prozkoumat možnosti ovlivnění příjmu krmiva na základě barvy u drůbeže i jiných hospodářských zvířat.

Přídavek filtrátu do krmné dávky pak nemá účinek na mortalitu drůbeže, která se u všech skupin pohybovala do 3 %. Tento výsledek koresponduje s prací Ratha et al. (2006), kteří však do krmné dávky přidávali čisté huminové kyseliny. Karaoglu et al. (2004) pak ve své studii uvedli, že přídavek až 0,3 % huminových látek snížil úmrtnost z 1,8 % v kontrolní skupině na 0 % ve skupinách, kterým byly huminové látky suplementovány.

Z hlediska potravinové bezpečnosti byly filtráty analyzovány na přítomnost těžkých kovů, zejména rtuti. Dle nařízení Evropské komise (2008) nesmí hodnoty rtuti v krmivu

překračovat 0,1 ppm. Ve všech hodnocených filtrátech tato hodnota nebyla překročena (Tabulka 12), a tudíž mohly být prohlášeny za zdraví neškodné. Tento fakt lze vysvětlit tím, že sója, která byla použita jako vstupní surovina, nebyla pěstována na polích s vysokým podílem těžkých kovů v půdě.

V rámci diplomové práce bylo také zjištěno, že přidavek filtrátů do krmné směsi může celou produkci kuřecích brojlerů zlevnit. Zjišťovali jsme výši vícenákladů spojenou s prodlouženým výkrmem kuřat z kontrolní skupiny v porovnání se skupinou B. Museli jsme zjistit, za jak dlouho by kuřata v kontrolní skupině dosáhla váhy 1,718 kg, což byla hmotnost kuřete ve skupině B na konci výkrmu (Graf 5). Nejprve jsme ze získaných dat vypočítali přírůstek na kuře v kontrolní skupině za posledních 7 dní výkrmu (0,065 kg/kuře/den). Tímto číslem jsme pak vydělili hmotnostní rozdíl (0,367 kg) mezi skupinami B a K na konci výkrmu (Graf 5). Výsledné číslo (5,64) nám udalo, za kolik dní by kuřata v kontrolní skupině dosáhla stejné váhy jako kuřata ve skupině B na konci výkrmu (1,718 kg). Jestliže víme, že spotřeba krmiva na kuře/den během posledních 7 dní výkrmu v kontrolní skupině byla 0,119 kg/den, tak při výkrmu delším o 5,64 dne spotřebují kuřata z této skupiny o 0,671 kg krmné směsi navíc. Při ceně 7,995 Kč/1 kg KS BR2 pro kontrolní skupinu (Tabulka 14) by při navýšené spotřebě krmiva o 0,671 kg byly náklady na výkrm jednoho kuřete z kontrolní skupiny o 5,36 Kč vyšší oproti kuřeti ve skupině B. Vyšší náklady by se samozřejmě projevily i na vyšší spotřebě elektrické energie a vody, kterou by kuřata v kontrolní skupině vlivem delšího výkrmu spotřebovala. Z tohoto příkladu tak vyplývá, že přidavek filtrátu do krmné směsi ve vhodném množství má pozitivní vliv nejen na užítkovost brojlerů, ale i na ekonomickou stránku produkce kuřat.

7 Závěr

- V pilotní výzkumné práci zabývající se možnostmi využití filtrátů jako odpadních produktů z výroby tekutých ochucovadel byly všechny stanovené hypotézy potvrzeny. Filtráty z výroby tekutých ochucovadel mohou být zdrojem živin zařazovaných do krmných směsí pro brojlerová kuřata, mohou nahradit v krmných směsích sůl a jejich analýzou se prokázalo, že obsahují huminové látky. Konstatovali jsme také, že by se díky svým zlepšujícím účinkům na růstový výkon, přírůstek a konverzi krmiva mohly stát běžným krmným doplňkem pro brojlery i jiná hospodářská zvířata.
- Filtrát TSH-BR, který byl k výkrmu využit, zvyšoval výkonnost brojlerových kuřat nejspíše díky kombinaci vlivů volných aminokyselin a huminových látek (huminových kyselin a fulvokyselin), jejichž přítomnost byla u všech zkoumaných filtrátů prokázána.
- Mezi jednotlivými filtráty (TSH, TSH-BR, TSH-N, TSHB-N) existoval v obsahu huminových, fulvonových kyselin a aminokyselin statisticky významný rozdíl.
- Limitujícím faktorem při využití filtrátů jako krmného doplňku se zdálo být množství obsaženého Na^+ a Cl^- , ačkoliv jsme nemohli potvrdit, že by mezi skupinami B (1 % filtrátu v krmné dávce) a C (1,5 % filtrátu v krmné dávce) existoval na konci výkrmu mezi hmotnostmi kuřat statisticky významný rozdíl.
- Dodané filtráty byly z hlediska potravinové bezpečnosti vyhodnoceny jako zdraví nezávadné, jelikož ani v jednom filtrátu nebyla překročena hranice maximálního povoleného množství rtuti v potravě, jež je stanovena Evropskou komisí na 0,1 ppm.
- Zkrmovaný filtrát TSH-BR neměl žádný vliv na úmrtnost kuřat během výkrmu, přičemž počet vyrazených kuřat nebyl u žádné skupiny vyšší než 3 %.
- Pro další výzkum jsme navrhli, aby byly i ostatní filtráty (TSH, TSHB-N i TSH-N) zařazeny do jednotlivých krmných směsí a experiment byl opakován. Zároveň jsme doporučili, aby do výkrmu byla zařazena i skupina, které by do krmné dávky bylo zařazeno 1,3 % filtrátu TSH-BR. Toto množství bylo programem Optimix spočítáno jako ideální z hlediska obsahu Na^+ a Cl^- . Během výkrmu by také bylo vhodné sledovat vlhkost podestýlky a spotřebu vody v porovnání s kontrolní skupinou. Bylo by také zajímavé zkoumat možnosti využití filtrátů jako doplňku do krmiva s nižším obsahem dusíkatých látek.
- Výzkum možnosti využití filtrátů jako doplňku by také měl být uskutečněn u jiných hospodářských zvířat. Z hlediska vysokého obsahu kyseliny glutamové ve filtrátu by také bylo možné provést výzkum ohledně chuťových preferencí u jednotlivých druhů hospodářských zvířat. Navrhli jsme také, aby byly prozkoumány možnosti podávání filtrátů z výroby tekutých ochucovadel rozpuštěné v napájecí vodě.
- Pro budoucí komerční využití filtrátů jsme doporučili, aby byl optimalizován buď výrobní postup, aby se zajistilo stejné složení u všech filtrátů, nebo aby byly filtráty baleny po jednotlivých šaržích. Tím by však vzniknul náklad v podobě tisku nových etiket a analýz filtrátů. Dále jsme konstatovali, že z ekonomického hlediska by filtráty mohly zlevňovat výrobu drůbežního masa při zachování stejné kvality.

8 Literatura

Aaslyng MD, Martens M, Poll L, Nielsen PM, Flyge H, Larsen LM. 1998. Chemical and sensory characterization of hydrolyzed vegetable protein, a savory flavoring. *Journal of agricultural and food chemistry* **46**:481-489.

Aaslyng MD, Poll L, Nielsen PM, Flyge H. 1999. Sensory, chemical and sensometric studies of hydrolyzed vegetable protein produced by various processes. *European Food Research and Technology* **209**:227-236.

Aftab U. 2019. Energy and amino acid requirements of broiler chickens: keeping pace with the genetic progress. *World's Poultry Science Journal*, **75**:507-514.

Alagawany M, Abd El-Hack ME, Farag MR, Sachan S, Karthik K, Dhama K. 2018. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science and Pollution Research* **25**:10611-10618.

Arafat RY, Khan SH. 2017. Evaluation of Humic Acid as an Aflatoxin Binder in Broiler Chickens. *Annals of Animal Science* **17**:241-255.

Arif M, Alagawany M, Abd El-Hack ME, Saeed M, Arain MA, Elnesr SS. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. *Iranian journal of veterinary research* **20**:167-172.

Arif M, Rehman A, Saeed M, El-Hack MEA, Arain MA, Haseebarsad M, Abbasi IH. 2016. Impacts of dietary humic acid supplementation on growth performance, some blood metabolites and carcass traits of broiler chicks. *Indian Journal of Animal Science* **86**:1073-1078.

Arpášová H, Kačániová M, Pistová V, Gálik B, Fik M, Hleba L. 2016. Effect of probiotics and humic acid on egg production and quality parameters of laying hens eggs. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* **49**:1-9.

Aviagen. 2018. Technologický postup pro výkrm brojlerů Ross. Available from http://eu.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Czech_TechDocs/Ross-BroilerHandbook2018-CZ.pdf (accessed January 2020).

Bailey CA, White KE Donke SL. 1996. Evaluation of Menefee Humate TM on the performance of broilers. *Poultry Science* **75**:84-89.

Bailey M. 1999. The water requirements of poultry. Pages 321-335 in: Garnsworthy PC & Wiseman J, editors. *Recent developments in poultry nutrition 2*. Nottingham University Press, Nottingham.

Berger LL, Cunha TJ. 2006. *Salt and Trace Minerals for Livestock, Poultry and Other animals*. Alexandria, Virginia. Available from <https://pdfs.semanticscholar.org/00f3/0e6b07637f2543981aef1def0bb4740be7e1.pdf> (accessed December 2019).

Berres J, Vieira SL, Dozier WA, Cortês MEM, De Barros R, Nogueira ET, Kutschenko M. 2010. Broiler responses to reduced-protein diets supplemented with valine, isoleucine, glycine, and glutamic acid. *Journal of Applied Poultry Research* **19**:68-79.

- Blair R. 2018. Nutrition and feeding of organic poultry. Oxfordshire, Wallingford.
- CAC/RCP. 2008. Code of practice for the reduction of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-mcpd) during the production of acid-hvps and products that contain acid-hvps. Available from <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/en/> (accessed February 2020).
- Ceylan N, Çiftçi İ, İlhan Z. 2003. The effects of some alternative feed additives for antibiotic growth promoters on the performance and gut microflora of broiler chicks. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **27**:727-733.
- Cibulka R. 2005. Metabolické účinky karnitinu a jeho význam v medicíně. *Klinická chemie a metabolismus* **13**:24-27.
- Čermák B. 2000. Základy výživy a krmení hospodářských zvířat. Jihočeská univerzita, České Budějovice.
- ČSN EN 15510 (467026). 2018. Krmiva – Stanovení vápníku, sodíku, fosforu, hořčíku, draslíku, železa, zinku, mědi, manganu, kobaltu, molybdenu, arsenu, olova a kadmia metodou ICP-AES.
- Dabovich LA, Hulbert L, Rudine A, Kim E, Ji F, McGlone JJ. 2003. Evaluation of nutraceutical effects on pig immunity: Effects of Promox. Pages 354-360 in Zinn SA, editor. Southern Section ASAS meeting. Pork Industry Institute, Department of Animal and Food Science, Texas Tech University, Lubbock.
- Dean DW, Bidner TD, Southern LL. 2006. Glycine supplementation to low protein, amino acid-supplemented diets supports optimal performance of broiler chicks. *Poultry Science* **85**:288-296.
- Dhama K, Latheef SK, Mani S, Samad HA, Karthik K, Tiwari R, Laudadio V. 2015. Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production- A review. *International Journal of Pharmacol* **11**:152-176.
- Doll ER, Hull FE, Insko WM. 1946. Toxicity of sodium chloride solution for baby chicks. *Veterinäre Medicine*. **41**:361-363.
- Domany Z, Galambos I, Vatai G, Bekassy-Molnar E. 2002. Humic substances removal from drinking water by membrane filtration. *Desalination* **145**:333-337.
- Džanič H, Mujič I, Sudarski-Hack V. 1985. Protein hydrolyzates from soy grits and dehydrated alfalfa flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **33**:683-685.
- Edmonds MS, Johal S, Moreland S. 2014. Effect of supplemental humic and butyric acid on performance and mortality in broilers raised under various environmental conditions. *The Journal of Applied Poultry Research* **23**:260-267.
- EGTOP. 2011. Final report on feed. Brussel. Available from https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/food-farming-fisheries/farming/documents/final_report_feed_1_en.pdf (accessed December 2019).

EMEA. 1999. Committee For Veterinary Medicinal Products Humic Acids and Their Sodium Salts. London. Available from https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/humic-acids-their-sodium-salts-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf (accessed December 2019).

Ergin O, Isa C, Nuh O, Guray E. 2009. Effects of dietary humic substances on egg production and egg shell quality of hens after peak laying period. *African Journal of Biotechnology* **8**:1155-1159.

Erwan E, Alimon AR, Sazili AQ, Yaakub H, Hilmi M. 2009. Effect of L-leucine supplementation on growth performance and carcass characteristics of grower-broiler chickens fed low protein diets. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* **4**:95-100.

European Commission. 2019. Authorisation Types and Withdrawal. Available from https://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed/feed-additives/authorisation-types-withdrawal_en (accessed December 2019).

Evropská unie. 2003. Legislation on feed additives. Available online https://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed/feed-additives/legislation-feed-additives_en (accessed February 2020).

Evropská unie. 2003. Nařízení evropského parlamentu a rady (es) č. 1831/2003: O doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat. Brusel. Available from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831&from=EN> (accessed December 2019).

Evropská unie. 2007. Směrnice Rady 2007/43/ES ze dne 28. června 2007 o minimálních pravidlech pro ochranu kuřat chovaných na maso. Pages 65-74 in *Úřední věstník Evropské unie* L 182, Brusel.

FAO. 2009. Global agriculture towards 2050. High Level Expert Forum – How to Feed the World in 2050. Rome.

FAO. 2017. The future of food and agriculture – Trends and challenges. Rome.

Feiner G. 2016. *Salami: practical science and processing technology*. Academic Press, Cambridge.

Finley JW, Snow JT, Johnston PH, Friedman M. 1978. Inhibition of lysinoalanine formation in food proteins. *Journal of food science*, **43**:619-621.

Fischer F, Schrader H. 1921. Über die Entstehung und die chemische Struktur der Kohle. *Brennst Chem* **2**:37-45.

Foltyn M. 2014. *Stravitelnost aminokyselin u kuřat chovaných na maso [DSc. práce]*. Masarykova univerzita, Brno.

Gabriel SC. 2019. Salt Toxicity in Broilers Texas A&M Veterinary Medical Diagnostic Laboratory. Texas. Available from <https://tvmdl.tamu.edu/2019/04/26/salt-toxicity-in-broilers/> (accessed December 2019).

Gabrovská D, Chýlková M. 2017. Slaná fakta o soli, aneb, Je sůl nad zlato?. Potravinářská komora České republiky, Praha. Available from http://www.reformulace.cz/images/sul-web_final.pdf (accessed December 2019).

Gálik R, Mihina Š, Boďo Š, Knížkovská I, Kunc P, Cejkal I. 2015. Technika pre chov zvierat. Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra.

Ghabbour EA, Davies G, Daggett Jr, JL, Worgul CA, Wyant GA, Sayedbagheri MM. 2012. Measuring the humic acids content of commercial lignites and agricultural top soils in the national soil project. *Annals of Environmental Science* **6**:1-12.

Ghahri H, Reza H, Mehdi AF. 2010. Evaluation of the efficacy of esterified glucomannan, sodium bentonite, and humic acid to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **34**:385-391.

Griggs JP, Jacob J. 2005. Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *Journal of Applied Poultry Research* **14**:750-756.

Havelcová M, Mizera J, Machovič V, Příbyl O, Borecká L, Krausová I. 2011. Sorbenty na bázi huminových látek a chitosanu. *Chemické listy* **105**:913-917.

Hayes MHB, Clapp CE. 2001. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science* **166**:723-737.

Hernandez F, Megias MD, Orengo J, Martinez S, Lopez MJ, Madrid J. 2013. Effect of dietary protein level on retention of nutrients, growth performance, litter composition and NH₃ emission using a multi-phase feeding programme in broilers. *Spanish Journal of Agricultural Research* **11**:736-746.

Herzig I, Navrátilová M, Totušek J, Suchý P, Večerek V, Blahová J, Zralý Z. 2009. The effect of humic acid on zinc accumulation in chicken broiler tissues. *Czech Journal of Animal Science* **54**:121-127.

Herzig I, Navrátilová, M, Suchý P, Večerek, V, Totušek J. 2007. Model trial investigating retention in selected tissues using broiler chicken fed cadmium and humic acid. *Veterinarná medicína* **52**:162-168.

Herzig I, Totušek J, Navrátilová M, Suchý P, Večerek V, Bedáňová I, Zralý Z. Vliv kyseliny huminové na ukládání mědi ve tkáních brojlerových kuřat. Pages 100-101 in Straková E, Suchý P, editors. IX. Kábrtovy dietetické dny. Tribun EU, Brno.

Heuser GF. 1952. Salt additions to chick rations. *Poultry Science* **31**:85-88.

Hou Y, Wu Z, Dai Z, Wang G, Wu G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of animal science and biotechnology* **8**:24.

Huang PM, Wang MK, Chiu CY. 2005. Soil mineral–organic matter–microbe interactions: impacts on biogeochemical processes and biodiversity in soils. *Pedobiologia* **49**:609-635.

Humitech. 2019. Humic Acids as Animal Feed Ingredient. Available from <https://www.humitech.com/livestock-breeding/applications/veterinary-medicine> (accessed December 2019).

Hwang BJ, Hong EC, Lee BS, Lee HJ, Jo SB, Bae HD, Nho WG. 2006. The effect of salt contents in diet and water on performance and physiological changes in broiler chicks. *Korean Journal of Poultry Science* **33**:159-164.

Islam KMS, Schuhmacher A, Aupperle H, Gropp JM. 2008. Fumaric acid in broiler nutrition: a dose titration study and safety aspects. *Poultry Science* **7**:903-907.

Islam KMS, Schuhmacher A, Gropp JM. 2005. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of nutrition* **4**:126-134.

Jandák J, Prax A, Pokorný E. 2007. Půdoznalství. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno.

Jarunrattanasri A, Cadwallader KR, Theerakulkait C. 2005. Aroma and amino acid composition of hydrolyzed vegetable protein from rice bran. *ACS Symposium Series* **1**:83-97.

Johnson RJ & Karunajeewa H. 1985. The effects of dietary minerals and electrolytes on the growth and physiology of the young chick. *Journal of Nutrition* **115**:1680-1690.

Kamran Z, Sarwar M, Nisa M, Nadeem MA, Mahmood S, Babar ME, Ahmed S. 2008. Effect of low-protein diets having constant energy-to-protein ratio on performance and carcass characteristics of broiler chickens from one to thirty-five days of age. *Poultry Science* **87**:468-474.

Karaoglu M, Macit M, Esenbuğa N, Durdağ H, Bilgin ÖC. 2004. Effect of dietary humate on performance, slaughter, carcass and meat quality parameters of broilers. *International Journal of Poultry Science* **6**:406-410.

Kare MR, Biely J. 1948. The toxicity of sodium chloride and its relation to water intake in baby chicks. *Poultry Science* **27**:751-758.

Kaya CA & Sakir DT. 2009. The effects of humates on fattening performance, carcass quality and some blood parameters of broilers. *Journal of animal and veterinary advances* **8**:281-284.

Kerr BJ & Kidd MT. 1999. Amino acid supplementation of low protein broiler diets 1. Glutamic acid and indispensable amino acid supplementation. *Journal of Applied Poultry Research* **8**:298-309.

Kidd MT, McDaniel CD, Branton SL, Miller ER, Boren BB, Fancher BI. 2004. Increasing amino acid density improves live performance and carcass yields of commercial broilers. *Journal of Applied Poultry Research* **13**:593-604.

Kocabagli N, Alp M, Acar N, Kahraman R. 2002. The Effects of Dietary Humate Supplementation on Broiler Growth and Carcass Yield. *Poultry Science* **81**:227-230.

Kodeš A & Výmola J. 2003. Základy moderní výživy drůbeže. Česká zemědělská univerzita, Praha.

Komise EU. 2010. Nařízení Komise (EU) č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu. Pages 1-72 in Úřední věstník Evropské unie L51, Brusel.

Krakower CA & Goettsch M. 1945. Effect of excessive ingestion of sodium chloride on the chick, with particular reference to renal changes. *Archiva Pathologica* **40**:209-219.

Krista LM, Carlson CW, Olson OE. 1961. Some effects of saline waters on chicks, laying hens, poult, and ducklings. *Poultry Science* **40**:938-944.

Kříž L. 1997. *Základy výživy a technika krmení drůbeže*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, Praha.

Kudo KI, Kawabata F, Nomura T, Aridome A, Nishimura S, Tabata S. 2014. Isolation of chicken taste buds for real-time Ca²⁺ imaging. *Animal Science Journal* **85**:904-909.

Ledvinka Z, Zita L, Tůmová E. 2009. *Vybrané kapitoly z chovu drůbeže*. Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, katedra speciální zootechniky, Praha.

Ledvinka Z. 2011. *Chov drůbeže I*. Česká zemědělská univerzita, Praha.

Liu HX, Rajapaksha P, Wang Z, Kramer NE, Marshall BJ. 2018. An update on the sense of taste in chickens: A better developed system than previously appreciated. *Journal of nutrition & food sciences* **8**:1-6.

Martland MF. 1985. Ulcerative dermatitis dm broiler chickens: the effects of wet litter. *Avian Pathology* **14**:353-64.

McMurry J. 2015. *Organická Chemie*. Vutium, Brno.

Mirawati YR & Marlida Y. 2013. Effects of humic acid addition via drinking water on the performance of broilers fed diets containing fermented and non-fermented palm kernel cake. *Archiva zootechnica* **16**:41-53.

Modrá H, Svobodová Z, Šíroková Z, Dobšíková R. 2009. *Speciální veterinární toxikologie*. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno.

Mohamed EAA, Loh TC, Hossain M. 2016. Effect of low-protein diet, gender and age on the apparent ileal amino acid digestibility in broiler chickens raised under hot humid tropical condition. *Indian Journal of Animal Sciences* **86**:696-701.

Mohanty GC & West JL. 1969. Pathologic features of experimental sodium chloride poisoning in chicks. *Avian diseases* **13**:762-773.

Molín R, Pánek J, Miyahara M. 2014. Bílkovinné hydrolyzáty v potravinách. *Vitana Food Ingredients*. Available from http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI_HYDROLYZATY_CZ.pdf (accessed december 2019).

Moran ET & Stilborn HL. 1996. Effect of glutamic acid on broilers given submarginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. *Poultry Science* **75**:120-129.

Murakami AE, Oviedo-Rondon EO, Martins EN, Pereira MS, Scapinello C. 2001. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed corn-soybean diets. *Poultry Science* **80**:289-294.

Mutuş R, Kocabağlı N, Alp M, Acar N, Eren N, Gezen ŞŞ. 2006. The Effect of Dietary Probiotic Supplementation on Tibial Bone Characteristics and Strength in Broilers. *Poultry Science* **85**:1525-3171.

Nagodawithana TW. 1994 Savory flavors. Pages 135-168 in Gabelman A, editor. *Bioprocess Production of Flavor, Fragrance, and Color Ingredients*. John Wiley & Sons, New York.

Namroud NF, Shivazad M, Zaghari M. 2008. Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta characteristics of broiler chicks. *Poultry science* **87**:2250-2258.

Nařízení komise (ES) č. 629/2008 ze dne 2. července 2008, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Pages 6-9. Úřední věstník Evropské unie. Brusel.

Nasr J, Kheiri F. 2011. Increasing amino acids density improves broiler live weight. *International Journal of Poultry Science* **10**:523-526.

National Research Council. 1994. *Nutrient requirements of poultry: 1994*. National Academies Press, Washington DC.

Oviedo-Rondon EO, Murakami AE, Furlan AC, Moreira I, Macari M. 2001. Sodium and chloride requirements of young broiler chickens fed corn-soybean diets (one to twenty-one days of age). *Poultry Science* **80**:592-598.

Ozturk E, Coskun I, Ocak N, Erener G, Dervisoglu M, Turhan S. 2014. Performance, meat quality, meat mineral contents and caecal microbial population responses to humic substances administered in drinking water in broilers. *British poultry science* **55**:668-674.

Pánek J, Raa TG, Kouřimská L, Molín R, Potuček T. 2014. Bílkovinné hydrolyzáty (HVP) – kvalita a bezpečnost. *Vitana food Ingredients*. Available from http://www.bujon.cz/wp-content/uploads/2014/11/VFI_HVP_CZ.pdf (accessed December 2019).

Parr JF & Summers JD. 1991. The effect of minimizing amino acid excesses in broiler diets. *Poultry Science* **70**:1540-1549.

Parsons CM, Hashimoto K, Wedekind KJ, Han Y, Baker DH. 1992. Effect of overprocessing on availability of amino acids and energy in soybean meal. *Poultry science* **71**:133-140.

Pasupuleti VK, Holmes C, Demain AL. 2008. Applications of protein hydrolysates in biotechnology. Pages 1-9 in Pasupuleti VK & Demain Al, editors. *Protein hydrolysates in biotechnology*. Springer, Dordrecht.

Pęksa A & Miedzianka J. 2014. Amino acid composition of enzymatically hydrolysed potato protein preparations. *Czech Journal of Food Sciences* **32**:265-272.

Perelman B, Farnoushi Y, Krispin H, Rish D. 2016. Salt Intoxication in Commercial Broilers and Breeders – a Clinical and Pathological Description. *Israel Journal of Veterinary Medicine* **71**:53-57.

Pistova V, Arpášová H, Hrnčár C. 2016. The effect of the humic acid and garlic (*Allium sativum* L.) on performance parameters and carcass characteristic of broiler chicken. *Journal of Central European Agriculture* **17**:1168-1178.

Pivokonský M, Pivokonská L, Bubáková P, Janda V. 2010. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické listy* **104**:1015-1022.

Plavšić M, Čosović B, Lee C. 2006. Copper complexing properties of melanoidins and marine humic material. *Science of the total environment* **366**:310-319.

Poultry DVM. 2019. Salt intoxication in Chickens. Available from <http://www.poultrydvm.com/condition/salt-intoxication> (accessed November 2019).

Prombergerová I. 2012. *Drůbež na vašem dvoře*. Brázda, Praha.

Quigley GD & Waite RH. 1932. „Salt Tolerance of Baby Chicks." *Salt Tolerance of Baby Chicks. Poultry Science* **27**:340-343.

Rath NC, Huff WE, Huff GR. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. *Poultry Science* **85**:410-414.

Register of Feed Additives. 2009. Publications Office of the European Union, Luxembourg. Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animal-feed-eu-reg-comm_register_feed_additives_1831-03.pdf (accessed February 2020).

Reineccius G. 2013. *Source book of flavors*. Springer Science & Business Media, Maryland.

Riede UN, Gabriele ZK, Freudenberg, Keller HU, Seubert AB. 1991. Humate-induced activation of human granulocytes. *Virchows Archiv B Cell Pathology Including Molecular Pathology* **60**:27-34.

Salah H, Mansour E, El Hamid A, Eman, S. 2015. Study on the effect of humic acid on growth performance, immunological, some blood parameters and control intestinal closterdium in broiler chickens. *Zagazig Veterinary Journal* **43**:102-109.

Salo-väänänen PP, Koivistoinen PE. 1996. Determination of protein in foods: comparison of net protein and crude protein (N× 6.25) values. *Food Chemistry*, **57**:27-31.

Scott ML, Van Tienhoven A, Holm ER, Reynolds RE. 1960. Studies on the sodium, chlorine and iodine requirements of young pheasants and quail. *The Journal of nutrition* **71**:282-288.

Selye H. 1943. Production of nephro sclerosis in the fowl by sodium chloride. *Journal America Veterina Medical Association* **103**:140-143.

Senaratna D, Samarakone TS, Madusanka AAP, Gunawardane WWDA. 2012. Preference of broiler chicken for different light colors in relation to age, session of the day and behavior. *Tropical Agricultural Research* **23**:193-203.

Shermer CL, Maciorowski KG, Bailey CA, Byers FM, Ricke SC. 1998. Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **77**:479-486.

Shugeng WJZHW, Chuanyu YUEHQIGW, Baosheng YCT. 2013. Fulvic acid: Effects on performance and blood biochemical parameters in broilers. *Chinese Journal of Animal Nutrition* **1**:16-21.

Schepetkin IA, Khlebnikov AI, Ah SY, Woo SB, Jeong CS, Klubachuk ON, Kwon BS. 2003. Characterization and biological activities of humic substances from mumie. *Journal of agricultural and food chemistry* **51**:5245-5254.

Skokanová M, Dercová K. 2008. Humínové kyseliny: Interakcie humínových kyselin s kontaminantami. *Chemické listy* **102**:338-345.

Skřivan M, Tůmová E, Vondrka K, Dousek J, Lacková B, Ouředník J, Oplt J. 2000. *Drůbežnictví 2000*. Agrospoj, Praha.

Sopoliga I, Hreško-Šamudovská A, Demeterová M, Nad' P, Marcin A, Skalická M. 2016. Effect of humic substances on the production parameters of pheasant hens. *Acta Fytotechnica et Zootechnica* **19**:11-14.

Springmann M, Godfray HCJ, Rayner M, Scarborough P. 2016. Analysis and valuation of the health and climate change cobenefits of dietary change. *proceedings of the national academy of sciences* **15**:4146-4151.

Sripem N, Pesti GM, Tillman PB. 2011 Evaluation of the fixed nitrogen-to-protein (N:P) conversion factor (6.25) versus ingredient specific N:P conversion factors in feedstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **91**:1182-1186.

Stevenson FJ. 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley, New York.

Suchý P, Straková E, Macháček M, Christodoulou V, I Herzig I. 2011. Uplatnění přírodních sorbentů v prevenci onemocnění zvířat a ozdravení životního prostředí. Pages 368-376 in Straková E & Suchý P, editors. IX. Kábrtovy dietetické dny. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno.

Šližytė R, Rustad T, Storrø I. 2005. Enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products: Optimization of yield and properties of lipid and protein fractions. *Process Biochemistry* **40**:3680-3692.

Taklimi SMS, Ghahri H, Isakan MA. 2012. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agricultural Sciences* **3**:663-668.

Tako E, Ferket PR, Uni Z. 2004. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poultry Science* **83**:2023-2028.

Tůmová E, Englmaierová M, Chodová D, Lichovníková M. 2009. *Chov drůbeže II*. Česká zemědělská univerzita, Praha.

Tvrzník P, Zeman L, Herzig I. 2008. Vědecký výbor výživy zvířat: Úvod do problematiky vztahu výživy a zdravotního stavu zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha. Available from <https://vuzv.cz/wp-content/uploads/2018/04/%C3%9Avod-do-problematiky-vztahu-v%C3%BD%C5%BEivy-2008.pdf> (accessed December 2019).

Van Harn J, Dijkslag MA, Van Krimpen MM. 2019. Effect of low protein diets supplemented with free amino acids on growth performance, slaughter yield, litter quality, and footpad lesions of male broilers. *Poultry Science* **98**:4868-4877.

Velíšek J, Ledahudcová K, Pudil F, Davídek J, Kubelka V. 1993. Chlorine-containing compounds derived from saccharides in protein hydrolysates. I. 5-chloromethyl-2-furancarboxaldehyde. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **26**:38-41.

Velíšek J. 1999. *Chemie potravin 1*. Osis, Tábor.

Veselá L, Kubal M, Kozler J, Innemanová P. 2005. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy* **99**:711-717.

Veselý Z. 1988. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Szn, Praha.

Wang Q, Yoo JS, Chen YJ, Kim HJ, Cho JH, Min BJ, Park BC, Kim IH. 2006. Effects of Supplemental Humic Substances on Egg Production and Quality in Laying Hens. *Korean Journal of Poultry Science* **33**:317-321.

Weir Gsd. 1992. Proteins as a source of flavour. Pages 363-395 in Hudson BJB, editor. *Biochemistry of Food Proteins*, Elsevier Applied Science, London.

Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. 2008 Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of animal science* **86**:140-148.

Xiu-yu LU. 2010. Effects of Biochemical Fulvic Acid on the Performance of Broilers. *Journal of Eastern Liaoning University* **3**:17-19.

Yalçın S, Ergün A, Özsoy B, Yalçın S, Erol H, İlyas A. 2006. The Effects of Dietary Supplementation of L-carnitine and Humic Substances on Performance, Egg Traits and Blood Parameters in Laying Hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **19**:1478-1483.

Zanardo JA. 1994. Sodium levels and ionophore and nonionophore anticoccidial agents in broiler diets [DSc. Thesis]. Universidade Federal de Vicosa, Brazil.

Zelenka J, Heger J, Zeman L. 2007. Doporučený obsah živin v krmných směsích a výživná hodnota krmiv pro drůbež. *Ediční středisko Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, Brno*.

Zelenka J. 2014. *Výživa a krmení drůbeže*. Agriprint, Olomouc.

Zelenka J. 1993. *Výživa a krmení drůbeže*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.

Zeman L, Štenclová H, Karásek F, Mrkvicová E, Doležal P. 2015. Zásady efektivního výkrmu brojlerů. *Krmivářství* **6**:18-19.

Zralý Z, Písaříková B, Trčková M, Navrátilová M. 2008. Effect of Humic Acids on Lead Accumulation in Chicken Organs and Muscles. *Acta Veterinaria Brno* **77**:439-445.

9 Samostatné přílohy

9.1 Složení krmných směsí

Tabulka 14 Složení krmných směsí BR1 a BR2 pro kontrolní skupinu včetně cen a živinového složení

Suroviny	Kč/kg	BR1 - %	Kč	BR2 - %	Kč	Živiny		BR1	BR2
Pšenice 12	3,0	54,11	1,62	-	-	MEd	MJ	12,618	12,709
Pšenice ČZU 2018 13,13	3,8	-	-	55,62	2,11	NL	g	213,070	209,896
Ex. sójový šrot 46	9,0	27,50	2,48	-	-	Lysin	g	13,102	11,365
Ex. sójový šrot 47,5 ČZU	9,5	-	-	22,80	2,17	Methionin	g	7,426	5,267
Řepkové výlisky Farnet	6,5	8,00	0,52	12,00	0,78	Met + Cys	g	9,825	10,436
Olej řepkový	24,0	6,00	1,44	5,80	1,39	Threonin	g	8,191	11,200
L-lysin HCl 98	46,0	0,17	0,08	-	-	Tryptofan	g	2,646	2,600
L-threonin 98	120,0	0,05	0,06	-	-	Arginin	g	13,461	12,123
DL-methionin	120,0	0,29	0,35	0,08	0,10	Vápník	g	9,216	8,524
Vápenec	4,5	1,30	0,06	1,21	0,05	P nefytátový	g	3,312	4,576
Sůl	2,5	0,26	0,01	0,29	0,01	Sodík	g	1,507	1,792
MCP	16,0	1,20	0,19	1,05	0,17	Chlor	g	2,197	2,272
Uhlíčan sodný	12,0	0,12	0,01	0,15	0,02				
BR výkrm	120,0	1,00	1,20	1,00	1,20				
Celkem		100,00	8,016	100,00	7,995				

Tabulka 15 Složení krmných směsí BR1 a BR2 pro skupinu A (0,5 % filtrátu v KD) včetně cen a živinového složení

Suroviny	Kč/kg	BR1 - %	Kč	BR2 - %	Kč2	Živiny		BR1	BR2
Pšenice 12	3,0	53,54	1,61	-	-	MEd	MJ	12,614	12,705
Pšenice ČZU 2018 13,13	3,8	-	-	55,07	2,09	NL	g	213,841	210,626
Ex. sójový šrot 46	9,0	27,50	2,48	-	-	Lysin	g	13,136	11,393
Ex. sójový šrot 47,5 ČZU	9,5	-	-	22,80	2,17	Methionin	g	7,416	5,256
Řepkové výlisky Farnet	6,5	8,00	0,52	12,00	0,78	Met + Cys	g	9,800	10,396
Huminy – filtrát	2,5	0,50	0,01	0,50	0,01	Threonin	g	8,200	11,197
Olej řepkový	24,0	6,20	1,49	6,00	1,44	Tryptofan	g	2,636	2,592
L-lysin HCl 98	46,0	0,17	0,08	-	-	Arginin	g	13,430	12,091
L-threonin 98	120,0	0,05	0,06	-	-	Vápník	g	9,207	8,514
DL-methionin	120,0	0,29	0,35	0,08	0,10	P nefytátový	g	4,873	4,571
Vápenec	4,5	1,30	0,06	1,21	0,05	Sodík	g	1,540	1,731
Sůl	2,5	0,13	0,00	0,17	0,00	Chlor	g	1,958	2,240
MCP	16,0	1,20	0,19	1,05	0,17				
Uhličitan sodný	12,0	0,12	0,01	0,12	0,01				
BR výkrm	120,0	1,00	1,20	1,00	1,20				
Celkem		100,00	8,06	100,00	8,03				

Tabulka 16 Složení krmných směsí BR1 a BR2 pro skupinu B (1 % filtrátu v KD) včetně cen a živinového složení

Suroviny	Kč/kg	BR1 - %	Kč	BR2 - %	Kč	Živiny		BR1	BR2
Pšenice 12	3,00	52,96	1,59	-	-	MEd	MJ	12,605	12,705
Pšenice ČZU 2018 13,13	3,80	-	-	54,50	2,07	NL	g	214,594	210,626
Ex. sójový šrot 46	9,00	27,50	2,48	-	-	Lysin	g	13,171	11,393
Ex. sójový šrot 47,5 ČZU	9,50	-	-	22,80	2,17	Methionin	g	7,406	5,256
Řepkové výlisky Farnet	6,50	8,00	0,52	12,00	0,78	Met + Cys	g	9,772	10,396
Huminy - filtrát	2,50	1,00	0,03	1,00	0,03	Threonin	g	8,211	11,197
Olej řepkový	24,00	6,40	1,54	6,20	1,49	Tryptofan	g	2,631	2,592
L-lysin HCl 98	46,00	0,17	0,08	-	-	Arginin	g	13,397	12,091
L-threonin 98	120,00	0,05	0,06	-	-	Vápník	g	9,198	8,514
DL-methionin	120,00	0,29	0,35	0,08	0,10	P nefytátový	g	4,868	4,571
Vápenec	4,50	1,30	0,06	1,21	0,05	Sodík	g	1,560	1,731
Sůl	2,50	0,01	0,00	0,06	0,00	Chlor	g	1,929	2,240
MCP	16,00	1,20	0,19	1,05	0,17				
Uhličitan sodný	12,00	0,12	0,01	0,10	0,01				
BR výkrm	120,00	1,00	1,20	1,00	1,20				
Celkem		100,00	8,10	100,00	8,06				

Tabulka 17 Složení krmných směsí BR1 a BR2 pro skupinu C (1,5 % filtrátu v KD) včetně cen a živinového složení

Suroviny	Kč/kg	BR1 - %	Kč	BR2 - %	Kč2	Živiny/kg	Sloupec3	BR1	BR2
Pšenice 12	3,00	52,59	1,58	-	-	MEd	MJ	12,605	12,699
Pšenice ČZU 2018 13,13	3,80	-	-	53,96	2,05	NL	g	214,594	212,070
Ex. sójový šrot 46	9,00	27,50	2,48	-	-	Lysin	g	13,171	11,451
Ex. sójový šrot 47,5 ČZU	9,50	-	-	22,80	2,17	Methionin	g	7,406	5,234
Řepkové výlisky Farnet	6,50	8,00	0,52	12,00	0,78	Met + Cys	g	9,772	10,314
Huminy - filtrát	2,50	1,50	0,04	1,50	0,04	Threonin	g	8,211	11,190
Olej řepkový	24,00	6,40	1,54	6,40	1,54	Tryptofan	g	2,631	2,574
L-lysin HCl 98	46,00	0,17	0,08	-	-	Arginin	g	13,397	12,026
L-threonin 98	120,00	0,05	0,06	-	-	Vápník	g	9,198	8,497
DL-methionin	120,00	0,29	0,35	0,08	0,10	P nefytátový	g	4,868	4,559
Vápenec	4,50	1,30	0,06	1,21	0,05	Sodík	g	1,560	1,715
Sůl	2,50	-	-	-	-	Chlor	g	1,929	2,595
MCP	16,00	1,20	0,19	1,05	0,17				
Uhlíčan sodný	12,00	-	-	-	-				
BR výkrm	120,00	1,00	1,20	1,00	1,20				
Celkem		100,00	8,08	100,00	8,09				

Tabulka 18 Hodnoty složení filtrátu TSH-BR, které byly využity pro sestavení komponentů krmné směsi v % a g; složení uhličitanu sodného v %, g/kg a mg/kg

Složení TSH-BR			Složení Na ₂ CO ₃		
Sušina	%	91	Sušina	%	90
NL	g	290,000	popeloviny	g	900,000
Lysin	g	10,630	Na	g	273,000
Threonin	g	5,840	Fe	mg	49,000
Na ⁺	g	96,860	Zn	mg	35,000
Cl ⁻	g	137,480	Mn	mg	5,500

Tabulka 19 Složení krmné soli v %, g/kg a mg/kg, která byla využita pro tvorbu krmných směsí

Složení krmné NaCl		
Sušina	%	99,5
Popeloviny	g	995,000
Na	g	385,970
K	g	0,800
Cl	g	596,600
S	g	2,990
Fe	mg	45,770
Zn	mg	1,000
Cu	mg	2,090
Mn	mg	1,110
I	mg	18,110

9.2 Rozbor základních živin krmných směsí BR1 a BR2

Tabulka 20 Rozbor základních živin krmiva BR 1 a BR 2 v %/kg; žluté buňky znázorňují nejvyšší hodnoty

Směsi	Sušina (%)	Popeloviny	N×6,25	Tuk	CF vláknina	OH	BNLV
BR 1 K	100	6,0276	24,2083	8,6665	5,3839	93,9724	55,7136
BR 2 K	100	5,6791	25,6763	8,5062	4,6856	94,3209	55,4528
BR 1 0,5 %	100	5,9532	25,6936	8,8548	4,3663	94,0468	55,1320
BR 1 1 %	100	6,1452	25,0304	8,8175	5,0163	93,8548	54,9905
BR 1 1,5 %	100	6,0482	25,2453	9,1590	5,3679	93,9518	54,1796
BR 2 0,5 %	100	5,5968	25,2497	9,2353	4,4590	94,4032	55,4591
BR 2 1 %	100	5,7882	25,5069	9,7738	4,1834	94,2118	54,7477
BR 2 1,5 %	100	5,5264	25,1893	10,0785	4,2424	94,4736	54,9633

9.3 Výsledky výkrmu

Tabulka 21 Výsledky vážení skupin v kg a jejich vyhodnocení základními popisnými statistickými metodami; žluté buňky znázorňují nejvyšší hodnoty během jednotlivých vážení

Vážení	Skupina	Počet	Průměr (kg)	Medián (kg)	Minimum (kg)	Maximum (kg)	Rozptyl (kg)	Směr. odchyl. (kg)	Var. koef.
1 – 18.11.19	Kontrola	69	0,1255	0,1265	0,0818	0,1538	0,00016	0,01279	10,19056
1 – 18.11.19	A – 0,5 %	39	0,1524	0,1516	0,1136	0,1906	0,00028	0,01685	11,05095
1 – 18.11.19	B – 1 %	40	0,1578	0,1571	0,1280	0,1926	0,00027	0,01651	10,45992
1 – 18.11.19	C – 1,5 %	44	0,1526	0,1540	0,1144	0,1908	0,00025	0,01568	10,27432
2 – 27.11.19	Kontrola	69	0,4858	0,4872	0,3182	0,7026	0,00511	0,07150	14,71723
2 – 27.11.19	A – 0,5 %	39	0,5381	0,5301	0,4140	0,6804	0,00485	0,06962	12,93665
2 – 27.11.19	B – 1 %	40	0,5831	0,5846	0,4784	0,7716	0,00354	0,05951	10,20647
2 – 27.11.19	C – 1,5 %	44	0,5710	0,5662	0,4816	0,7136	0,00328	0,05724	10,02451
3 – 4.12.19	Kontrola	69	0,8947	0,9172	0,4950	1,2778	0,02483	0,15757	17,61041
3 – 4.12.19	A – 0,5 %	39	0,9709	0,9996	0,4874	1,2731	0,02590	0,16094	16,57616
3 – 4.12.19	B – 1 %	40	1,0789	1,0701	0,5694	1,4493	0,02136	0,14598	13,48791
3 – 4.12.19	C – 1,5 %	44	1,0235	1,0189	0,7121	1,3386	0,01609	0,12683	12,39182
4 – 11.12.19	Kontrola	69	1,3515	1,3522	0,8214	1,9012	0,04638	0,21535	15,93415
4 – 11.12.19	A – 0,5 %	39	1,5108	1,5271	0,9912	1,9183	0,03954	0,19884	13,16097
4 – 11.12.19	B – 1 %	40	1,7181	1,6882	1,0842	2,2682	0,04839	0,21998	12,80337
4 – 11.12.19	C – 1,5 %	44	1,6033	1,5967	1,2878	2,0989	0,03703	0,19243	12,00234

Tabulka 22 Tukeyův HSD test pro první vážení (18.11.2019); proměnná váha; hladina významnosti $\alpha = 0,05$; reziduální rozptyl $PC\check{=} = ,00023$

Skupina	K	A – 0,5	B – 1	C – 1,5
K		0,000008	0,000008	0,000008
A – 0,5	0,000008		0,393743	0,999951
B – 1	0,000008	0,393743		0,396324
C – 1,5	0,000008	0,999951	0,396324	

Tabulka 23 Tukeyův HSD test pro druhé vážení (27.11.2019); proměnná váha; hladina významnosti $\alpha = 0,05$; reziduální rozptyl $PC\check{=} = ,00431$

Skupina	K	A – 0,5	B – 1	C – 1,5
K		0,000430	0,000008	0,000008
A – 0,5	0,000430		0,012592	0,104662
B – 1	0,000008	0,012592		0,832325
C – 1,5	0,000008	0,104662	0,832325	

Tabulka 24 Tukeyův HSD test pro třetí vážení (4.12.2019); proměnná váha; hladina významnosti $\alpha = 0,05$; reziduální rozptyl $PC\check{=} = ,02650$

Skupina	K	A – 0,5	B – 1	C – 1,5
K		0,089908	0,000009	0,000245
A – 0,5	0,089908		0,072073	0,456203
B – 1	0,000009	0,072073		0,737205
C – 1,5	0,000245	0,456203	0,737205	