

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Diplomová práce

**Charakteristika frakcí dusíkatých látek ve výživě
přežvýkavců**

Bc. Marie Koukolová

2012

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marie KOUKOLOVÁ**
Osobní číslo: **Z10695**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Agroekologie**
Název tématu: **Charakteristika frakcí dusíkatých látek ve výživě
přežvýkavců**
Zadávací katedra: **Katedra genetiky, šlechtění a výživy**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cíl práce:

Vyhodnotit frakce dusíkatých látek a stanovit nutriční hodnotu sledovaných krmiv.

Metodika:

Fyziologie výživy a krmení hospodářských zvířat je základním faktorem ovlivňujícím vedle efektivnosti produkce především její kvalitu a jakost. Pozornost bude zaměřena na nutriční hodnotu krmiv, kterou lze definovat pomocí laboratorních metod. U zvoleného souboru krmiv budou vyhodnoceny jednotlivé frakce dusíkatých látek, které budou uvedeny do vztahu k základnímu chemickému složení krmiv. Výsledky budou zpracovány do tabulek a grafů a statisticky vyhodnoceny. Členění práce do jednotlivých kapitol bude provedeno obvyklým způsobem - úvod, literární přehled, metodika, výsledky a diskuse, závěr a přehled použité literatury.

Rozsah grafických prací: nejméně 5 tabulek a grafů
Rozsah pracovní zprávy: 40 stran
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

Seznam odborné literatury:

1. Harazim J., Pavelek L., Čerešňáková Z., Homolka P., Třináctý J., Jambor V., Pozdíšek J., Zeman L., 1999: Metodika pro stanovení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin v bachoru přežvýkavců (metoda "in situ, nylon bag").

Sborník z mezinárodní vědecké konference: Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců. 115-118. ISBN 80-86051-58-7

2. Homolka P., Tománková O., Komprda T., Frydrych Z., 1996: Hodnocení dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce podle systému PDI. Stud. Inform. ÚZPI Praha, Živ. Výr. 4, 33 s.

3. Hvelplund T., Weisbjerg M. R., 2000: In situ techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. In D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford, H. M. Omed (Editors), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CABI Publishing, 233-258.

4. Kudrna V. a kol., 1998: Produkce krmiv a výživa skotu. Agrospoj Praha. 362 p.

5. Licitra G., Hernandez T. M., Van Soest P. J., 1996: Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57 (4), 347-358.

6. Reece O. W., 1998: Fyziologie domácích zvířat. Grada Publishing, 449 s.


7. Zeman L. a kol., 2006: Výživa a krmení hospodářských zvířat. Profi Press, 360 s. ISBN 80-86726-17-7

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. František Lád, CSc.**
Katedra genetiky, šlechtění a výživy
Konzultant diplomové práce: **doc. Ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D.**
VÚZV, Uhřetěves

Datum zadání diplomové práce: **4. března 2011**
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2012**


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 4. března 2011

Vedoucí diplomové práce:

Doc. Ing. František Lád, CSc.

Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Katedra genetiky, šlechtění a výživy

Konzultant:

Doc. Ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D.

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves

Oddělení výživy a krmení hospodářských zvířat

Diplomová práce byla uskutečněna s finanční podporou MZE0002701404.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: Charakteristika frakcí dusíkatých látek ve výživě přežvýkavců vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a použila pramenů, které cituji a uvádím v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG, provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 2012

.....

Poděkování

Děkuji především svému školiteli Doc. Ing. Františku Ládovi, CSc. za odborné i pedagogické vedení v průběhu řešení diplomové práce a konzultantovi Doc. Ing. Petru Homolkovi, CSc., Ph.D. za odbornou a obětavou pomoc, se kterou trpělivě přispíval zejména ke zpracování dosažených výsledků diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala Ing. Veronice Koukolové, Ph.D., Vendulce Sobotkové a Vlastě Hladké za předání praktických znalostí a zkušeností v laboratořích. Díky jejich pomoci a svědomitému přístupu bylo dosaženo výsledků.

Obsah

1. Úvod	6
2. Literární přehled	7
2.1. Výživa a krmení přežvýkavců	7
2.2. Charakteristika krmiv	8
2.3. Živiny	10
2.3.1. Energetické živiny	11
2.3.2. Stavební živiny	13
2.4. Obsah živin a energie v krmivech	17
2.5. Trávení krmiv v bachoru přežvýkavců	19
2.5.1. Využitelnost dusíkatých látek u přežvýkavců	21
2.5.2. Metabolismus bílkovin v organismu přežvýkavců	21
2.5.3. Hodnocení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin u krmiv pro přežvýkavce	23
2.5.4. Význam hodnocení frakcí dusíkatých látek ve výživě přežvýkavců	24
3. Cíl práce	30
4. Materiál a metodika	31
4.1. Pokusný materiál (krmiva)	31
4.2. Chemické rozборы základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a brutto energie původního krmiva	32
4.3. Metody stanovení frakcí dusíkatých látek	33
4.4. Výpočet jednotlivých frakcí dusíkatých látek	36
4.5. Statistické zpracování výsledků	37
5. Výsledky a diskuze	38
5.1. Pokusý materiál (krmiva)	38
5.2. Chemické rozборы základních živin a energie krmiva	38
5.3. Stanovení frakcí dusíkatých látek	41
5.4. Statistické vyhodnocení	45
6. Závěr	51
7. Souhrn	52

8. Summary	54
9. Seznam literatury	56
10.Obrazová příloha	61

1. Úvod

Fyziologie výživy a krmení hospodářských zvířat je základním faktorem ovlivňujícím vedle efektivnosti produkce především její kvalitu. Pro tyto faktory je důležitý optimální přísun živin formou vhodných krmiv. Abychom dokázali správně sestavit odpovídající krmnou dávku a tím pozvedli ekonomickou realizaci genetického potenciálu skotu, musíme znát systém nutričních požadavků zvířete včetně požadavků mikroorganismů, jejichž funkce ve výživě skotu je nenahraditelná.

Optimální živiny, přijímané z krmné dávky, jsou živiny využitelné organismem, které z těla neodešly ve výkalech. Tyto živiny se nazývají stravitelné. Energie těchto živin je přežvýkavci využívána pro biologické procesy, zejména pro záchovu, růst, březost, mléčnou a masnou užitkovost.

Výživa přežvýkavců vychází z přeměny přijatých krmiv (živin) na živočišné produkty díky speciální trávicí soustavě, která je tvořena předžaludkem (bachor, čepec, kniha) a vlastním žaludkem (slez). V bachoru je přijaté krmivo několik hodin tráveno, promícháváno a mechanicky narušováno. Vlivem specifického působení mikrobiálních enzymů dochází v bachoru ke štěpení celulózy, k hydrolyze degradovatelných dusíkatých látek, k tvorbě bílkovin a syntéze vitamínů.

Pro výživu přežvýkavců jsou bílkoviny nepostradatelnou živinou, neboť v těle zvířat tvoří 80 až 90 % organických látek a jsou důležité pro růst, obnovu a látkový metabolismus. Pro organismus zvířat jsou významné vzhledem k jejich schopnosti zajistit výživu živočišných buněk. Bílkoviny jsou přítomny v každé buňce a představují nedílnou součást cytoplazmy. Částečně slouží jako zdroj energie a mají vliv na příjem krmiva, trávení v bachoru, endokrinní regulaci, lipoproteinový metabolismus a obnovu a výstavbu tkání. Výsledným produktem metabolických procesů bílkovin jsou voda, oxid uhličitý a čpavek, který z těla odchází zejména formou moči, ale také výkaly nebo plyny.

Diplomová práce byla zaměřena na stanovení nutriční hodnoty krmiv pomocí laboratorních metod. U zvoleného souboru vzorků krmiv byly stanoveny jednotlivé živiny a frakce dusíkatých látek.

2. Literární přehled

2.1. Výživa a krmení přežvýkavců

Základem výživy zvířat jsou biologické sloučeniny, neboli živiny, které zvířata přijímají v krmivech. Živiny zajišťují nezbytné látky pro fungování všech životních procesů, kterými jsou trávení, pohyb, udržení tělesné teploty, růst, rozmnožování, tvorba tělesné hmoty, produkce mléka u laktujících zvířat, produkce masa, vajec a vlny apod. (Zeman a kol., 2006). Základními nutričními substráty (živinami) pro organismus jsou především zdroje energie (těkavé mastné kyseliny a glukóza), proteiny (mikrobiální proteiny a aminokyseliny), minerály a vitamíny (bakteriální a dietární). Oproti tomu bachorové mikroorganismy jsou schopny vytvářet proteiny z různých zdrojů, neboť nemohou protein využívat přímo. Ten si degradují v bachoru na jednodušší části. Jako zdroj tedy využívají energii (sacharidy, cukry, škrob a aminokyseliny), proteiny (ve formě čpavku, peptidů a aminokyselin), minerály a vitamíny (Koukal, 2004).

Výživa přežvýkavců je uzpůsobena jejich speciálnímu způsobu přeměny krmiv na živočišné produkty (Zahrádková a kol., 2009). Trávení probíhá pomocí předžaludku, který se skládá z bachoru (*rumen*), čepce (*reticulum*) a knihy (*omasus*) a pomocí vlastního žaludku – slezu (*abomasus*), které je uzpůsobeno zejména k využití celulózy, tvořící podstatnou část objemných krmiv (Reece, 1998).

Trávicí soustava přežvýkavců je tvořena dutinou ústní, hltanem, jícnem, vícekomorovým žaludkem složeným z předžaludku (bachor, čepce a kniha), vlastním žaludkem (slez, tenké střevo, tlusté střevo) a konečníkem (Čermák a kol., 1994). Zvířetem přijaté a dostatečně prosliněné krmivo je polknuto a dostává se do bachoru, kde je zpracováno pomocí symbiotických bakterií trávících celulózu. Zde se přijaté krmivo většinou rozloží na těkavé mastné kyseliny a v případě přítomnosti dusíkatých látek dochází k degradaci až na čpavek. Z bachoru jde takto přeměněné krmivo do čepce, kde se za pomoci peristaltických stahů jícnu dostává zpět do dutiny ústní a zde je stoličkami rozmělněna na kašovitou hmotu. Takto vzniklá hmota prostupuje do knihy, přičemž se stále rozmělnuje a posouvá až do slezu, kde dochází k chemickému trávení (Zahrádková a kol., 2009).

2.2. Charakteristika krmiv

Objemná krmiva

Mezi objemná krmiva řadíme čerstvou (zelenou) píci, okopaniny, konzervovaná krmiva (sušením, silážováním) apod. (Zelenka a kol., 2003). Lze je charakterizovat jako krmiva, která mají v 1 gramu sušiny menší koncentraci živin, vyšší obsah vody a průměrný nebo vyšší obsah vlákniny. Dále obsahují vyšší obsah alkalických prvků (např. vápník, draslík nebo sodík) a vyšší obsah vegetační vody (Zeman a kol., 2006).

Objemná krmiva se upravují mytím, krouháním, pařením, mícháním a lisováním. Úprava slámy pro efektivní zkrmování se pro větší efektivnost upravuje fyzikálně mechanicky (řezání, štípání, šrotování a tvarování), tepelně chemicky (míchání, pařeničky, vlhčení slámy a fermentace) a chemicky (čpavkování a louhování) (Kopřiva a kol., 1992).

Dle Zemana a kol. (2006) lze objemná krmiva dělit podle obsahu sušiny na:

- suchá objemná krmiva (seno, krmná sláma),
- šťavnatá objemná krmiva (zelená píče, siláže, okopaniny, pastevní porost),
- vodnatá krmiva (brukvovité pícniny, lihovarské výpalky, škrobárenské zdrtky).

- **Suchá objemná krmiva**

Tato krmiva mají vyšší hodnoty sušiny i vlákniny, než ostatní objemná krmiva. Obsah sušiny je vyšší než 85,9 % a obsah vlákniny v rozmezí 20 až 35 %. Tyto hodnoty způsobují nižší stravitelnost organických látek.

- **Šťavnatá objemná krmiva**

Obsah sušiny i vlákniny je v těchto krmivech nižší a odvíjí se od obsahu vody. Ten je mnohdy až 90 %. Dále je charakteristický nízký obsah živin a průměrná výživná hodnota.

- **Vodnatá krmiva**

Tato krmiva se používají velmi málo, neboť mají jak nízký obsah sušiny, tak také nižší koncentraci živin a nižší výživnou hodnotu.

Další možné rozdělení objemných krmiv dle Kudrny a kol. (1998) je na víceleté pícniny na orné půdě (jeteloviny, pícní trávy a jetelotravní směsi) a jednoleté pícniny (kukuřice a ostatní jednoleté pícniny).

Jadrná krmiva

Oproti objemným krmivům charakterizujeme jadrná krmiva jako krmiva, která mají v 1 gramu sušiny více než 200 gramů stravitelných dusíkatých látek, nižší obsah vlákniny a z minerálních látek převládají kyselinotvorné prvky, např. fosfor, síra, chlor apod. Tato krmiva slouží zejména k doplnění chybějících živin v krmné dávce, které nebyly dodány krmivy objemnými. Označují se jako krmiva produkční a jsou rostlinného i živočišného původu (Zeman a kol., 2006).

Úprava jadrných krmiv se nejčastěji provádí zejména šrotováním, drcením a mačkáním (Kopřiva a kol., 1992).

Dle Kudrny a kol. (1998) je rozdělení jadrných krmiv následující:

- zrniny (obilniny, luskoviny, olejniny),
- krmné zbytky z potravinářského průmyslu a sušená rostlinná a živočišná krmiva (z průmyslu mlynářského, olejářského, pivovarnického, sladařského, mlékárenského, rybozpracujícího, masozpracujícího apod.).

- **Minerální krmiva**

Dle zákona o krmivech (Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat, 1983) se minerálními krmivy rozumí anorganické látky s přidáním či bez přidání doplňkových látek, které jsou určeny ke krmení zvířat samostatně nebo ve směsích. Tyto látky mají uzákoněný obsah popela vyšší než $500 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny (s výjimkou materiálů, které obsahují více než 50 g nerozpustného podílu popela v kyselině chlorovodíkové v 1 kg sušiny).

Z praktického hlediska se minerální látky dělí na makroprvky a mikroprvky. Makroprvky se většinou uvádějí v g.kg⁻¹, popř. v %. Mikroprvky se udávají v mg.kg⁻¹ (ppm). Z obecného hlediska mezi minerální krmiva řadíme například vápence, minerální směsi, krmnou sůl apod. (Zeman a kol., 2006).

2.3. Živiny

Živiny jsou látky organického i anorganického původu, které tvoří základ krmiva a které jsou schopny být po přijetí a strávení v organismu zvířete metabolizovány (Kudrna a kol., 1998).

Tabulka 1: Chemické složení krmiv (Zeman a kol., 2006).

Voda			
Sušina	dusíkaté látky		bílkoviny aminokyseliny Lys, Met, Thr, Trp
			nebílkovinné látky močovina
	lipidy		tuky kyselina linolová
			vosky
			jiné
	sacharidy	vláknina	celulóza hexóza
			hemicelulóza pentózy (a hexózy)
			lignin
		BNLV	polysacharidy škroby
			monosacharidy cukry
	popeloviny		makroprvky Ca, P, Na, K, S, Mg, Cl
			stopové prvky Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Se, I

2.3.1. Energetické živiny

a) Sacharidy

Sacharidy tvoří největší část organických sloučenin a slouží jako zdroj potřebné energie pro výživu zvířat (Kudrna a kol., 1998). Jedná se o organické látky patřící do skupiny polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin (aldehydů nebo ketonů). Nízkomolekulární sacharidy jsou rozpustné ve vodě a jsou méně či více nasládlé (označují se jako cukry). Vysokomolekulární nebo-li makromolekulární polysacharidy jsou ve vodě jen omezeně rozpustné (škrob, agar) či zcela nerozpustné (celulóza) a bývají bez chuti (Velíšek, 2002).

Rozdělení sacharidů dle Reece (1998):

- **Monosacharidy**

Jedná se o sacharidy zahrnující ribózu (pentóza = monosacharid s pěti atomy uhlíku), glukózu (cukr), fruktózu (monosacharid se šesti uhlíky) a galaktózu (monosacharid se šesti uhlíky a aldehydovou skupinou).

- **Disacharidy**

Disacharidy jsou dvě molekuly monosacharidů a jsou složeny ze sacharózy (cukru), maltózy (dvě molekuly glukózy) a laktózy (mléčný cukr). Disacharidy se hydrolýzou štěpí na monosacharidy.

- **Polysacharidy**

Polysacharidy jsou cukry tvořeny monosacharidovými jednotkami, které jsou spojeny glykosidickou vazbou. Nejsou rozpustné ve vodě a nemají sladkou chuť.

Pro zvířata jsou důležité tyto polysacharidy:

- škrob (zásobní látka většiny rostlin, které jsou potravou pro býložravce; vynikající zdroj energie),
- glykogen (základní sacharidová rezerva u zvířat; glykogen se ukládá v játrech a ve svalech),
- celulóza (strukturální složka rostlin; je stravitelná pouze pomocí mikrobiálních celulolytických enzymů, vyskytujících se hlavně u býložravců; celulóza se hydrolyzuje na glukózu).

b) Organické kyseliny

Organické kyseliny jsou běžnou součástí rostlinných i živočišných potravin (krmiv). Jedná se o kyseliny karboxylové, hydroxykarboxylové, oxokyseliny a některé aromatické kyseliny (Velíšek, 2002). Patří sem kyselina máselná, mléčná, mravenčí, octová a propionová (Scott a Eagleson, 1988). Tyto kyseliny jsou výslednými produkty bачorové mikroflóry (Reece, 1998) nebo je produkuje mikroflóra při procesu silážování (Zeman a kol., 2006).

c) Lipidy

Lipidy (tuky) je skupina esterů vyšších mastných kyselin a alkoholů nebo jejich derivátů. Jsou nerozpustné ve vodě a mají olejovou nebo voskovou povahu, což způsobuje převažující množství velkých nepolárních struktur v molekule (Vodrážka, 2002).

Lipidy jsou členěny na neutrální tuky (triacylglyceroly), fosolipidy (sfingomyeliny) a cholesterol (Reece, 1998).

Pro výživu přežvýkavců jsou nejvhodnější tuky skládající se z nasycených mastných kyselin, jejichž bod tání je vyšší než 39 °C. Nevhodné je zkrmování tuků z nenasycených mastných kyselin, jejichž bod tání je většinou méně než 39 °C, protože tuky vytváří v bачoru jemnou emulzi, která snižuje využitelnost ostatních živin v bачoru (Zeman a Skřivánek, 1999).

V tělech zvířat i v krmivech jsou převážně triglyceridy vyšších mastných kyselin a to hlavně kyseliny palmitové, stearové a olejové. Lipidy chrání zvířata před zimou, jsou zásobní nebo rezervní živinou a jsou zdrojem vitamínů rozpustných v tucích (vitamínů A, D, E, K a F) (Kacerovský a kol., 1989).

2.3.2. Stavební živiny

A) Dusíkaté látky

a) Bílkoviny

Dle Reece (1998) jsou bílkoviny (proteiny) složité velké molekuly, které mají vysokou molekulovou hmotnost a obsahují velké množství aminokyselin. Mohou obsahovat více než 100 aminokyselin vzájemně propojených peptidovou vazbou do nerozvětvených řetězců a jejich relativní molekulová hmotnost se pohybuje od 10 000 do milionů Da (daltonů) (Velíšek, 2002). Mimo aminokyselin obsahují dále uhlík, vodík, kyslík a dusík (Reece, 1998) a jsou na ně vázány molekuly a různé anorganické ionty. Některé bílkoviny obsahují fyzikálně nebo chemicky vázané organické sloučeniny, jako např. lipidy, cukry, nukleové kyseliny, různé barevné organické sloučeniny apod. (Velíšek, 2002).

Tabulka 2: Rozdělení bílkovin dle chemického složení (Zeman a kol., 2006).

Bílkoviny	proteiny	vlastní bílkoviny	globuliny
			fosfoproteiny
			prolaminy
			gluteliny
			protaminy
		podpůrné bílkoviny	keratiny
	elastiny		
	kolageny		
	proteidy		nukleoproteidy
			chromoproteidy
			glykoproteidy
			lipoproteidy

Bílkoviny vznikají hydrolýzou, která probíhá při vstupu vody do molekuly za současného uvolňování aminokyselin (Reece, 1998).

Ve výživě zvířat a látkovém metabolismu jsou bílkoviny nenahraditelné makromolekulární látky. V tělech zvířat tvoří až 80 až 90 % organických látek a jejich hlavní funkcí je přísun aminokyselin pro růst, obnovu a látkový metabolismus. Dále mají vliv na příjem krmiva, trávení v bачoru, endokrinní regulaci, lipoproteinový metabolismus (Jelínek a kol., 2003) a obnovu a výstavbu tkání. Částečně slouží také jako zdroj energie (Velíšek, 2002).

- **Proteiny**

Proteiny jsou bílkoviny tvořící důležitou část hmoty živých organismů. Skládají se zejména z jednadvaceti druhů α -aminokyselin (alanin, arginin, asparagin, cystein, fenylalanin, glutamin, glycin, histidin, hydroxyprolin, isoleucin, leucin, lysin, methionin, prolin, serin, treonin, trypsin, tyrosin, valin a kyselina asparagová a glutamová) (Kudrna a kol., 1998), které jsou spojené peptidovými vazbami. Funkce proteinů je důležitá zejména pro biologické pochody jako např. účast na transportu látek v organismu, zprostředkování pohybu ve formě svalových vláken, apod. (Klouda, 2005).

- **Proteidy**

Proteidy je zastaralý název pro konjugované (složené) proteiny (Scott a Eagleson, 1988). Složené proteiny obsahují kromě aminokyselin i nebílkovinné skupiny a řadíme sem nukleoproteidy, chromoproteidy, glykoproteidy a lipoproteidy (Tyleček a kol., 1992).

- **Aminokyseliny (esenciální aminokyseliny, neesenciální aminokyseliny)**

Dle Kudrny a kol. (1998) jsou aminokyseliny základní stavební jednotky bílkovin s typickým zastoupením sloučenin NH_2 a COOH v jedné molekule (některé mohou mít i dvě aminové, popř. karboxylové skupiny ve své molekule). Nejdůležitějších (nutričně nejvýznamnějších) aminokyselin je 21 a podle schopnosti syntetizovatelnosti v živočišném organismu se rozdělují na esenciální (nepostradatelné), neesenciální (postradatelné) a semiesenciální (tabulka 3). Dále

jsou aminokyseliny rozděleny na kódované (standardní) a nekódované; ketogenní (aminokyseliny, které při odbourávání poskytují meziprodukty, z kterých lze metabolickou cestou vybudovat sacharidy) a glukogenní (aminokyseliny, které při odbourávání poskytují pouze takové produkty, ze kterých lze získat pouze mastné kyseliny) (Kodíček, 2004).

Tabulka 3: Rozdělení aminokyselin podle esenciality (Kudrna a kol., 1998).

esenciální	semiesenciální	neesenciální
histidin	arginin	glycin
isoleucin	tyrosin	alanin
leucin	cystein	kyselina asparagová
lysin		asparagin
methionin		kyselina glutamová
fenylalanin		glutamin
treonin		prolin
trypsin		hydroxyprolin
valin		serin

Esenciální aminokyseliny jsou velmi málo, nebo dokonce vůbec syntetizovány v tělech zvířat (syntetizují se pouze u autotrofních organismů – mikroorganismů a rostlin). Proto tyto aminokyseliny musí zvířata dostávat v dietě, vyjma přežvýkavců. Ti v podávaných krmivech nedostávají všechny esenciální aminokyseliny a přesto jejich přísun nijak nevyžadují (Kudrna a kol., 1998). Oproti esenciálním aminokyselinám mohou být neesenciální aminokyseliny syntetizovány v tělech zvířat (Zeman a kol., 2006).

V organismu musí být aminokyseliny v dynamické rovnováze. Proto se v nich nehromadí, ale jsou využívány k syntéze bílkovin nebo jsou metabolizovány (Härtlová a kol., 2009).

b) Nebílkovinné dusíkaté sloučeniny

Mezi nebílkovinné dusíkaté sloučeniny (NPN) řadíme např. aminokyseliny (volné), amidy, alkaloidy, peptidy, nukleové kyseliny, glykosidy obsahující dusík, purinové a pyrimidinové zásady, amonné soli, amoniak, močovinu apod. (Zeman a kol., 2006).

Z energetického hlediska nejsou tyto nebílkovinné sloučeniny nijak významné. V tělech organismu mohou ovlivnit např. centrální nervový systém, průběh látkové přeměny nebo orgány močové a oběhové (Kacerovský a kol., 1989).

B) Minerální látky

Minerální látky spolu s vitamíny a vodou řadíme mezi nekalorické živiny, což jsou živiny, které neobsahují energii, ale i přesto jsou pro tělo nepostradatelné (Reece, 1998). Tyto látky, které jsou obsažené v krmivech, integrují s vodou, s přítomnými organickými látkami a také vzájemně mezi sebou. Všechny tyto interakce následně ovlivňují biologickou využitelnost prvků v daném krmivu (Velíšek, 2002).

V tělech živočichů tvoří 3 až 5 % tělní hmoty. Jsou důležité při průběhu metabolických procesů a podle stupně potřeby se dle Zemana a kol. (2006) mohou dělit na:

- nepostradatelné,
- postradatelné,
- toxické.

Postradatelnost v tělech organismů je ovlivněna mnoha faktory. Například stabilitou minerálních prvků v organismu, morfologickými a fyziologickými změnami tkání při vyvolání deficitu prvku v dietě apod. (Zeman a kol., 2006).

Nepostradatelné prvky rozdělujeme na makroprvky (vápník, fosfor, sodík, hořčík, draslík, síra a chlor) a mikroprvky (železo, měď, zinek, mangan, kobalt, jód, selen a molybden). Tyto nepostradatelné prvky jsou v tělech živočichů obsaženy v podílu, který je stálý a mění se minimálně (Zeman a kol., 2006).

Mezi toxické prvky řadíme olovo, kadmium, rtuť, arzen, fluor apod. (Zeman a kol., 2006).

C) Voda

Mezi další základní nekalorickou živinu patří voda. Voda tvoří nejdůležitější složku v tělech zvířat. Podílí se na stavbě buněk, tkání a bílkovinných koloidů a účastní se transportu živin, jejich metabolitů a termoregulačních procesů (Zeman a kol., 2006).

V tělech živočichů se nachází voda nitrobuněčná a mezibuněčná. Nitrobuněčná voda představuje v tělech organismů zhruba 70 % a mezibuněčná voda zhruba 30 % z celkového množství. Její zastoupení je ovlivněno např. druhem a věkem zvířat, pohlavím apod. a s přibývajícím věkem se zastoupení vody zvyšuje. Vodu lze získat jak z endogenních (vnitřních), tak exogenních (vnějších) zdrojů (Zeman a kol., 2006).

Potřeba vody je u jednotlivých zvířat rozdílná. Mezi nejnáročnější patří skot (s potřebou 45 až 250 litrů u dospělých jedinců), koně (30 až 60 litrů) a prasata se spotřebou od 8 do 25 litrů. Při jejím nedostatku trpí zvíře více než při hladovění. Zvíře je neklidné, odmítá potravu a trpí nechutenstvím a ztrácí tělesnou hmotnost. Při ztrátě 15 až 20 % dochází k úhynu. Naopak přebytečné vody se zbavují snadno ve formě moči, potem, exkrementy, sekrety, ve výkalech a také jako vodní páry plícemi nebo kůží (Zeman a kol., 2006).

2.4. Obsah živin a energie v krmivech

Energie v živinách je nutná pro biologické procesy; pro růst, laktaci, reprodukci, práci, život. Mezi živiny, které jsou zdrojem energie, patří bílkoviny, sacharidy spolu s vlákninou a tuky (Bečvářová, 2010).

Zvířata jsou schopná přijatým krmivem do určité míry zaplnit trávicí trakt a uspokojit tak pocit hladu. Ne však všechna krmiva jsou v přijatém množství schopna dodat organismu zvířete potřebné živiny, které jsou důležité pro stavbu tkání a které mohou být zpracovány na tvorbu produktu. Proto podle skladby živočišných orgánů a živočišné produkce jsou známy živiny, které je nutno organismu zvířete dodávat a při sestavování krmných dávek se vychází z porovnání, kolik a jakých

živin zvíře potřebuje a také kolik a jaké živiny jsou zvířeti dodávány v krmivech (Kudrna a kol., 1998).

S postupující vegetační fází se mění živinové složení rostlin. Ubývá zejména obsah energie, dusíkatých a minerálních látek a snižuje se stravitelnost krmiva. V důsledku toho není pokryt potenciál zvířete (Rinne a kol., 1996).

Dle Vencla (1991) lze přijatou energii v krmivech rozdělit na základě jejího využití a trávení následujícím způsobem:

- **Brutto energie**

Jedná se o spalné teplo, které zahrnuje množství chemické energie obsažené v krmivu. Energie se stanoví z produkce tepla oxidací vzorku v kalorimetrické bombě.

- **Stravitelná energie**

Stravitelná energie je množství přijaté energie, ze kterého se odečte množství energie vyloučené ve výkalech. Vyjadřuje množství brutto energie a koeficientu stravitelnosti energie.

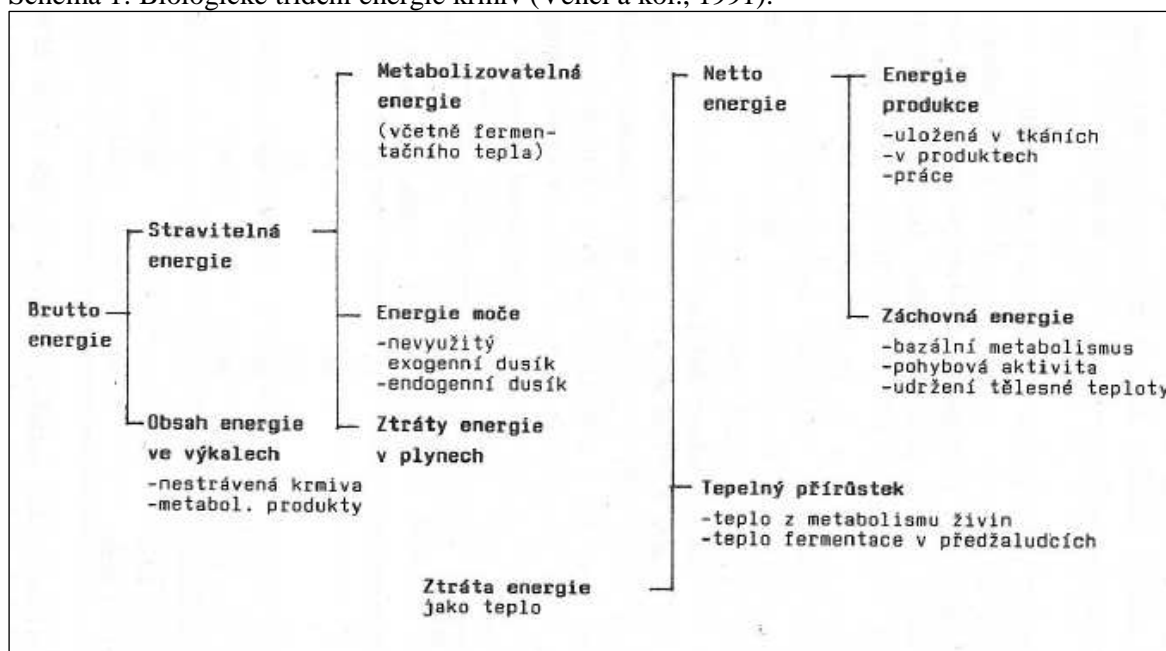
- **Metabolizovatelná energie**

Tato energie se získá po odečtení ztrát energie v moči a plynných produktech kvašení od stravitelné energie (přičemž energie plynných produktů je tvořena zejména metanem). Poměr metabolizovatelné energie k brutto energii se označuje jako metabolizovatelnost.

- **Netto energie**

Netto energie je množství energie vypočítané z metabolizovatelné energie a koeficientu účinnosti využití metabolizovatelné energie. Jedná se tedy o metabolizovatelnou energii uloženou v produkci, záchově a práci.

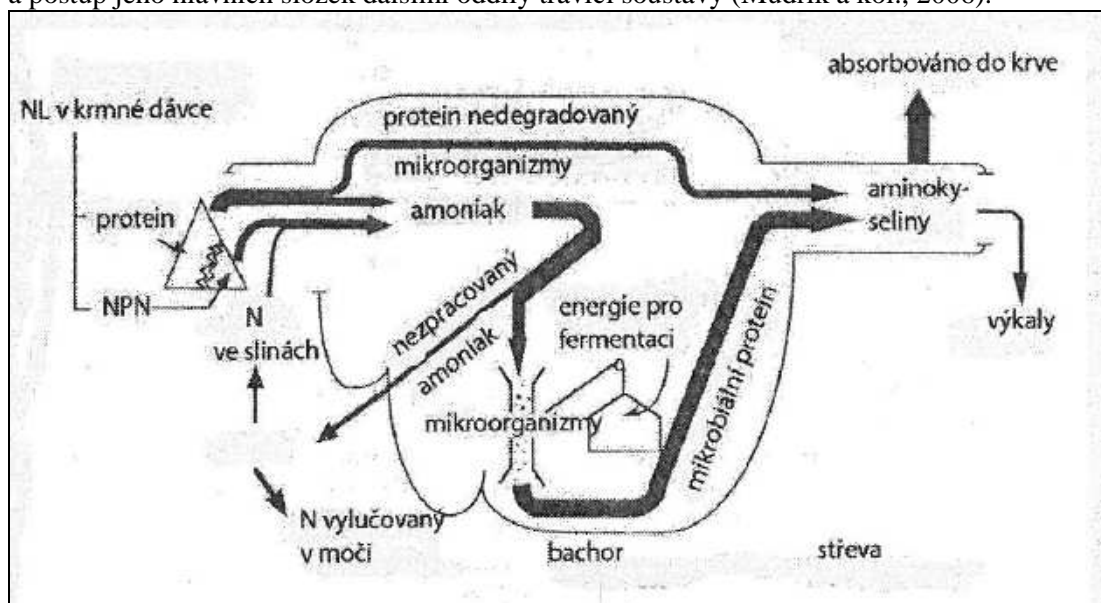
Schéma 1: Biologické třídění energie krmiv (Vencl a kol., 1991).



2.5. Trávení krmiv v batoru přežvýkavců

Trávicí soustava přežvýkavců se v průběhu jejich vývoje dokonale přizpůsobila k využívání rostlinného krmiva bohatého na celulózu, která tvoří značnou část objemných krmiv. Toto přizpůsobení spočívá ve struktuře trávicího ústrojí – předžaludek (bator, čepec, kniha) a vlastní žaludek slez (Jelínek a kol., 2003). Batorová fermentace přináší celou řadu výhod i nevýhod. Její nejdůležitější úloha spočívá v získávání energie z celulózy a hemicelulózy, dále umožňuje přeměňovat méně kvalitní bílkoviny rostlinných zdrojů a NPN (nebílkovinného dusíku) na velmi kvalitní mikrobiální bílkovinu a pomáhá při ničení některých toxinů v batoru. Naopak její nevýhoda se projevuje zejména při fermentaci sacharidů, protože dochází k tvorbě plynů, jejichž energie není zvířetem využita a dochází tedy k jejich ztrátám. Také nastává problém při přijímání rostlinných krmiv s nízkou energetickou hodnotou, protože se pomalu a dlouze fermentují. Proto, zkonzumují-li zvířata větší množství těchto méně energetických rostlin, chybí jim dostatečná energie (Mudřík a kol., 2006).

Schéma 2: Trávení objemného krmiva dobré kvality (stravitelnost organické hmoty 70 %) a postup jeho hlavních složek dalšími oddíly trávicí soustavy (Mudřík a kol., 2006).



N = dusík, NL = dusíkaté látky, NPN = nebilkovinný dusík.

Vlastní přežvykování funguje na základě rejekce (regurgitace = proces, během něhož se krmivo dostává z bachoru do ústní dutiny), přežvykování (remestikace), dodatečného proslinění a opětném spolknutí (Reece, 1998). Jedná se o reflexní činnost, která se spouští automaticky, jakmile dojde k podráždění mechanoreceptorů ve sliznici čepce a v bachoru v oblasti čela. V předžaludcích dochází ke štěpení celulózy (za působení mikrobiálních enzymů), hydrolýze degradovatelných dusíkatých látek, tvorbě bílkovin a syntéze vitamínů (vitamínů B, K a H) (Zahrádková a kol., 2009).

Pro trávení má největší význam bachor, ve kterém se krmivo ukládá, ředí, promíchává, třídí a následně posouvá do dalších úseků trávicího traktu. Bachor funguje na návaznosti rytmických pohybů, které jsou přerušované pravidelnými dobami klidu. Tyto pohyby zajišťují relativní stálost bachorového prostředí a normální funkci mikroorganismů. Bachorové pohyby spočívají ve střídavém smršťování dorzálního (zadního) a ventrálního (břišního) vaku. Při smršťování svaloviny dorzálního bachorového vaku je svalovina vaku ventrálního ochablá a naopak. Při těchto pohybech se obsah bachoru přemisťuje z jednoho vaku do druhého a tím dochází k důkladnému promíchávání (Jelínek a kol., 2003).

Bachor umožňuje stálé promíchávání krmiva a provlhčení a fermentaci (rozkladu) objemného krmiva s vysokým obsahem vlákniny (Reece, 1998).

Po takovémto zpracování krmiva dochází díky čepci k „vypumpování“ bachoru a zase zpět a zároveň se řídí průchod řídkého obsahu bachoru do knihy. Kniha slouží k fermentaci a resorpci a tvoří další propojení mezi čepcem a slezem. Slez, neboli vlastní žaludek, už má vlastnosti běžného žaludku (Reece, 1998).

2.5.1. Využitelnost dusíkatých látek u přežvýkavců

Dusíkaté látky jsou jako stavební materiál v každé buňce a v tělech organismů tvoří nenahraditelnou součást. Největší význam pro přežvýkavce mají bílkoviny a volné aminokyseliny, ale také močovina nebo amonné soli. Močovinu ani amonné soli přežvýkavci nedokážou sami využít, ale mikroorganismy, žijící symbioticky v jejich předžaludcích, využívají tyto nebílkovinné dusíkaté látky pro stavbu vlastního těla (Kudrna a kol., 1998).

Tyto látky jsou pro přežvýkavce důležité pro metabolické procesy (dusíkaté látky umožňují činnost orgánů a spouští a regulují veškeré změny v živočišném organismu), účastní se realizace genetických informací a jsou obsaženy v nukleových kyselinách, enzymech a jsou součástí hormonů. Jejich další funkcí je např. podíl na ochraně organismů před infekcemi nebo na regulaci metabolismu vody (osmotický tlak bílkovin a jejich velikost jim nedovolí prostupovat membránami, což způsobuje kontrolovatelný transport vody do buňky i z buňky do mimobuněčného prostoru) (Kudrna a kol., 1998).

V mimořádných situacích mohou být bílkoviny zdrojem energie, nebo se podílet na tvorbě glukózy či mastných kyselin (Kudrna a kol., 1998).

2.5.2. Metabolismus bílkovin v organismu přežvýkavců

Kvalita bílkovin závisí na zastoupení jednotlivých aminokyselin, které určují jejich biologickou hodnotu. Čím více se aminokyselinové složení bílkovin

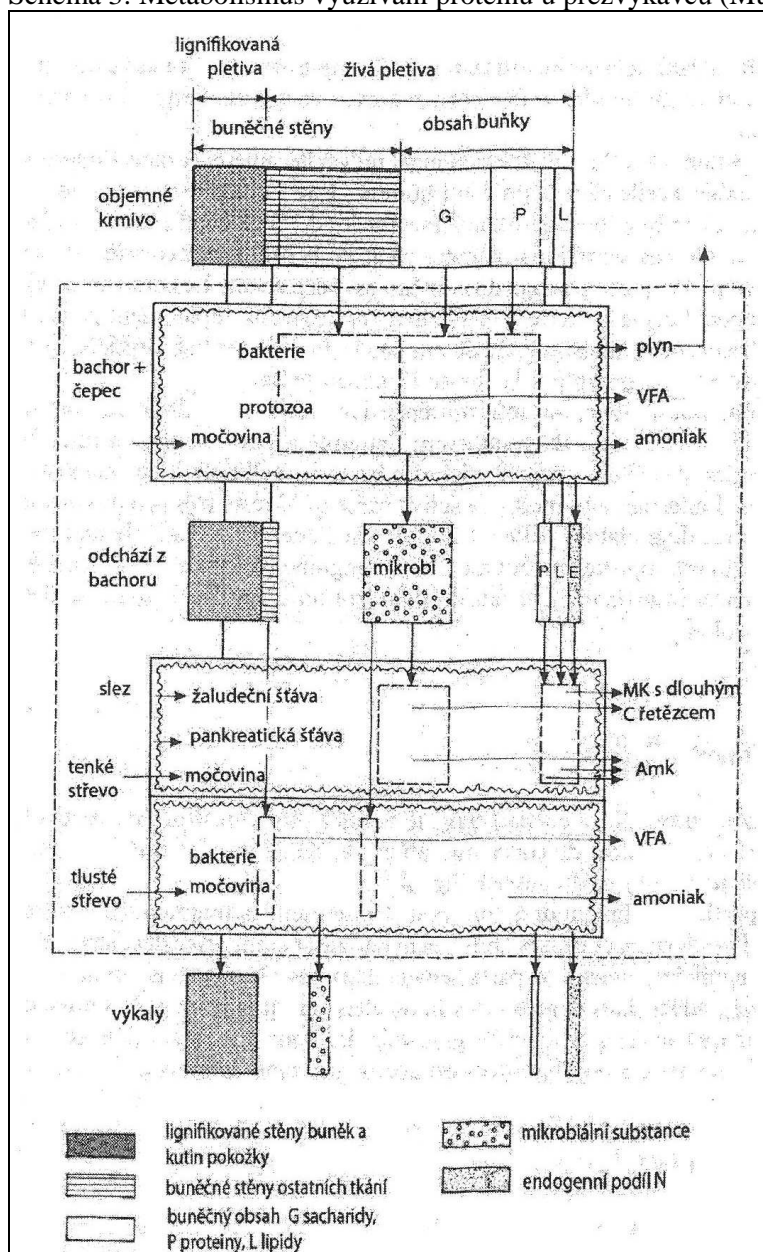
podobá složení tělních tekutin, tím jsou bílkoviny biologicky hodnotnější a lépe využitelnější a jejich biologická hodnota dosahuje vyšších hodnot. Tato biologická hodnota udává, kolik dusíku se vstřebalo z krmiva a zabudovalo do vlastních bílkovin v organismu. Hodnota se zjišťuje v bilančních pokusech a závisí na obsahu esenciálních a neesenciálních aminokyselin (Jelínek a kol., 2003).

Metabolismus bílkovin probíhá v žaludku a na začátku tenkého střeva, kde jsou bílkoviny rozštěpeny na oligopeptidy s krátkým řetězcem (peptidy, jejichž molekula je složená z 2 až 9 aminokyselin) a na volné aminokyseliny (aminokyseliny, které nejsou navzájem propojeny do řetězce tvořícího bílkoviny). Ke štěpení dochází prostřednictvím enzymů v zažívacím traktu a takto rozštěpené aminokyseliny jsou absorbovány za doprovodu krve nebo lymfy do jater. V játrech poté dochází k syntéze bílkovin, odštěpení čpavku (čpavek se vyloučí jako močovina močí), k oxidaci bezdusíkaté frakce a k dopravení aminokyselin prostřednictvím krve do svalů (Zeman a kol., 2006).

Bílkoviny využívané při metabolismu jako rezervy se dělí dle Zemana a kol. (2006) do následujících skupin:

- fixní bílkoviny (nezbytně nutné pro život),
- postradatelné bílkoviny (organismus je může využít pro svoji potřebu bez ohrožení života),
- labilní proteiny (bílkoviny, které se při přechodné potřebě uvolňují do krve, doplňují bílkoviny plazmy nebo se používají jako zdroj aminokyselin).

Schéma 3: Metabolismus využívání proteinu u přežvýkavců (Mudřík a kol., 2006).



Amk = aminokyseliny, MK = mastné kyseliny, VFA = těkavé mastné kyseliny.

2.5.3. Hodnocení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin u krmiv pro přežvýkavce

Evropské systémy hodnocení dusíkatých látek vycházejí ze stejných kritérií. Hodnotí zvláště dusíkaté látky pro bachorové mikroorganismy a pro organismus hostitelského zvířete a dále uvádějí hodnoty degradovatelnosti dusíkatých látek jako jedno z nejdůležitějších kritérií. Odlišnost hodnocení pak spočívá v syntézách mikrobiálních látek z dostupné energie, metodě stanovení

degradovatelnosti a výtokové rychlosti částic, v hodnotách intestinální stravitelnosti nedegradovatelného proteinu, v účinnosti využití degradovatelných dusíkatých látek a neproteinového dusíku bachorovými mikroorganismy, ve složení a stravitelnosti mikrobiálních dusíkatých látek a v účinnosti využití absorbovaných aminokyselin (Kudrna a kol., 1998).

V současné době se pro hodnocení dusíkatých látek používá systém PDI (*Protéines digestibles dans l'intestin*, tj. protein skutečně stravitelný v tenkém střevě). Tento systém PDI počátkem 90. let 20. století nahradil dříve používaný systém SNL (stravitelné dusíkaté látky). Systém PDI posuzuje požadavky organismu na zásobní protein podle jeho množství skutečně vstupujícího do tenkého střeva, zatímco systém SNL odvozoval požadavky organismu mezi množstvím dusíkatých látek v krmivu a množstvím dusíkatých látek ve výkalech (Kudrna a kol., 1998).

Systém PDI zohledňuje mikrobiální fermentaci v bachoru, degradaci dusíkatých látek krmiva a rozdílné využití dusíkatých látek vstupujících do tenkého střeva. Degradovatelné dusíkaté látky jsou zdrojem dusíku pro bachorovou mikroflóru a nedegradovatelné dusíkaté látky jsou přímým zdrojem aminokyselin pro zvířata. Nedegradovatelné dusíkaté látky různých krmiv jsou využívány rozdílně, tudíž střevní stravitelnost nedegradovatelných dusíkatých látek krmiva se pohybuje v rozsahu od 55 do 95 % (Homolka a kol., 1996).

2.5.4. Význam hodnocení frakcí dusíkatých látek ve výživě přežvýkavců

Aby byl ve výživě zvířat zajištěn vysoký produkční potenciál, který úzce souvisí se správným fungováním bachorové mikroflóry, je potřeba určit správnou potřebu proteinu a zajistit jeho vybalancování. Proto je snaha co nejpřesněji predikovat tok jednotlivých proteinových frakcí do tenkého střeva. Nejvýznamnější frakci představuje mikrobiální protein MCP (*Microbial Crude Protein* = mikrobiální hrubý protein), který tvoří základ mikroorganismů, podílejících se na trávení v bachoru (Richter a Třináctý, 2009). Mikrobiální protein se díky svému aminokyselinovému složení řadí ke kvalitním proteinům a zčásti nahrazuje chybějící živočišný protein v krmivu přežvýkavců (Třináctý a kol., 2004).

Druhou frakci zastupuje nedegradovatelný protein krmiva RUP (*Ruminally Undergraded feed crude Protein* = hrubý protein krmiva nedegradovatelný v bachoru), který se neúčastní degradačního procesu v bachoru. Množství tohoto proteinu pozitivně ovlivňuje rychlost degradace proteinu, který odpovídá danému typu krmiva. Jedná se např. o ruminálně degradovaný protein RDP (*Ruminally Degraded feed crude Protein* = hrubý protein krmiva degradovatelný v bachoru), který se podílí na syntéze mikrobiálního proteinu (MCP) (Richter a Třináctý, 2009).

Mezi třetí frakci se řadí endogenní protein ECP (*Endogenous Crude Protein* = endogenní protein). Původ tohoto proteinu je ze slin, trávicích enzymů a odumřelých buněk epitelu trávicího traktu a neřadí se mezi významné dusíkaté frakce (Richter a Třináctý, 2009).

Pro možný předpoklad toku jednotlivých proteinových frakcí, je podstatné prvně určit zastoupení jednotlivých složek nedegradovatelného proteinu (RUP) a degradovatelného (RDP) proteinu. Pro toto určení se využívá frakcionace krmiva hodnocení krmiv v rámci NRC (2001) nebo Cornellský systém (CNCPS = *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (Sniffen a kol., 1992); systém který využívá chemickou frakcionaci dle Licitiry a kol. (1996). Systém NRC (2001) využívá frakcionaci A, B a C. Tato metoda je založená na inkubaci krmiva v nylonových nebo polyesterových sáčkách. V bachoru přežvýkavců jsou frakce rozděleny na frakci A (rozpuštná rychle degradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*), B (potencionálně degradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*) a C (nedegradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*) (Richter a Třináctý, 2009).

Frakce A (rozpuštná rychle degradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*) se skládá z NPN (nebílkovinný dusík) sloučenin (volné aminokyseliny, dusík obsahující zásady a kyseliny, močovina apod.). NPN sloučeniny jsou z bachoru odbourávány a přetvořeny, proto nejsou součástí nedegradovatelného proteinu (Navrátil, 2010).

Frakce B (potencionálně degradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*) se skládají z čistého proteinu. Tento protein buď není vázán na vlákninu (B1), nebo je vázán na NDF (neutrálně detergentní vláknina), ale lehce se

rozpouští (B2), nebo je vázán na ADF (acido detergentní vláknina) a rozpouští se těžce (B3). Všechny frakce typu B se podílí na UDP (protein, který v je v bachoru nedegradovatelný a přechází do střeva) (Navrátil, 2010).

Frakce C (nedegradovatelná frakce proteinu krmiva získaná metodou *in situ*) je navázána na ADF a je téměř nevyužitelná. Nachází se zejména v bílkovinných silážích a pivovarských produktech a obsah této frakce se zvyšuje tepelným narušením. Je-li podíl této frakce vysoký, znamená to, že tento nedegradovatelný protein se nevyužije a objeví se ve výkalech (Navrátil, 2010).

Jednotlivé frakce dusíkatých látek popsal Van Soest (1994), Licitra a kol. (1996) a Ghoorchi a Arbabi (2010). Oproti systému hodnocení krmiv v rámci NRC (2001) jsou v Cornellském systému dle Licitry a kol. (1996) frakce rozděleny podrobněji na frakci A (nebílkovinný dusík vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B1 (rychle rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B2 (středně rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B3 (pomalu rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek) a C (vázaný (nestravitelný) protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek) (Richter a Třináctý, 2009). Cornellský systém je proto považován za komplikovanější a jeho aplikace v praktických podmínkách je časově i finančně náročnější (Třináctý a kol., 2009).

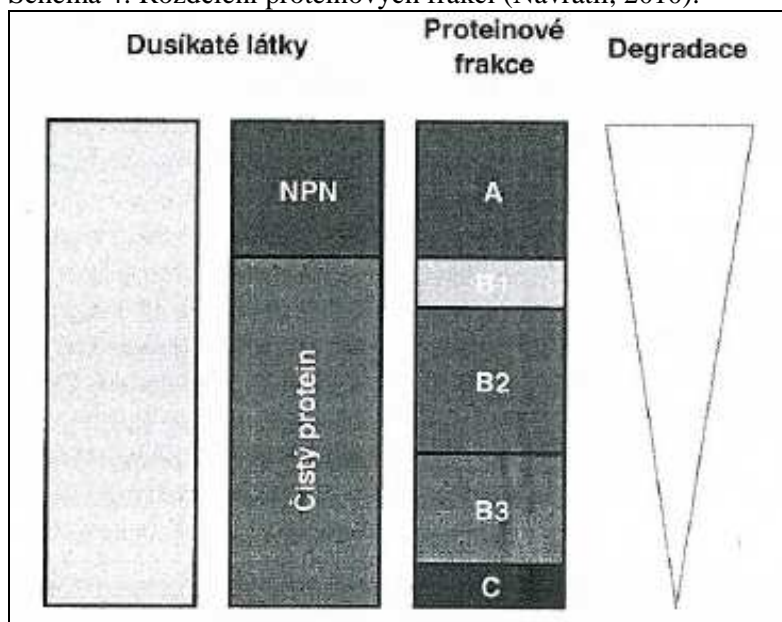
Cornellský systém byl vyvinut za účelem predikovat požadavky zvířat, využitelnost krmiv, užitkovost zvířat a živiny přecházejících do mléčné a masné produkce. Tento systém, který je založen na chemické frakcionaci, využívá poznatky o složení krmiva, trávení a metabolismu při zásobení živinami tak, aby byly zajištěny požadavky zvířete (Fox a kol., 2004; Ghoorchi a Arbabi, 2010; Cornell University Department of Animal Science, 2012).

Tabulka 4: Rozdělení frakcí dusíkatých látek u krmiv (Licitra a kol., 1996).

Frakce	Zkratka	Klasifikace
Nebílkovinný dusík	NPN	A
Rychle rozložitelný protein	BSP	B1
Středně rozložitelný protein	IP - NDIP	B2
Pomalou rozložitelný protein	NDIP - ADIP	B3
Vázaný (nestravitelný) protein	ADIP	C

A = nebílkovinný dusík, ADIP = dusík nerozpustný v kyselém detergentu, B1 = rychle rozložitelný protein, B2 = středně rozložitelný protein, B3 = pomalu rozložitelný protein, BSP = v pufru rozpustný protein, C = vázaný (nestravitelný) protein, IP = nerozpustný dusík, NDIP = dusík nerozpustný v neutrálním detergentu, NPN = nebílkovinný dusík.

Schéma 4: Rozdělení proteinových frakcí (Navrátil, 2010).



A = nebílkovinný dusík, B1 = rychle rozložitelný protein, B2 = středně rozložitelný protein, B3 = pomalu rozložitelný protein, C = vázaný (nestravitelný) protein, NPN = nebílkovinný dusík.

Základem všech krmiv je velká variabilita v obsahu proteinů a bezdusíkatých sloučenin. Bílkoviny (proteiny) jsou velké molekuly, které se od sebe liší velikostí, tvarem, rozpustností a složením a jsou přítomny v buněčných stěnách a v rostlinných i živočišných tkáních. (Cornell University Department of Animal Science, 2012).

Proteiny lze podle vzniku rozdělit na mikrobiální, by-pass (dietární) a metabolizovatelné proteiny. Metabolizovatelný protein zahrnuje aminokyseliny,

které vznikly při procesu biosyntézy mikrobiálního proteinu v batoru, tak aminokyseliny vzniklé enzymatickým rozštěpením by-pass (dietárního) proteinu (Koukal, 2004).

Charakteristika proteinů dle Koukala (2004):

Mikrobiální protein

V batoru zvířat žijí mikrobiální, které metabolizují přijatá krmiva, zejména monosacharidy, oligosacharidy, polysacharidy a dusíkaté látky. Touto přeměnou si vytváří svůj vlastní protein, tzv. mikrobiální protein. Pro přežvýkavce je velice důležité, že tento mikrobiální protein je vysoce stravitelný a má velkou biologickou hodnotu (více než 90 %). Uváděná biologická hodnota znamená, že aminokyselinové složení vytvořeného proteinu je velice blízké aminokyselinám, které vyžadují přežvýkavci. Pro porovnání, biologická hodnota proteinu vaječného bílku je pro člověka téměř 100 % (protože aminokyselinová skladba vaječného bílku je totožná s potřebami člověka), protein masa má biologickou hodnotu kolem 85 % a proteiny, kterým chybí některé esenciální aminokyseliny (např. želatiny), mohou mít biologickou hodnotu pouze 20 %.

U přežvýkavců je proto žádoucí dosáhnout maximální produkce mikrobiálního proteinu. Čím vyšší je fermentace škrobů a vlákniny a vyšší produkce těkavých mastných kyselin, tím se zpřístupní větší množství energie pro bator i přežvýkavce a zvýší se i tvorba mikrobiálního proteinu. Což je efektivní a důležité např. pro mléčnou produkci.

By-pass (dietární) protein

By-pass protein se řadí mezi další složku metabolizovatelného proteinu. Na rozdíl od mikrobiálního proteinu není rozkládán v batoru a jeho stravitelnost se předpokládá zhruba z 80 %. V současné době se však v Evropě živočišné zdroje by-pass proteinu nepoužívají a jeho kvalita a biologická hodnota je tedy značně omezena. Avšak variabilita stravitelnosti rostlinného proteinu je značná. Proto zařazování těchto zdrojů by-pass proteinu do krmných dávek je často spojováno s vysokou mírou nejistoty.

Metabolizovatelný protein

Jedná se o množství strávených aminokyselin v žaludku, které byly následně absorbovány tenkým střevem. Tímto vstřebáním se staly dostupné pro organismus zvířete a pro jeho udržení životních pochodů, růstu plodu a v případě laktujících zvířat pro podporu mléčné produkce.

3. Cíl práce

Nutriční hodnotu krmiv vyjadřuje obsah jednotlivých živin, degradovatelnost a stravitelnost krmiva (dusíkatých látek, sacharidů a organické hmoty). Hypotéza diplomové práce vycházela z principu hodnocení dusíkatých látek na úrovni jednotlivých frakcí, které se významným způsobem podílí na evaluaci používaných systémů hodnocení krmiv pro přežvýkavce.

Cílem diplomové práce bylo stanovit nutriční hodnotu krmiv ($n = 8$) pomocí základních chemických rozborů a vyhodnotit jednotlivé frakce dusíkatých látek konkrétními laboratorními metodami:

- stanovení nebílkovinného dusíku (NPN),
- stanovení rozpustného dusíku a bílkovin,
- stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu (ADIP),
- stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu (NDIP).

4. Materiál a metodika

Diplomová práce byla řešena ve Výzkumném ústavu živočišné výroby, v.v.i. v Praze Uhřetěvesi (VÚŽV, v.v.i.), oddělení Výživy a krmení hospodářských zvířat. Vzorky hodnocených krmiv byly poskytnuty z rozsáhlé databáze vzorků a laboratorní rozborů byly uskutečněny v laboratořích VÚŽV, v.v.i. pod odborným vedením zkušených laborantů.

4.1. Pokusný materiál (krmiva)

K pokusům byly použity vzorky objemné píce (metlice trsnatá, metlička křivolaká, pastevní porosty) a lupiny (lupina úzkolistá APR 82), které byly vybrány za účelem doplnění nutriční databáze vzorků krmiv. Z luskovin byla vybrána jedna z nejvyužívanějších odrůd lupin a byla získána od komerčního dodavatele. Objemná píce byla odebírána v několika vegetačních sezónách v Krkonošském národním parku (Zadní Rennerovky, nadmořská výška 1170 - 1320 m). Seznam a popis analyzovaných vzorků je uveden v tabulce 5. Odebrané vzorky krmiv byly usušeny v sušárně při teplotě do 50 °C, poté semlety mlýnkem na velikost částic 1 mm a rozborovány.

Tabulka 5: Seznam sledovaných vzorků krmiv.

Číslo vzorku	Krmivo	Laboratorní číslo krmiva	Popis krmiva (růstová fáze)	Termín odběru
1	Lupina úzkolistá	1708	odrůda APR 82, semena získána od komerčního dodavatele	srpen 2006
2	Metlice trsnatá	1411/225	počátek metání až konec metání	7. 6. 2000
3	Metlička křivolaká	1821	počátek metání	22. 5. 2007
4	Metlička křivolaká	1839	konec metání, počátek květu	25. 6. 2007
5	Metlička křivolaká	1887	konec metání, počátek květu	20. 6. 2008
6	Pastevní porost	1906	průměrný vzorek pastevního porostu, 1. seč, byliny 1/3 fáze květu a 2/3 fáze odkvětu, konec květu	18. 7. 2008
7	Pastevní porost	1924	průměrný vzorek pastevního porostu, 2. seč, obrůstající porost	30. 9. 2008
8	Pastevní porost	1964	průměrný vzorek pastevního porostu, byliny fáze květu, trávy konec metání a počátek květu	22. 6. 2009

4.2. Chemické rozborů základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a brutto energie původního krmiva

Vzorky krmiv byly rozborovány na obsah základních živin: neutrálně detergentní vlákninu (NDF) dle Van Soesta a kol. (1991), acido detergentní vlákninu (ADF) a acido detergentní lignin (ADL); dusíkaté látky (Kjeldahlova metoda, $N \times 6,25$), tuk přímou extrakcí dle Soxhleta a hrubou vlákninou (AOAC, 2005). Popel byl stanoven po 4,5 hodinovém pálení v peci při teplotě 550 °C (AOAC, 2005).

Bezduškaté látky výtahové (BNLV) byly vypočteny podle vzorce:
 $BNLV = \text{sušina} - (\text{dusíkaté látky} + \text{hrubá vláknina} + \text{tuk} + \text{popel})$.

Brutto energie (spalné teplo, BE) byla stanovena pomocí přístroje kalorimetr (IKA C 5000 Werke, Germany).

4.3. Metody stanovení frakcí dusíkatých látek

Pro stanovení frakcí dusíkatých látek u krmiv pro přežvýkavce byly použity následující metody (Licitra a kol., 1996):

1. Stanovení nebílkovinného dusíku (NPN) pomocí kyseliny trichloroctové.
2. Stanovení rozpustného dusíku a bílkovin.
3. Stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu (ADIP) s využitím přístroje Fibertec.
4. Stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu (NDIP) s využitím přístroje Fibertec.

Pomocné přístroje

Analyzátor 2400 Kjeltec

Přístroj Kjeltec 2400 slouží pro stanovení dusíku a bílkovin dle Kjeldahla. Přístroj je plně automatizován a umožňuje analýzu až 60 vzorků najednou.

Fibertec

Přístroj Fibertec slouží ke stanovení jednotlivých frakcí strukturních sacharidů: acido detergentní vlákniny, neutrálně detergentní vlákniny a nesacharidového ligninu.

Ad a) Stanovení nebílkovinného dusíku (NPN) pomocí kyseliny trichloroctové

Stanovení nebílkovinného dusíku bylo provedeno pomocí kyseliny trichloroctové (TCA) a bylo nutné následující laboratorní vybavení:

- Erlenmeyerovy baňky (125 ml),
- bezpopelové filtrační papíry,
- analytické váhy,
- filtrační Büchnerovy nálevky,
- mineralizační blok,
- mineralizační tuby,
- Kjeldahl přístroj (Kjeltec 2400).

Tato metoda vychází z navážky 0,5 g ($\pm 0,0001$ g) suchého namletého vzorku do 125 ml Erlenmeyerovy baňky. Do baňky bylo přidáno 50 ml destilované vody a takto připravený vzorek se ponechal stát 30 minut. Následně bylo přidáno 10 ml 10% kyseliny trichloroctové (TCA 10% w/v ve vodě) a po dalších 30 minutách se filtrovalo pomocí filtračních papírků s využitím gravitace. Po přefiltrování se dvakrát či podle potřeby promývalo roztokem TCA a filtrační papírek se vzorkem byl kvantitativně přenesen do připraveného mineralizačního bloku (Kjeldahl přístroje) s připravenými tubami pro stanovení zbytkového dusíku.

Odečtením zbytkového dusíku z dusíku celkového byl vypočítán obsah nebílkovinného dusíku. Tato hodnota může být vyjádřena formou dusíkatých látek ($N \times 6,25$) nebo jako procento z celkového dusíku krmiva.

Ad b) Stanovení rozpustného dusíku a bílkovin

Stanovení rozpustného dusíku je prováděno za pomoci borato-fosforečnanového pufru (pH 6,7 až 6,8) a 10% azidu sodného. Pro toto stanovení bylo zapotřebí laboratorní vybavení:

- Erlenmeyerovy baňky (150 ml),
- bezpopelové filtrační papírky,
- analytické váhy,
- vodní a membránová vývěva,
- odsávací baňka s gumovou zátkou (upravená pro nasazení nálevek a pro filtraci pod tlakem),
- filtrační Büchnerovy nálevky,
- sklopná pipeta,
- mineralizační blok,
- mineralizační tuby,
- Kjeldahl přístroj (Kjeltec 2400).

Metoda vychází z navážky 0,5 g ($\pm 0,0001$ g) suchého namletého vzorku do 125 ml Erlenmeyerovy baňky. Do baňky bylo k naváženému vzorku přidáno 50 ml borato-fosforečnanového pufru a 1 ml roztoku azidu sodného a takto připravený vzorek byl ponechán při pokojové teplotě 3 hodiny. Následovala filtrace pomocí

membránové vývěvy; předepsané použití mírného vakua vodní vývěvou nestačilo, neboť docházelo k zanášení pórů filtračního papíru. Usazený zbytek vzorku v baňce byl promýván pomocí 250 ml studené destilované vody. Filtrační papírek s přefiltrovaným vzorkem byl přenesen do připraveného mineralizačního bloku (Kjeldahl přístroje) s připravenými tubami pro stanovení zbytkového dusíku.

Rozpustná bílkovina byla vypočtena rozdílem z celkových dusíkatých látek.

Ad c) Stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu (ADIP) s využitím přístroje Fibertec

Stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu za použití přístroje Fibertec je založeno na použití acido detergentního roztoku (AD) a acetonu. Laboratorní vybavení tohoto stanovení je následující:

- přístroj Fibertec,
- fibertec kelímky,
- analytické váhy,
- sušárna s aktivní ventilací,
- bezpopelové filtrační papíry,
- mnohonásobná filtrace vybavená kónickými nálevkami,
- mineralizační bloky,
- mineralizační tuby,
- Kjeldahl přístroj (Kjeltec 2400).

Do předem vysušených a zvážených frit určených do přístroje Fibertec bylo naváženo 0,5 g ($\pm 0,0001$ g) vzorku. Do frity s naváženým vzorkem krmiva bylo přidáno 100 ml AD roztoku a uvedeno do varu po dobu 1 hodiny v přístroji Fibertec. Poté byly převařené vzorky krmiva promývány studenou destilovanou vodou, dokud nebyla ze skleněných stěn Fibertecu odstraněna veškerá rezidua analyzovaných vzorků. Následovalo vyjmutí frit s rezidui z přístroje a promývání acetonem v intervalech 3×3 minuty. Promyté frity s rezidui byly vloženy do sušárny a sušeny přes noc při teplotě 103 °C. Po usušení byly frity s rezidui zváženy a zaznamenány. Rezidua byla z fibertecových kelímků vymyta pomocí destilované vody na bezpopelový filtrační papírek, byla vysáta přebytečná voda pomocí membránové vývěvy a přenesena do mineralizačních tub připravených

v mineralizačních blocích, ve kterých byl stanoven zbytkový dusík standardním postupem podle Kjeldahla.

Po vysušení (103 °C) a zvážení prázdných frit byla vypočítána hmotnost rezidua jako rozdíl hmotností usušené frity s reziduem a vysušené prázdné frity.

Ad d) Stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu (NDIP) s využitím přístroje Fibertec

Stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu (ND) za použití přístroje Fibertec je založeno na použití ND roztoku. Postup a laboratorní vybavení této NDIP metody je stejný jako u stanovení ADIP. Rozdíl metody je pouze v použití ND roztoku místo AD roztoku.

4.4. Výpočet jednotlivých frakcí dusíkatých látek

Pro výpočet jednotlivých frakcí dusíkatých látek krmiv (frakce A, B1, B2, B3 a C) byly použity následující rovnice (Ghoorchi a Arbabi, 2010):

$$\text{frakce A (\% NL)} = \text{NPN (\% SOLP)} \times 0,01 \times \text{SOLP (\% NL)}$$

$$\text{frakce B1 (\% NL)} = \text{SOLP (\% NL)} - \text{frakce A (\% NL)}$$

$$\text{frakce C (\% NL)} = \text{ADIP (\% NL)}$$

$$\text{frakce B3 (\% NL)} = \text{NDIP (\% NL)} - \text{ADIP (\% NL)}$$

$$\text{frakce B2 (\% NL)} = 100 - \text{A (\% NL)} - \text{B1 (\% NL)} - \text{B3 (\% NL)} - \text{C (\% NL)}$$

Kde: frakce A (% NL) = nebílkovinný dusík vyjádřený v procentech dusíkatých látek; frakce B1 (% NL) = rychle rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek; frakce B2 (% NL) = středně rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek; frakce B3 (% NL) = pomalu rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek; frakce C (% NL) = vázaný (nestravitelný) protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek; ADIP = dusík nerozpustný

v kyselém detergentu; NDIP = dusík nerozpustný v neutrálním detergentu;
NL = dusíkaté látky; NPN = nebílkovinný dusík; SOLP = rozpustný dusík.

4.5. Statistické zpracování výsledků

Experiment byl statisticky vyhodnocen v programu SAS 9.1, procedura GLM (PROC GLM), (SAS Institute, 2003). Pomocí procedury PROC CORR byly vyhodnoceny korelační koeficienty mezi jednotlivými sledovanými proměnnými. Test statisticky významných rozdílů mezi sledovanými krmivy byl hodnocen metodou mnohonásobného srovnávání (Scheffého analýza; PROC GLM).

5. Výsledky a diskuze

5.1. Pokusný materiál (krmiva)

V tabulce 4 (kapitola 4.1. Pokusný materiál (krmiva)) jsou vyjmenovány a charakterizovány jednotlivé vzorky krmiv, tj. lupina úzkolistá ($n = 1$) a objemná píce ($n = 7$) odebíraná v různých vegetačních sezónách.

- **Luskoviny**

Lupina úzkolistá (*Lupinus angustifolius* L) patří mezi velice ranné druhy. Není náročná na teplotní podmínky a využívá se zejména ve výživě zvířat. U nás se pěstují převážně odrůdy APR 82, Prima a Rose (Homolka a Kudrna, 2007).

- **Objemná píce**

Metlice trsnatá (*Deschampsia cespitosa*) se řadí mezi lipnicovité traviny. Vyskytuje se na vlhkých půdách a preferuje mírně až středně kyselé půdy. Kvete od poloviny června do srpna a je náročná na živiny (Grau a kol., 1998).

Metlička křivolaká (*Avenella flexuosa*) je vytrvalá, hluboko kořenující travina. Kvete od června do července a patří mezi traviny vyhledávající světlé a suché stanoviště (Grau a kol., 1998).

Kudrna a kol. (1998) uvádí, že travní porosty představují významný krajinný prvek, který při zvládnutí a respektování jejich biologických a ekologických zákonitostí může významně podpořit stabilizaci širších vazeb v krajině.

5.2. Chemické rozbory základních živin a energie krmiva

U všech sledovaných vzorků krmiv ($n = 8$) byly provedeny základní chemické rozbory včetně stanovení obsahu energie krmiva (tabulka 5). U vzorků byly stanoveny dusíkaté látky, tuk, hrubá vláknina, acido detergentní vláknina, acido detergentní lignin (AOAC, 2005), neutrálně detergentní vláknina (Van Soest a kol.,

1991) a popel (AOAC, 2005). Na základě těchto stanovení byly dopočteny bezdusíkaté látky výtažkové a organická hmota. Dále byla kalorimetricky stanovena brutto energie krmiva (spalné teplo).

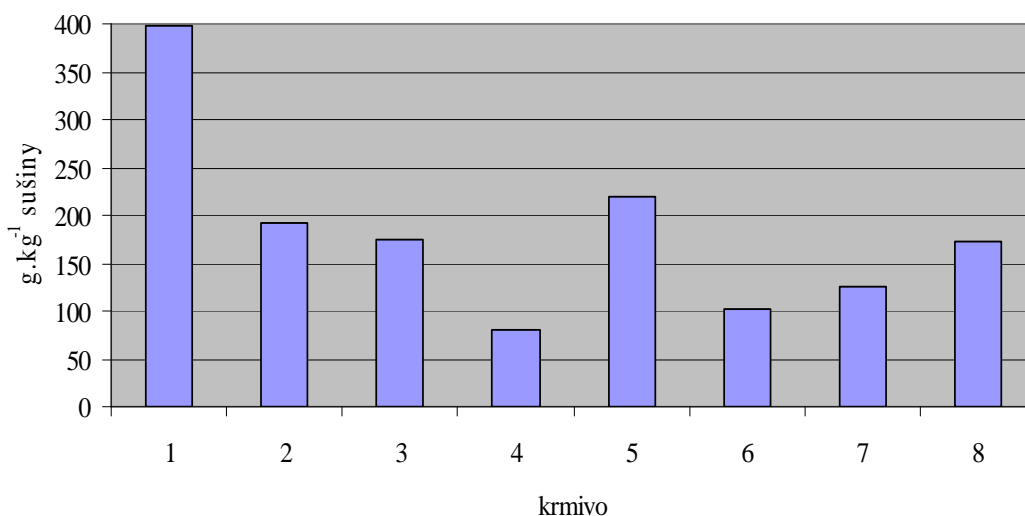
Tabulka 5: Obsah jednotlivých živin ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) a brutto energie ($\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) u sledovaných vzorků krmiv.

Číslo vzorku	Krmivo	NL	Tuk	CF	BNLV	OH	NDF	ADF	ADL	BE
1	Lupina úzkolistá APR 82	397,3	63,0	148,9	350,3	959,5	478,0	228,4	28,8	20,7
2	Metlice trsnatá	192,2	30,7	282,1	433,6	938,6	593,6	314,1	56,9	19,7
3	Metlička křivolaká	174,4	19,1	253,5	498,5	945,5	597,8	274,6	44,6	19,8
4	Metlička křivolaká	79,9	23,4	374,9	486,0	964,2	716,5	422,3	77,9	19,5
5	Metlička křivolaká	219,9	24,8	190,6	512,9	948,2	641,4	281,6	29,3	20,4
6	Pastevní porost	102,6	17,3	312,4	524,6	956,9	653,9	374,0	63,0	19,4
7	Pastevní porost	125,7	13,8	293,2	509,4	942,2	366,1	343,0	59,5	19,3
8	Pastevní porost	172,8	22,2	243,0	504,3	942,3	525,8	286,3	74,8	19,9

ADF = acido detergentní vláknina, ADL = acido detergentní lignin, BE = brutto energie, BNLV = bezdusíkaté látky výtažkové, CF = hrubá vláknina, NDF = neutrálně detergentní vláknina, NL = dusíkaté látky, OH = organická hmota.

Obsah dusíkatých látek se pohyboval od 79,9 do 397,3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny (tabulka 5, graf 1). Nejvyšší hodnoty vykazovala lupina úzkolistá APR 82 (397,3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny). Nižší hodnoty byly zaznamenány u metlice trsnaté (192,2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) a dále u metličky křivolaké s průměrem 158,1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny (219,9 (vzorek číslo 5); 174,4 (vzorek číslo 3); 79,9 (vzorek číslo 4) $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny). Nejnižší obsah dusíkatých látek byl u pastevních porostů s průměrem 133,7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny. U metličky křivolaké odebírané ve dvou termínech v průběhu jedné vegetační sezóny (vzorek číslo 3 a vzorek číslo 4) byl zjištěn klesající obsah dusíkatých látek se stárnutím porostu. Tento trend poklesu obsahu dusíkatých látek ve vztahu k postupující vegetační fázi porostu též potvrzuje řada vědeckých publikací (Rinne a Nykänen, 2000; Koukolová a kol., 2010 a další).

Graf 1: Obsah (g.kg^{-1} sušiny) dusíkatých látek (NL) u sledovaných vzorků krmiv.



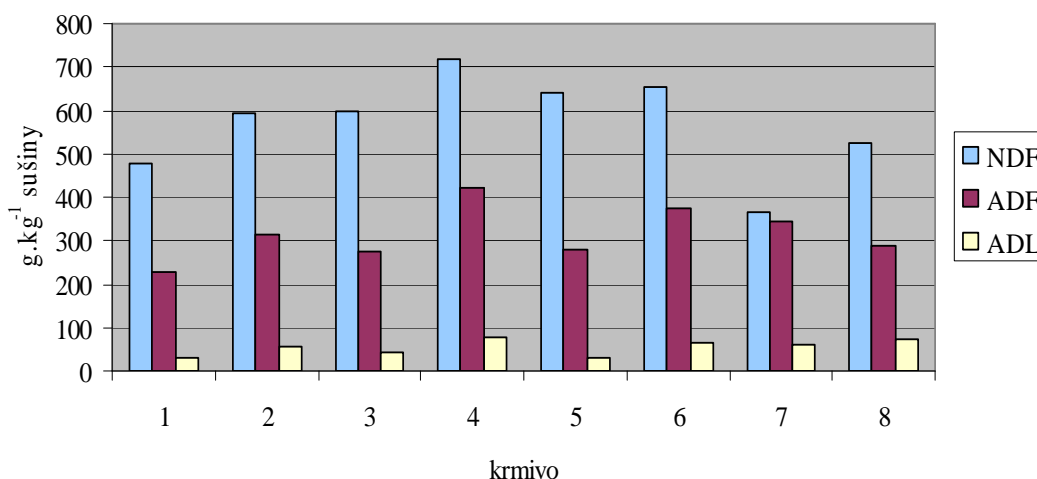
1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

Neutrálně detergentní vláknina (tabulka 5, graf 2) se pohybovala v rozmezí od 366,1 do 716,5 g.kg^{-1} sušiny. Nejvyšších hodnot dosahovala metlička křivolaká s průměrem 651,9 g.kg^{-1} sušiny (716,5 (vzorek číslo 4); 641,4 (vzorek číslo 5); 597,8 (vzorek číslo 3) g.kg^{-1} sušiny), dále metlice trsnatá (593,6 g.kg^{-1} sušiny, vzorek číslo 2), pastevní porost s průměrem 515,3 g.kg^{-1} sušiny (366,1 (vzorek číslo 7), 525,8 (vzorek číslo 8) a 653,9 (vzorek číslo 6) g.kg^{-1} sušiny) a nejnižší hodnoty vykazoval pastevní porost s 366,1 g.kg^{-1} sušiny (vzorek číslo 7). U acido detergentní vlákniny se hodnoty pohybovaly od 228,4 do 422,3 g.kg^{-1} sušiny. Nejvyšší hodnoty měla metlička křivolaká s průměrem 326,2 g.kg^{-1} sušiny (422,3 (vzorek číslo 4); 281,6 (vzorek číslo 5); 274,6 (vzorek číslo 3) g.kg^{-1} sušiny). Nižší hodnoty byly u pastevního porostu s průměrem 334,4 g.kg^{-1} sušiny, metlice trsnaté 314,1 g.kg^{-1} sušiny a stejně jako u neutrálně detergentní vlákniny byly nejnižší hodnoty u lupiny úzkolisté APR 82 (228,4 g.kg^{-1} sušiny; vzorek číslo 1). Obsah acido detergentního ligninu byl nejnižší u lupiny úzkolisté APR 82 (28,8 g.kg^{-1} sušiny; vzorek číslo 1). U metlice trsnaté vykazoval hodnoty 56,9 g.kg^{-1} sušiny, u pastevního porostu v průměru 56,8 g.kg^{-1} sušiny a u metličky křivolaké v průměru 50,6 g.kg^{-1} sušiny.

Obsah jednotlivých frakcí vlákniny (NDF, ADF, ADL) souvisí s celou řadou faktorů, např. vegetační fáze, klimatické podmínky, agronomické podmínky

a způsob ošetření a úpravy krmiv (Písaříková a kol., 2007; Pozdíšek a Vaculová, 2008; Tyrolová a Výborná, 2008, Jančík a kol., 2009). Coblenz a kol. (1998), Elizalde a kol. (1999) a Koukolová a kol. (2010) potvrzují narůstající obsah NDF, ADF, ADL v závislosti na stárnutí porostu. Zvyšující se obsah NDF, ADF a ADL se stářím porostu je patrný (tabulka 5, graf 2) u sledované metličky křivolaké (vzorek číslo 3 a vzorek číslo 4). Zároveň toto potvrzuje (tabulka 5, graf 2) i pastervní píce (vzorek číslo 6 a vzorek číslo 7), kde je stupeň lignifikace u vegetačně mladšího porostu nižší (vzorek číslo 7) oproti porostu vegetačně staršímu (vzorek číslo 6).

Graf 2: Obsah (g.kg^{-1} sušiny) neutrálně detergentní vlákniny (NDF), acido detergentní vlákniny (ADF) a acido detergentního ligninu (ADL) u sledovaných vzorků krmiv.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastervní porost, 7 = pastervní porost, 8 = pastervní porost.

5.3. Stanovení frakcí dusíkatých látek

Pro stanovení jednotlivých frakcí dusíkatých látek byly provedeny chemické analýzy popsané v kapitole 4.3. Metody stanovení frakcí dusíkatých látek. Popsanými metodami dle Licitry a kol. (1996) byl stanoven obsah NPN (nebílkovinný dusík), IP (nerozpustný dusík), SOLP (rozpustný dusík), ADIP (dusík nerozpustný v kyselém detergentu) a NDIP (dusík nerozpustný v neutrálním detergentu). Výsledky těchto stanovení jsou uvedeny v tabulce 6.

NPN byl stanoven metodou pro stanovení nebílkovinného dusíku pomocí kyseliny trichloroctové a jeho hodnoty kolísaly od 56,7 (vzorek číslo 4) do 323,7 (vzorek číslo 1) g.kg^{-1} sušiny. IP proběhlo metodou pro stanovení rozpustného dusíku a bílkovin, pomocí kterého byl vypočten rozpustný dusík (SOLP). Hodnoty IP se pohybovaly od 45,6 (vzorek číslo 4) do 140,8 (vzorek číslo 1) g.kg^{-1} sušiny a hodnoty SOLP byly od 19,4 (vzorek číslo 4) do 256,5 (vzorek číslo 1) g.kg^{-1} sušiny. ADIP byl stanoven metodou pro stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu s využitím přístroje Fibertec. Jeho hodnoty se pohybovaly od 9,8 (vzorek číslo 4) do 41,8 (vzorek číslo 8) g.kg^{-1} sušiny. NDIP byl stanoven metodou pro stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu s využitím přístroje Fibertec a jeho hodnoty kolísaly od 41,0 (vzorek číslo 4) do 111,3 (vzorek číslo 5) g.kg^{-1} sušiny.

Pro srovnání, dle Ghoorchihho a Arbabiho (2010), který zkoumal frakce dusíkatých látek u pěti krmiv (vojtěška setá, sójový šrot, šrot z bavlníkových semen, pšeničné otruby, cukrovarské řízky) stejnými metodami, vyšly hodnoty NPN od 18,3 (pšeničné otruby) do 248,5 (vojtěška setá) g.kg^{-1} sušiny. Průměr z těchto vzorků byl 105,3 g.kg^{-1} sušiny. Námí sledované vzorky vykazovaly průměrnou hodnotu NPN 144,3 g.kg^{-1} sušiny. Oproti tomu SOLP vykazovaly větší rozdíly hodnot. Ghoorchi a Arbabi (2010) zjistili variabilitu SOLP pěti krmiv od 58,4 (pšeničné otruby) do 205,3 (sójový šrot) g.kg^{-1} sušiny (v průměru 139,6 g.kg^{-1} sušiny), zatímco námí stanovené hodnoty SOLP vykazovaly v průměru 78,7 g.kg^{-1} sušiny. Zjištěné rozdíly hodnot odpovídají sledované variabilitě vzorků. Stejně tak výsledky ADIP a NDIP prokázaly větší rozpětí hodnot (v průměru 30,4 g.kg^{-1} sušiny pro ADIP a 80,3 g.kg^{-1} sušiny pro NDIP) oproti hodnotám Ghoorchihho a Arbabiho (2010), jejichž průměrné hodnoty byly pro ADIP 126,2 g.kg^{-1} sušiny a pro NDIP 628,9 g.kg^{-1} sušiny.

Tabulka 6: Chemické složení dusíkatých látek ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) u sledovaných vzorků krmiv.

Číslo vzorku	Krmivo	NPN	IP	SOLP	ADIP	NDIP
1	Lupina úzkolistá APR 82	323,7	140,8	256,5	40,1	61,7
2	Metlice trsnatá	142,1	115,8	76,5	32,5	94,7
3	Metlička křivolaká	140,3	102,8	71,5	26,7	99,7
4	Metlička křivolaká	56,7	45,6	19,4	9,8	41,0
5	Metlička křivolaká	158,2	124,0	95,9	27,3	111,3
6	Pastevní porost	77,7	59,5	43,1	24,5	54,4
7	Pastevní porost	107,8	81,4	44,4	40,7	69,4
8	Pastevní porost	148,2	109,9	22,1	41,8	110,2

ADIP = dusík nerozpustný v kyselém detergentu, IP = nerozpustný dusík, NDIP = dusík nerozpustný v neutrálním detergentu, NPN = nebílkovinný dusík, SOLP = rozpustný dusík.

V tabulce 7 jsou uvedeny jednotlivé frakce dusíkatých látek: frakce A (nebílkovinný dusík), frakce B1 (rychle rozložitelný protein), frakce B2 (středně rozložitelný protein), frakce B3 (pomalu rozložitelný protein) a frakce C (vázaný (nestravitelný) protein). Uvedené frakce dusíkatých látek (A, B1, B2, B3 a C) byly vypočítány podle rovnic Ghoorchihho a Arbabiho (2010).

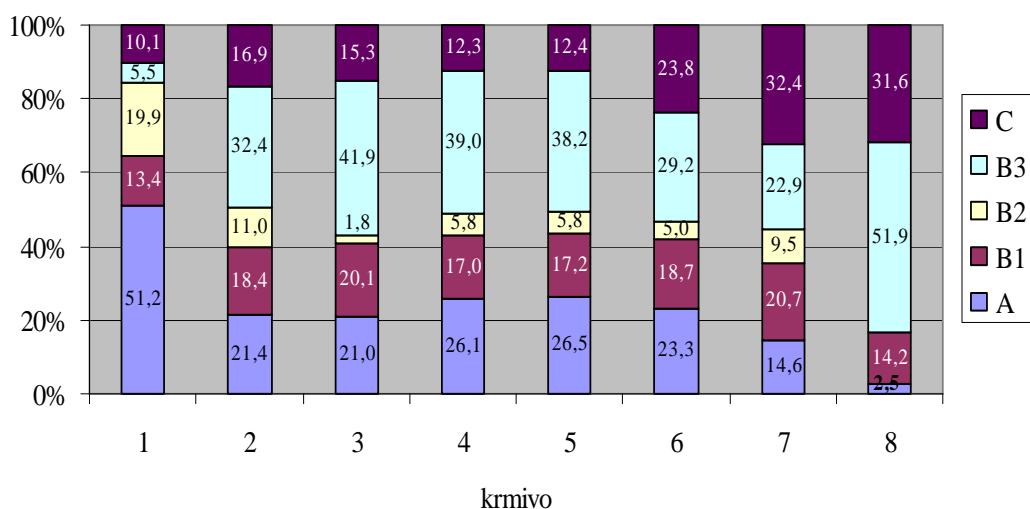
Tabulka 7: Stanovení jednotlivých frakcí dusíkatých látek.

Číslo vzorku	Krmivo	A	B1	B2	B3	C
		(% dusíkatých látek)				
1	Lupina úzkolistá APR 82	51,2	13,4	19,9	5,5	10,1
2	Metlice trsnatá	21,4	18,4	11,0	32,4	16,9
3	Metlička křivolaká	21,0	20,1	1,8	41,9	15,3
4	Metlička křivolaká	26,1	17,0	5,8	39,0	12,3
5	Metlička křivolaká	26,5	17,2	5,8	38,2	12,4
6	Pastevní porost	23,3	18,7	5,0	29,2	23,8
7	Pastevní porost	14,6	20,7	9,5	22,9	32,4
8	Pastevní porost	2,5	14,2	0	51,9	31,6

A = nebílkovinný dusík, B1 = rychle rozložitelný protein, B2 = středně rozložitelný protein, B3 = pomalu rozložitelný protein, C = vázaný (nestravitelný) protein.

Hodnoty jednotlivých frakcí dusíkatých látek jsou vyjádřeny v % dusíkatých látek (graf 3), přičemž jejich konečná hodnota by měla být 100 % (odchyly od 100 % se pohybují v rozmezí 0 až 0,2 %, což je to dáno zaokrouhlením hodnot při stanovení jednotlivých frakcí dusíkatých látek).

Graf 3: Vyjádření podílu jednotlivých frakcí dusíkatých látek (% dusíkatých látek).



A = nebílkovinný dusík, B1 = rychle rozložitelný protein, B2 = středně rozložitelný protein, B3 = pomalu rozložitelný protein, C = vázaný (nestravitelný) protein.

Nejvyšší hodnoty frakce A (% dusíkatých látek) (tabulka 7, graf 3) byly zaznamenány u lupiny úzkolisté APR 82 (51,2 %). Zbylé hodnoty byly výrazně nižší. U metličky křivolaké v průměru 24,5 %, metlice trsnaté 21,4 % a u pastevního porostu v průměru 13,5 %. Frakce A u krmiv sledovaných autory Ghoorchi a Arbabi (2010) byla v průměru 10,5 % (rozpětí hodnot od 1,8 % (pšeničné otruby) do 24,9 % (vojtěška setá)). U námi hodnocených krmiv dosahovala frakce A průměrné hodnoty 23,3 % dusíkatých látek, tj. hodnoty kolísaly od 2,5 % (vzorek číslo 8) do 51,2 % (vzorek číslo 1).

Oproti metodě pro stanovení frakce A byly hodnoty frakce B1 (% dusíkatých látek) lupiny úzkolisté APR 82 nejnižší ze všech sledovaných vzorků krmiv (13,4 %). Hodnoty metlice trsnaté (18,4 %), metličky křivolaké (s průměrem 18,1 %) a pastevního porostu (s průměrem 17,9 %) si byly velice podobné (tabulka 7, graf 3). Frakce B1 u krmiv hodnocených ve vědecké publikaci Ghoorchi a Arbabi (2010) vykazovala hodnoty v rozmezí 5,8 % (pšeničné otruby) až 20,5 % (sójový šrot), průměr činil 14,0 %. Námi sledovaná krmiva vykazovala pro frakci B1 srovnatelné hodnoty v průměru 17,5 %, v rozpětí od 14,2 % (vzorek číslo 8) do 20,7 % (vzorek číslo 7).

Nejvyšší hodnotu frakce B2 (% dusíkatých látek) měla lupina úzkolistá APR 82 (19,9 %; vzorek číslo 1), následovala metlička křivolaká (v průměru 13,4 %; vzorky číslo 3, 4, 5), metlice trsnatá (11,0 %; vzorek číslo 2) a nejnižší průměrné hodnoty byly zjištěny u pastervního porostu (4,8 %; vzorky číslo 6, 7, 8) (tabulka 7, graf 3). Tyto hodnoty korespondovaly s hodnotami zjištěnými v publikaci Ghorchi a Arbabi (2010), kde frakce B2 kolísala od 4,1 % (sójový šrot) do 21,6 % (pšeničné otruby).

U frakce B3 byly podobně jako u frakce B1 dosaženy nejnižší hodnoty (% dusíkatých látek) u lupiny úzkolisté APR 82 (5,5 %; vzorek číslo 1). Metlička křivolaká dosahovala v průměru 39,7 % (vzorky číslo 3, 4, 5), pastervní porost v průměru 34,7 % (vzorky číslo 6, 7, 8) a metlice trsnatá 16,9 % (vzorek číslo 2) (tabulka 7, graf 3).

Hodnoty frakce C (% dusíkatých látek) byly v průměru vyšší (19,4 %) oproti hodnotám Ghorchiho a Arbabiho (2010), které činily v průměru 12,6 %.

5.4. Statistické vyhodnocení

V tabulce 8 jsou uvedeny korelační koeficienty vyjadřující korelační závislost mezi chemickými rozborů základních živin a jednotlivými frakcemi dusíkatých látek u sledovaných vzorků lupiny a objemné píče. Vysoká negativní korelační závislost ($P < 0,05$) byla potvrzena mezi obsahem dusíkatých látek a acido detergentní vlákniny ($r = -0,856$) a acido detergentního ligninu ($r = -0,768$). Dále obsah hrubé vlákniny a acido detergentní vlákniny měl významný vliv ($P < 0,05$) na stanovení NPN ($r = -0,892$ a $-0,863$, respektive), IP ($r = -0,924$ a $-0,950$, respektive), SOLP ($r = -0,756$ a $-0,671$, respektive), ADIP ($r = -0,620$ a $-0,679$, respektive) a NDIP ($r = -0,495$ a $-0,609$, respektive). Jednotlivé frakce dusíkatých látek byly ve významném korelačním vztahu ($P < 0,05$) s obsahem dusíkatých látek (A, $r = 0,691$; B1, $r = -0,610$; B2, $r = 0,695$; B3, $r = -0,590$), tuku (A, $r = 0,816$; B1, $r = -0,709$; B2, $r = 0,803$; B3, $r = -0,668$; C, $r = -0,565$), acido detergentního ligninu (A, $r = -0,656$; B2, $r = -0,502$; B3, $r = 0,503$; C, $r = 0,545$) a hrubé vlákniny (B1, $r = 0,501$).

Metodou mnohonásobného srovnávání (Scheffého test) byl proveden test statisticky významných rozdílů ($P < 0,05$). Mezi sledovanými krmivy byly zjištěny pro konkrétní frakce dusíkatých látek statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$). Významnost rozdílů mezi krmivy je zaznamenána v grafu 4 pro frakci A (koeficient determinace (R^2) = 0,998; koeficient variability (var) = 3,933; střední kvadratická odchylka (RMSE) = 0,916), grafu 5 pro frakci B1 (R^2 = 0,999; var = 0,731; RMSE = 0,128), grafu 6 pro frakci B2 (R^2 = 0,976; var = 17,384; RMSE = 1,278), grafu 7 pro frakci B3 (R^2 = 0,994; var = 4,522; RMSE = 1,475) a v grafu 8 pro frakci C (R^2 = 0,997; var = 3,569; RMSE = 0,690). Nejpatrnější je rozdíl ($P < 0,05$) lupiny úzkolisté (vzorek číslo 1) od ostatních krmiv; odchylka byla zaznamenána pro frakce A, B1, B2 a B3, odchylka nebyla potvrzena pouze pro frakci C (graf 8). Mezi pastevními porosty (vzorky číslo 6, 7, 8), které se lišily ve vegetační fázi jejich odběru, byl zaznamenán též rozdíl ($P < 0,05$) v jednotlivých frakcích dusíkatých látek (grafy 4, 5, 6, 7, 8), nelišily se pouze vzorky číslo 6 a 7 pro frakce B2 (graf 6) a B3 (graf 7) a dále vzorky číslo 7 a 8 pro frakci C (graf 8).

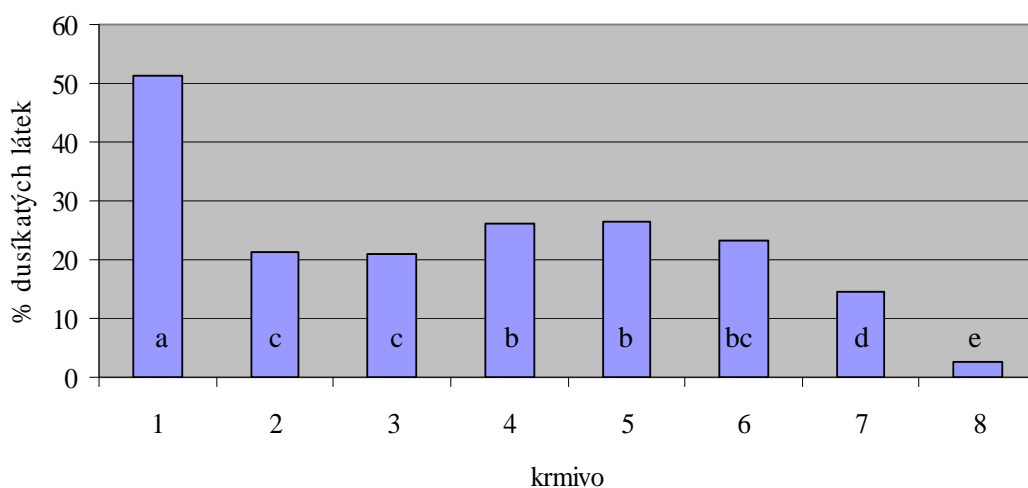
Tabulka 8: Korelační koeficienty vybraných proměnných (chemické rozborů základních živin a jednotlivé frakce dusíkatých látek).

	NL	Tuk	CF	OH	NDF	ADF	ADL	BE	NPN	IP	SOLP	ADIP	NDIP	A	B1	B2	B3
NL																	
Tuk	0,907																
CF	0,901	-0,650															
OH	0,062	0,354	0,156														
NDF	-0,349	-0,169	0,377	0,439													
ADF	-0,856	-0,583	0,946	0,338	0,428												
ADL	-0,768	-0,547	0,828	0,014	0,176	0,743											
BE	0,911	0,812	-0,888	0,178	-0,082	-0,787	-0,766										
NPN	0,993	0,897	-0,892	0,050	-0,425	-0,863	-0,720	0,880									
IP	0,867	0,629	-0,924	-0,392	-0,375	-0,950	-0,735	0,816	0,851								
SOLP	0,940	0,937	-0,756	0,313	-0,262	-0,671	-0,770	0,834	0,926	0,671							
ADIP	0,524	0,285	-0,620	-0,578	-0,681	-0,679	-0,268	0,296	0,582	0,658	0,319						
NDIP	0,192	-0,152	-0,495	-0,771	-0,106	-0,609	-0,296	0,288	0,174	0,637	-0,112	0,426					
A	0,691	0,816	-0,438	0,620	0,060	-0,300	-0,656	0,642	0,652	0,312	0,886	-0,113	-0,434				
B1	-0,610	-0,709	0,501	-0,350	-0,020	0,405	0,108	-0,700	-0,620	-0,446	-0,509	-0,239	-0,029	-0,338			
B2	0,695	0,803	-0,406	0,259	-0,381	-0,311	-0,502	0,448	0,681	0,408	0,823	0,298	-0,391	0,793	-0,287		
B3	-0,590	-0,668	0,355	-0,339	0,450	0,238	0,503	-0,348	-0,594	-0,245	-0,773	-0,292	0,519	-0,786	0,121	-0,924	
C	-0,446	-0,565	0,257	-0,507	-0,534	0,186	0,545	-0,581	0,652	0,312	0,886	-0,113	-0,434	-0,769	0,235	-0,389	0,254

A = nebílkovinný dusík; ADF = acido detergentní vláknina; ADIP = dusík nerozpustný v kyselém detergentu; ADL = acido detergentní lignin; B1 = rychle rozložitelný protein; B2 = středně rozložitelný protein; B3 = pomalu rozložitelný protein; BE = brutto energie; C = vázaný (nestravitelný) protein; CF = hrubá vláknina; IP = nerozpustný dusík; NDF = neutrálně detergentní vláknina; NDIP = dusík nerozpustný v neutrálním detergentu; NL = dusíkaté látky; NPN = nebílkovinný dusík; OH = organická hmota; SOLP = rozpustný dusík.

„Tučně“ zvýrazněné korelační koeficienty byly stanoveny na hladině statistické významnosti $P < 0,05$.

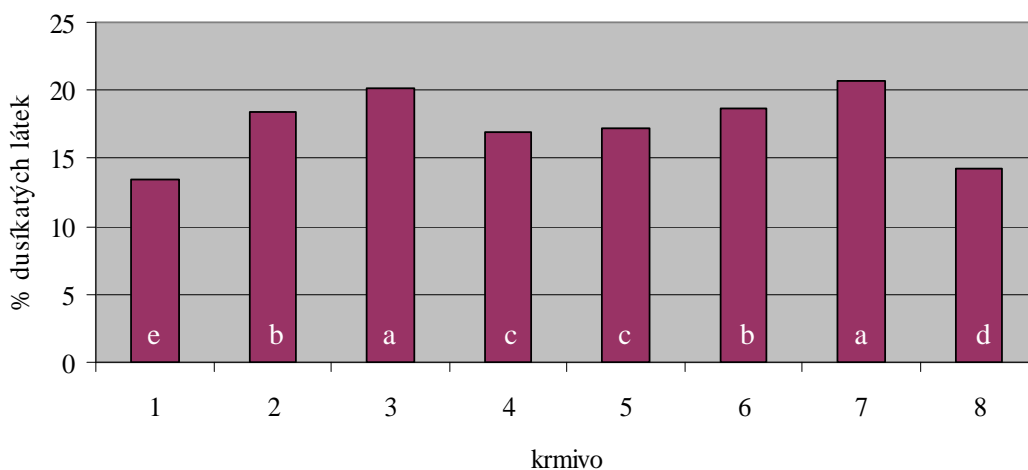
Graf 4: Podíl nebílkovinného dusíku (frakce A) na obsahu dusíkatých látek.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

a, b, c, d, e různá písmena uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými krmivy ($P < 0,05$; Scheffe test).

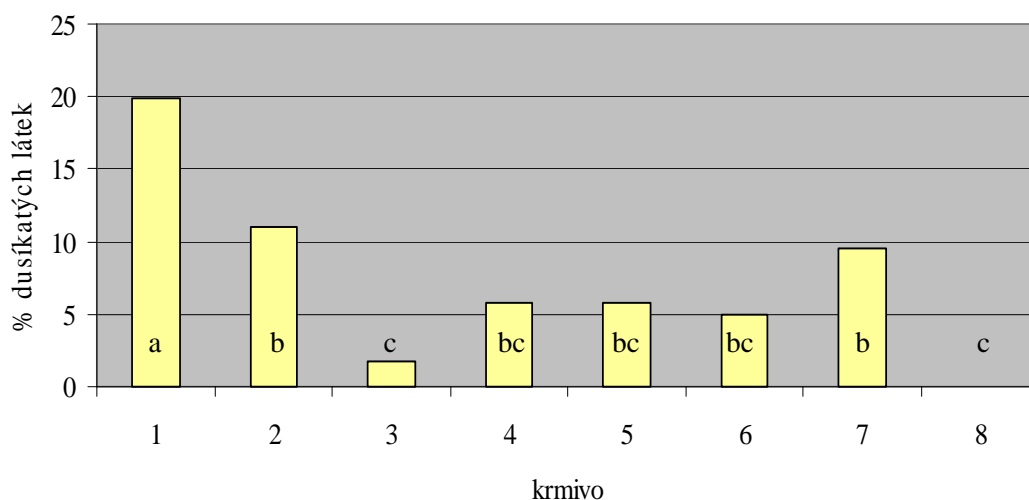
Graf 5: Podíl rychle rozložitelného proteinu (frakce B1) na obsahu dusíkatých látek.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

a, b, c, d, e různá písmena uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými krmivy ($P < 0,05$; Scheffe test).

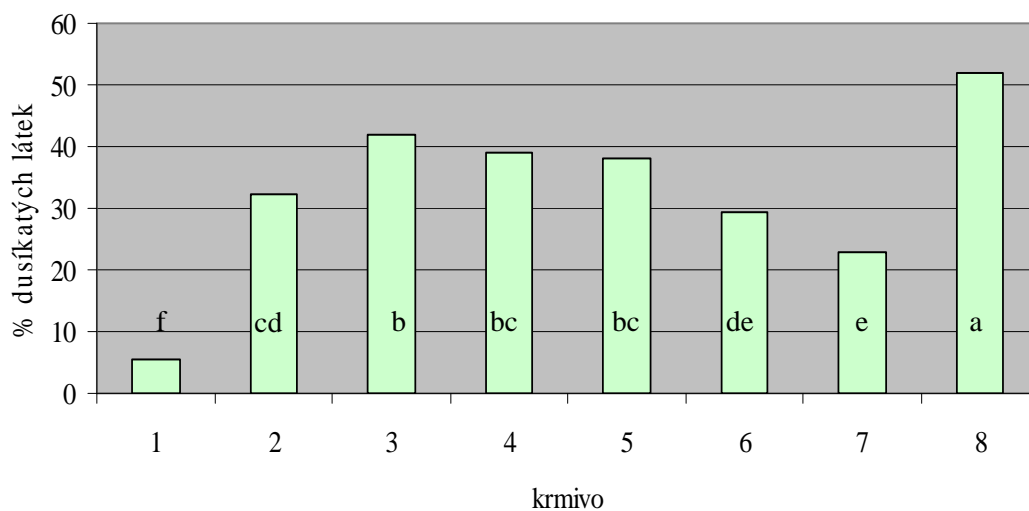
Graf 6: Podíl pomalu rozložitelného proteinu (frakce B2) na obsahu dusíkatých látek.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

^{a, b, c} různá písmena uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými krmivy ($P < 0,05$; Scheffe test).

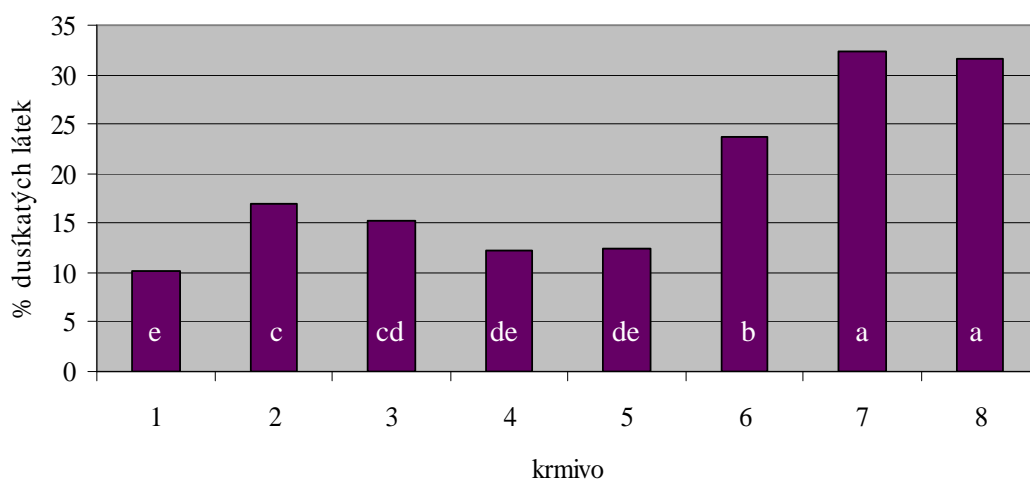
Graf 7: Podíl středně rozložitelného proteinu (frakce B3) na obsahu dusíkatých látek.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

^{a, b, c, d, e, f} různá písmena uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými krmivy ($P < 0,05$; Scheffe test).

Graf 8: Podíl vázaného (nestravitelného) proteinu (frakce C) na obsahu dusíkatých látek.



1 = lupina úzkolistá APR 82, 2 = metlice trsnatá, 3 = metlička křivolaká, 4 = metlička křivolaká, 5 = metlička křivolaká, 6 = pastevní porost, 7 = pastevní porost, 8 = pastevní porost.

^{a, b, c, d, e} různá písmena uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými krmivy ($P < 0,05$; Scheffe test).

6. Závěr

V této práci je uvedena nutriční hodnota lupiny úzkolisté, metlice trsnaté, metličky křivolaké a pastervního porostu. Bylo stanoveno základní chemické složení krmiv a jednotlivé frakce dusíkatých látek. Frakce dusíkatých látek byly charakterizovány hodnotami NPN, SOLP, IP, NDIP, ADIP, A, B1, B2, B3 a C. Výsledky těchto stanovení popisují rozdílné zastoupení těchto frakcí v různých krmivech.

- Byl potvrzen vliv ($P < 0,05$) acido detergentní vlákniny a hrubé vlákniny na obsah dusíkatých látek a na jednotlivé frakce dusíkatých látek (NPN, IP, SOLP, ADIP, NDIP).
- Jednotlivé frakce dusíkatých látek byly ve významném korelačním vztahu ($P < 0,05$) s obsahem dusíkatých látek, tuku, acido detergentního ligninu a hrubé vlákniny.
- Mezi sledovanými krmivy byly zjištěny pro konkrétní frakce dusíkatých látek statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$). Nejpatrnější rozdíl ($P < 0,05$) byl prokázán u lupiny úzkolisté; odchylka lupiny úzkolisté oproti ostatním krmivům byla zaznamenána pro frakce A, B1, B2 a B3 a nebyla potvrzena pouze pro frakci C.
- Mezi pastervními porosty, které se lišily ve vegetační fázi jejich odběru, byl zaznamenán též rozdíl ($P < 0,05$) v jednotlivých frakcích dusíkatých látek.

7. Souhrn

Pro diplomovou práci byly použity vzorky ($n = 8$) objemné píce a lupiny. Odebrané vzorky byly usušeny, semlety a poté rozborovány na obsah základních živin (dusíkaté látky, tuk, hrubá vláknina, popel, neutrálně detergentní vláknina (NDF), acido detergentní vláknina (ADF), acido detergentní lignin (ADL)) a dále byla stanovena brutto energie krmiva (spalné teplo) v kalorimetrické bombě. U zvoleného souboru krmiv byl průměrný obsah dusíkatých látek $183,1 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny, tuku $26,8 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny, hrubé vlákniny $262,3 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny, neutrálně detergentní vlákniny $571,6 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny, acido detergentní vlákniny $315,5 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny, acido detergentního ligninu $54,4 \text{ g.kg}^{-1}$ sušiny a brutto energie $19,8 \text{ MJ.kg}^{-1}$ sušiny.

Následovalo stanovení jednotlivých frakcí dusíkatých látek podle metodického postupu Licitry a kol. (1996). Za tímto účelem byly zvoleny následující laboratorní metody: (1) stanovení nebílkovinného dusíku (NPN), (2) stanovení rozpustného dusíku a bílkovin, (3) stanovení dusíku nerozpustného v kyselém detergentu (ADIP) a (4) stanovení dusíku nerozpustného v neutrálním detergentu (NDIP) s využitím přístroje Fibertec. Výsledkem bylo stanovení obsahu NPN, IP (nerozpustný dusík), SOLP (rozpustný dusík), ADIP (dusík nerozpustný v kyselém detergentu) a NDIP (dusík nerozpustný v neutrálním detergentu). Poté byly pomocí získaných hodnot (NPN, IP, SOLP, ADIP a NDIP) vypočteny konkrétní frakce dusíkatých látek pomocí rovnic podle Ghoorchihho a Arbabiho (2010). Tímto postupem byly získány frakce A (nebílkovinný dusík vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B1 (rychle rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B2 (středně rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek), B3 (pomalu rozložitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek) a C (vázaný tj. nestravitelný protein vyjádřený v procentech dusíkatých látek). Rozpětí získaných hodnot bylo od 2,5 do 51,2 % NL u frakce A, od 13,4 do 20,7 % NL u frakce B1, od 0 do 19,9 % NL u frakce B2, od 5,5 do 51,9 % NL u frakce B3 a od 10,1 do 32,4 % NL u frakce C.

Získané výsledky byly statisticky zpracovány. Mezi jednotlivými proměnnými byl vyhodnocen korelační vztah a dále byl proveden test statisticky významných rozdílů mezi sledovanými krmivy. Obsah hrubé vlákniny a acido

detergentní vlákniny měl významný vliv ($P < 0,05$) na stanovení NPN, IP, SOLP, ADIP a NDIP. Mezi sledovanými krmivy byly zjištěny pro konkrétní frakce dusíkatých látek statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$). Nejpatrnější byl rozdíl ($P < 0,05$) frakcí A, B1, B2 a B3 u lupiny úzkolisté.

8. Summary

Data set of lupine and forage samples ($n = 8$) was used for this study. The samples were dried, milled and then analysed for individual nutrients (crude protein, fat, crude fiber, ash, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL)) and gross energy value determined in the calorimetric bomb. Averaged values of the selected feeds were for crude protein 183.1 g.kg^{-1} of dry matter, ether extract 26.8 g.kg^{-1} of dry matter, crude fiber 262.3 g.kg^{-1} of dry matter, neutral detergent fiber 571.6 g.kg^{-1} of dry matter, acid detergent fiber 315.5 g.kg^{-1} of dry matter, acid detergent lignin 54.4 g.kg^{-1} of dry matter and gross energy 19.8 MJ.kg^{-1} of dry matter.

Followed by determination of the nitrogen fractions according to Licitra et al. (1996). For this purpose were used following laboratory methods: (1) determination of non-protein nitrogen (NPN), (2) determination of soluble nitrogen and protein, (3) determination of nitrogen insoluble in acid detergent (ADIP) and (4) determination of nitrogen insoluble in neutral detergent (NDIP). From these methods were obtained results of NPN, IP (insoluble nitrogen), SOLP (soluble nitrogen), ADIP (nitrogen insoluble in acid detergent) and NDIP (insoluble nitrogen in neutral detergent). These values (NPN, IP, SOLP, ADIP and NDIP) were used for calculation of nitrogen fractions according to Ghoorchi and Arbabi (2010), i.e. fraction A (non-protein nitrogen expressed as a percentage of crude protein), fraction B1 (rapidly degradable protein expressed as a percentage of crude protein), fraction B2 (intermediately degradable protein expressed as a percentage of crude protein), fraction B3 (slowly degradable protein expressed as a percentage of crude protein) and fraction C (bound protein expressed in percentage of crude protein). The obtained values ranged from 2.5 to 51.2 % of crude protein for fraction A, from 13.4 to 20.7 % of crude protein for fraction B1, from 0 to 19.9 % of crude protein for fraction B2, from 5.5 to 51.9 % of crude protein for fraction B3 and from 10.1 to 32.4 % of crude protein for fraction C.

The results were statistically processed. Among the individual variables was evaluated correlation relationship and treatment means of the estimated feeds were compared by the Scheffé test at $P < 0.05$. The content of crude fiber and acid detergent fiber had a significant effect ($P < 0.05$) for determination of the NPN, IP,

SOLP, ADIP and NDIP. Statistically significant differences ($P < 0.05$) among feeds have been found for individual nitrogen fractions. Contrary to other feeds there were declared significant differences ($P < 0.05$) for nitrogen fractions (A, B1, B2 and B3) of estimated lupine.

9. Seznam literatury

1. AOAC. Official Methods of Analysis, AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, USA. 2005.
2. Bečvářová, I. Klinické vyšetření nutričního stavu koně. *Veterinářství*. 2010. 10, 575–582 s.
3. Coblenz, W.K., Fritz, J.O., Fick, W.H., Cochran, R.C., Shirley, J.E. *In situ* dry matter, nitrogen, and fiber degradation of alfalfa, red clover, and eastern gamagrass at four maturities. *Journal of Dairy science*. 1998. 81, 150–161 s.
4. *Cornell University Department of Animal Science: Cornell Net Carbohydrate and Protein System* [online]. [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: <http://www.cncps.cornell.edu/>
5. Čermák, B., Kodeš, A., Mudřík, Z., Lád, F. *Výživa a krmení hospodářských zvířat II. díl*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 1994. 202 s.
6. Elizalde, J.C., Merchen, N.R., Faulkner, D.B. *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *Journal of Dairy science*. 82, 1978–1990 s.
7. Fox D.G., Tedeschi L. O., Tylutki T. P., Russell J. B., Van Amburgh M.E. The cornell net carbohydrate and protein systém model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science Technology*. 2004. 112, 29–78 s.
8. Ghoorchi, T., Arabi, A. Study of Protein Characteristic of Five Feeds by CNCPS Model. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010. 5, 584–591 s.
9. Grau, J., Steinbach, G., Váňa, J. *Trávy - lipnicovité, šáchorovité, sítinovité a rostliny podobné travám Evropy*. Praha: Knižní klub Ikar. 1998. 287 s.
10. Härtlová, H., Fučíková, A., Zedníková, M., Chmelíková, E., Krejčí, M., Čtrnáctá, A., Škopek, J., Matěchová, L., Vacková, K. *Fyziologie a hygiena výživy a alimentární onemocnění hospodářských zvířat*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. 2009. 212 s.

11. Homolka, P., Kudrna, V. *Uplatnění lupiny ve výživě přežvýkavců*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. 2007. 43 s.
12. Homolka, P., Tománková, O., Komprda, T., Frydrych, Z. *Hodnocení dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce podle systému PDI*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací. 1996. 36 s.
13. Jančík, F., Koukolová, V., Kubelková, P., Čermák, B. Effect of grass species on ruminal degradability of silages and prediction of dry matter effective degradability. *Czech Journal of Animal science*. 2009. 54, 315–323 s.
14. Jelínek, P., Koudela, K., Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., Kovářů, F., Kroupová, V., Kučera, M., Kudláč, E., Trávníček, J. Valent, M. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 2003. 414 s.
15. Kacerovský, O., Mudřík, Z., Vencl, B. *Výživa a krmení hospodářských zvířat - 1. díl*. Praha: Vysoká škola zemědělská Praha. 1989. 165 s.
16. Klouda, P. *Základy biochemie*. Ostrava: Pavel Klouda. 2005. 144 s.
17. Kodíček, M., *Biochemické pojmy: výkladový slovník*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2004. 171 s.
18. Kopřiva, A., Barančic, F., Doležal, P., Dudáš, F., Prudil, S., Příkryl, J., Štencl, J., Zeman, L. *Konzervace, skladování a úpravy krmiv*. Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně. 1992. 105 s.
19. Koukolová, V., Homolka, P., Koukol, O., Jančík, F. Nutritive value of *Trifolium pretense* L. for ruminants estimated from *in situ* ruminal degradation of neutral detergent fibre and *in vivo* digestibility of organic matter and energy. *Czech Journal of Animal science*. 2010. 55, 372–381 s.
20. Kudrna V., Čermák B., Doležal O., Frydrych Z., Hermann H., Homolka P., Illek J., Loučka R., Machačová E., Martínek V., Mikyska F., Mrkvička J., Mudřík Z., Pindík J., Poděbradský Z., Pulkrábek J., Skřivanová V., Šantrůček J., Šimek M., Veselá M., Vrzal J., Zelenka J., Zemanová D. *Produkce krmiv a výživa skotu*. Praha: Agrospoj. 1998. 362 s.

21. Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*. 1996. 57, 347–358 s.
22. Mudřík, Z., Doležal, P., Koukal, P. *Základy moderní výživy skotu*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. 2006. 270 s.
23. Navrátil, P. Hodnocení kvality proteinu v bílkovinných silážích aneb Není protein jako protein. *Náš chov*. 2010. 4, 52–54 s.
24. *Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat: Oborová norma*. Praha: Úřad pro normalizaci a měření. 1983, 68 s.
25. Písaříková, B., Peterka, J., Trčková, M., Moudrý, J., Zralý, Z., Herzig, I. The content of insoluble fibre and crude protein value of the aboveground biomass of *Amaranthus cruentus* and *A. Hypochondriacus*. *Czech Journal of Animal science*. 2007. 52, 348–353 s.
26. Pozdíšek, J., Vaculová, K. Study of wheat (*Triticum aestivum* L.) quality for feeding ruminants using *in vitro* and *in vivo* methods. *Czech Journal of Animal science*. 2008. 53, 253–264 s.
27. Reece, W. O. *Fyziologie domácích zvířat*. Praha: Grada Publishing. 1998. 456 s.
28. Richter, M., Třináctý, J. *Použití systému NRC 2001 v oblasti hodnocení proteinu krmiv pro dojnice*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín s.r.o. 2009. 34 s.
29. Rinne, M., S Jaakkola a Huhtanen P. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 2. Cell wall digestibility, digestion and passage kinetice. *Animal Feed Science Technology*. 1997. 67, 1–17 s.
30. Scott, T., Eagleson, M. *Concise encyclopedia biochemistry*. Berlin: Walter de Gruyter. 1988. 469 s.
31. Sniffen, C. J., Conner, J. D., Van Soest, P. J., Fox, D. G., Russell, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. *Journal of Dairy Science*. 1992. 70, 3562–3577 s

32. Statistical Analysis Systems Inc. SAS; Statistic's Version 9.1 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 2003.
33. Tománková O., Homolka P. Predikce střevní stravitelnosti dusíkatých látek nedegradovaných v bachoru enzymatickou metodou. *Czech Journal Snímal Science*. 1995. 40, 171–175 s.
34. Třináctý, J., Richter, M., Křížová, L. *Hodnocení energie krmiv pro dojnice dle NRC (2001)*. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín s.r.o. 2009. 42 s.
35. Třináctý, J., Richter, M., Pozdíšek, J. Hodnocení degradovatelnosti proteinu u krmiv pro skot. *Krmivářství*. 2004. 5, 5–8 s.
36. Tyleček, J., Doležal, P., Kopřiva, A., Procházková, J., Veselý, P., Zedník, M., Zeman, L. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně. 1992. 179 s.
37. Tyrolová, Y., Výborná, A. Effect of the stage of maturity on the leaf percentage of lucerne and the effect of additives on silage characteristics. *Czech Journal of Animal science*. 2008. 53, 330–335 s.
38. Van Saun J. R., Koukal P. Metabolizovatelný protein ve výživě dojnic. *Náš chov*. 2004. 8, 37–42 s.
39. Van Soest P. J. *Nutritional Ecology of The Ruminant*. Cornell University Press. 1994. 476 s.
40. Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 1991. 74, 3583–3597 s.
41. Velíšek, J. *Chemie potravin. [Díl] 1*. Tábor: OSSIS. 2002. 331 s.
42. Velíšek, J. *Chemie potravin. [Díl] 2*. Tábor: OSSIS. 2002. 303 s.
43. Velíšek, J. *Chemie potravin. [Díl] 3*. Tábor: OSSIS. 2002. 342 s.
44. Vencl, B., Frydrych, Z., Krása, A., Pospíšil, R., Pozdíšek, J., Sommer, A., Šimek, M., Zeman, L. *Nové systémy hodnocení krmiv pro skot*. Praha: Agrodat, a.s. 1991. 134 s.
45. Vodrážka, Z. *Biochemie*. Praha: Academia. 2002. 192 s.

46. Zahrádková, R., Bartoň, L., Brychta, J., Bureš, D., Doležal, P., Illek, J., Kaplanová, K., Kvapilík, J., Rozsypal, R., Skládanka, J., Slavík, J., Stehlík, L., Stejskalová, E., Stěhulová, I., Šárová, R., Šeba, K., Špínka, M., Teslík, V., Veselá, Z., Vostrý, L., Zeman, L., Žďárský, P. *MASNÝ SKOT od A do Z*. Praha: Český svaz chovatelů masného skotu. 2009. 432 s.
47. Zelenka, J., Kopřiva, A., Zeman, L. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 54 s.
48. Zeman L., Doležal P., Kopřiva A., Mrkvicová E., Procházková J., Ryant P., Skládanka J., Straková E., Suchý P., Veselý P., Zelenka J. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Praha: Profi Press, s.r.o. 2006. 360 s.
49. Zeman, L., Skřivánek, M. *Využití tuku ve výživě přežvýkavců*. Sborník mezinárodní vědecké konference „Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců“. Opava: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně. 1999. 136 s.

10. Obrazová příloha

Příloha 1: Navažování vzorků pro analýzy.



(Foto: Vendulka Sobotková)

Příloha 2: Příprava vzorků pro stanovení rozpustného dusíku a bílkovin pomocí borato-fosforečnanového pufru a roztoku azidu sodného.



(Foto: Vendulka Sobotková)

Příloha 3.: Filtrační aparatura.



(Foto: Vendulka Sobotková)

Příloha 4: Blok s připravenými vzorky na mineralizaci a následnou destilaci v analyzátoru 2400 Kjeltec.



(Foto: Vendulka Sobotková)

Příloha 5: Analyzátor 2400 Kjeltec pro stanovení zbytkového dusíku.



(Foto: Vendulka Sobotková)

Příloha 6: Fibertec, přístroj ke stanovení acido detergentní vlákniny, neutrálně detergentní vlákniny a nesacharidového ligninu.



(Foto: Marie Koukolová)