

Ministerstvo zemědělství ČR - Vědecký výbor pro výživu zvířat

Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha-Uhřetěves

NOVÉ A POTENCIÁLNÍ DOPLŇKOVÉ LÁTKY DO KRMIV
PŘÍRODNÍHO PŮVODU

Lubomír Opletal

Miroslav Šimerda

Hradec Králové, Šumperk – květen 2005

OBSAH

1	ÚVOD	2
2	SKUPINY PERSPEKTIVNÍCH LÁTEK	5
3	PRIMÁRNÍ METABOLITY A LÁTKY S NIMI SOUVISEJÍCÍ	7
3.1	Makroelementy a stopové prvky	7
3.2	Sacharidy (mono- až oligosacharidy)	9
3.3	Polysacharidy různého typu	10
3.4	Aminokyseliny, jejich deriváty a dusíkaté látky	12
3.4.1	Aminokyseliny a jejich deriváty	12
3.4.2	Další dusíkaté látky	15
3.5	Různé typy proteinů neenzymového charakteru	16
3.6	Enzymy	19
3.7	Mastné kyseliny a jejich deriváty	20
3.8	Fosfolipidy	23
3.9	Vitaminy a vitageny	24
3.9.1	Vitaminy	24
3.9.2	Vitageny	27
3.10	Báze nukleových kyselin, nukleosidy, nukleové kyseliny a jejich fragmenty	28
4	SEKUNDÁRNÍ METABOLITY	28
4.1	Organické kyseliny a alkoholy	28
4.2	Fenolické látky	31
4.3	Terpeny	33
4.3.1	Mono- a seskviterpeny	33
4.3.2	Steroidy	35
4.3.3	Triterpeny	35
4.3.4	Karotenoidy	36
5	MIKROBIÁLNÍ PRODUKTY	37
6	ROSTLINY	38
7	ZÁVĚR	41
8	LITERATURA	42

1. ÚVOD

Doplňkové látky v krmivech (profánně označované jako krmná aditiva) jsou fenoménem, který je v posledních pěti letech stále více probírán a vyvolává řadu diskusí. Problém je však složitější než se na první pohled může zdát, jeho řešení je pozvolným a plastickým procesem, protože západní Evropa nehledá snadná řešení na složité procesy. Používání doplňkových látek v krmivech může mít velmi zásadní vliv na bezpečnost krmivového a nakonec potravního řetězce: exekutiva EU má v oblasti zemědělské politiky potřebu vytvořit jednotný systém, který by zahrnoval pozitivní seznam použitelných krmivářských surovin, aby nebyla ohrožena bezpečnost obou řetězců v nejširším slova smyslu. Tím dochází samozřejmě k potlačení národních specifik, která dříve umožňovala používání určitých aditiv na teritoriu své země a tento postup pokládala za bezproblémový. Lze rozumět nesouhlasu některých západoevropských agrárních institucí v oblasti velmi striktního dohledu nad používáním doplňkových látek do krmiv, které prezentují názor, že je to vlastně důsledek otevírání trhu nedokonalým a kontaminovaným výrobkům z východoevropských a dalších zemí, jejichž legislativa není směrem k EU ještě zcela naplněna. Nutno ale říci, že je to omyl: největší aféry s kontaminací masa rezidui beta-blokátorů, používání nevhodné proteinové stravy při výkrmu kuřat, velmi ohrožující stav v oblasti produkce masokostních mouček, aj. pochází právě z těchto vyspělých zemí. Zohledňovat proto v současnosti národní specifika by tedy mohlo být možné, ovšem na velmi střízlivé úrovni, jinak se velmi rychle vytvoří importní a exportní bariéry a bude ohrožena produkce zemědělských výrobků, resp. ekonomika. Bylo by pochopitelně naivní žít v představě, že schvalování a používání doplňkových látek v krmivech je z hlediska příslušných orgánů EU záležitostí jen odbornou, je to vždy záležitost odrážející také určité politické poměry a snahy. Tento problém je možné do značné míry odstranit operativním schválením tolika doplňkových látek, které by byly bezpečné a v dostatečné míře kryly požadavky producentů jak užitkových zvířat, tak producentů krmných směsí. *Směrnice Rady 70/524/EEC z 23. listopadu 1970 zahrnující použití aditiv do krmiv* v tomto znění pozbyla platnosti a byla nahrazena Nařízeními Komise nebo Směrnicemi Rady, což bylo do současnosti realizováno více než padesáti různými dokumenty se závazně určenými daty přijetí jednotlivých členských zemí. Původní směrnice definovala použití antibiotik, protiinvazních chemoterapeutik, karotenoidů, různých polysacharidů, stopových a biogenních prvků a vitamínů. Od té doby se v souvislosti s vědecko-technickým pokrokem vyskytla řada nových poznatků, které si zaslouží zavedení do praxe a nutno říci, že tyto poznatky jsou do nařízení nebo směrnic zaváděny jen v nejnútnejší míře. Např. období použití antibiotických

stimulátorů růstu je v Evropě u konce; poslední čtyři látky určené pro toto použití (avilamycin, flavofosfolipol, monensin a salinomycin) budou od r. 2006 z použití eliminovány. Za účelem užívání nových alternativ vůči antibiotickým stimulátorům má být v EU vypracovaná nová legislativa, která se má týkat potravin, krmiv a krmných aditiv. V souvislosti s připravovaným zákazem zbývajících antibiotických stimulátorů se výrobci připravují na obchodování s přirozenými krmnými aditivami a soustřeďují údaje o jejich vlivu na kvalitu a bezpečnost krmiv a potravin. Do této nové vlny doplňkových látek patří rostliny, koření, silice a rostlinné oleje, extrakty a směsi přirozených látek z ovoce, zeleniny, dále morfoloogických orgánů různých rostlin, které dosud nepatří mezi tradiční léčivé rostliny ani potravinářské suroviny a přirozené produkty pro další zpracování (např. fermentaci). Tyto doplňkové látky si získávají velkou oblibu a rozebíhá se intenzivní snaha prosadit jejich schválení. Možnosti použití přírodních látek se už otevírají: např. jednou z alternativ vůči antibiotickým krmným přísadám jsou silice, které patří do skupiny fyto-genických krmných přísad. Tyto rostlinné metabolity mají řadu kladných vlastností a potenciál pro zlepšení trávení a zdraví zvířat. Zvyšují kvalitu a množství přijatého krmiva v důsledku zlepšených sensorických vlastností a do určité míry i ochrany krmiva. Vzhledem k tomu, že jsou přírodního původu a jejich vlivem se nevytváří rezistence vůči antibiotikům jsou to látky nízkomolekulární je jejich aplikace v souladu s požadavky spotřebitelů. Jestliže se účinek silic osvědčí široce v praktických podmínkách, bude možné ekonomickým a přijatelným způsobem zajistit bezpečnost krmiv, optimální trávení a zdraví zvířat i spotřebitelů. Nejedná se však jen o látky rostlinného původu: některé metabolity hub oddělení Eumycota (stejně tak jako některé deriváty sacharidů připravované nejen synteticky, ale také biotechnologicky) splňují výše uvedené podmínky. Výsledky výzkumu v oblasti přírodních látek přinášejí možnosti uplatnění i v jiných oblastech, které dříve nebyly známy, např. jako antioxidanty bránící rozvoji oxidačního stresu, zánětlivým onemocněním skeletu a vnitřních orgánů, snižující nepříznivý vliv stresových faktorů uplatňujících se při ustájení ve velkochovech, chemoprotektiva, látky zvyšující příjem krmiva a zejména využitelnost krmné dávky, zlepšující užitek zvířat s možností příznivě zasáhnout také do reprodukce.

Pro zdravý vývoj evropské populace (a je to pochopitelně záležitost celosvětová, nejen evropská) je velmi příznivé sepjetí přísných požadavků na kvalitu krmiva a potravin od invenčního záměru přes výrobu až po analytickou kontrolu. Bez kvalitního a čistého krmiva nemohou být kvalitní a čisté potraviny a nemohou být odstraněna zdravotní rizika včetně rizik genotoxických. Je nutné akceptovat fakt, že tato záležitost bude finančně náročná a spotřebitel nebude mít jinou možnost než ji přijmout.

Nová legislativa EU pro doplňkové látky v krmivech souvisí nejen s konečnou fází vyloučení antibiotik z výživy zvířat, ale má za úkol zaručit, aby ve výživě zvířat byla použita jen aditiva s ověřenou bezpečností a účinností. Od října 2004 mohou přijít na trh jen takové aditivní látky, které prošly novým procesem výroby a kontroly. Doplňkové látky do krmiv budou nově přerozděleny do 7 skupin; v této studii se budeme věnovat především zootechnickým aditivům, která jsou z hlediska perspektivních přírodních látek nejčtenější a v mnoha ohledech nová. Nutričním doplňkovým látkám z hlediska vitamínů, provitaminů, biogenních a stopových prvků se budeme věnovat jen tehdy, jsou-li v literatuře popisovány nové formy transportních sloučenin, zajišťujících vyšší biologickou dostupnost vlastních účinných látek. Technické a senzorické doplňkové látky přírodního původu prakticky nepřicházejí v úvahu. Látkám přírodního původu, ovlivňujícím invazní agens (antimikrobiálním a antiprotozoálním látkám) bude věnována pozornost v jedné z následujících studií.

Hradec Králové, Šumperk, květen 2005

Autoři

2. SKUPINY PERSPEKTIVNÍCH LÁTEK

Studie má charakter overview, protože šíře komentovaná studie by byla výrazně rozsáhlá; studium literatury zahrnuje v převážné míře horizont posledních deseti let; pokud se však vyskytly zajímavé a využitelné práce, jsou v přehledu také uvedeny. V tomto horizontu se objevilo velké množství různorodých studií; autoři z nich vybrali jen takové, které se zdají být perspektivní ať už z hlediska výskytu v literatuře nebo z hlediska praktické použitelnosti. Látky a další produkty uváděné v této studii nejsou v některých případech také jen látkami z hlediska potenciálního použití zcela novými, ale jejich uvedení se řídilo níže uvedenými hledisky.

Jedná se o produkty:

- a) chemicky jednotné (syntetizované totálně nebo parciálně, izolované z přírodního materiálů různého typu-mikroorganismů, nižších a vyšších rostlin, živočichů),
- b) chemicky nejednotné (sumární směsi-extrakty, části tkání atd.).

Byly vybrány:

- a) studie, které mají především patentový charakter, s obsahem inspirativních prací,
- b) látky nebo produkty, které jsou už schváleny jako doplňkové látky, byly však nalezeny nové skutečnosti, které významně zlepšují jejich biologickou dostupnost a využití tkáněmi (makroelementy a stopové prvky), nebo zvyšují významně jejich stabilitu v procesu výroby krmných směsí, v průběhu skladování těchto výrobků (některé vitamíny),
- c) nové druhy enzymů, které nejsou dosud používány, anebo používány jsou, liší se však významně svojí aktivitou, případně způsobem výroby anebo nabízejí nové možnosti využití v živočišné výrobě v kombinaci s dalšími látkami, což nebylo dříve známo; do tohoto přehledu však nejsou zahrnuty fytázy, protože se jedná o poměrně rozsáhlé téma, kterému byla věnována dostatečná pozornost v jedné z předcházejících studií,
- d) přípravky, které se v komerční formě objevily v nedávné době na trhu.

Do studie nebyly zahrnuty:

- a) separátně používané běžné enzymy, které jsou komerčně distribuovány,
- b) práce, které hovoří sice o nových faktech, jsou však diskutabilní a vyžadovaly by určitou metaanalýzu – srovnání s dosud známými výsledky,
- c) zeolity a další anorganické látky, používané k sorpci toxických produktů mikromycet

V textu jsou rozebrány následující skupiny látek (produktů):

A. primární metabolity (především rostlin) a látky s nimi související:

- makroelementy a stopové prvky
- sacharidy (mono- a oligosacharidy)
- polysacharidy
- různé typy proteinů neenzymového charakteru
- enzymy
- aminokyseliny a jejich deriváty
- cholin a L-karnitin
- mastné kyseliny a jejich estery
- fosfolipidy
- vitamíny a vitageny
- nukleové kyseliny, jejich fragmenty, nukleosidy, nukleové báze

B. Sekundární metabolity rostlin

- organické kyseliny a alkoholy
- fenoly
- terpeny
- karoteny

C. Biologický materiál

- synbiotika
- rostliny

3. PRIMÁRNÍ METABOLITY A LÁTKY S NIMI SOUVISEJÍCÍ

3.1 Makroelementy a stopové prvky

Z běžných kationtů je věnován velký zájem zvýšené biologické dostupnosti vápníku, hořčíku, zinku, z aniontů fosfátu. Jako zajímavé se ukázalo použití polyakrylátu vápenatého¹ a příprava tzv. ve vodě rozpustného uhličitanu vápenatého ze tkání sěpie. Je přidáván extrakt z netýkavky (*Impatiens balsamina*), který má silnou proteolytickou aktivitu a solubilizuje uhličitan vápenatý z chrupavky hlavonožce. Přípravek je velmi vhodný při chovu ryb². Bylo také zjištěno, že solubilizace (a tím sorpce) vápenatých iontů se zlepšuje převedením iontu do komplexu s trehalózou nebo maltitolem (platí to i o řadě dalších kovových iontů)³. Divalentní a trivalentní kationty (kromě vápenatých a hořečnatých hlavně zinečnaté, hlinité a železnaté) vytvářejí s kyselinou fosforečnou a některými aminokyselinami polyvalentní komplexy s vysokou biologickou dostupností, vhodné zejména pro přežvýkavce. Jsou bezpečné, nerozkládají se ruminálními mikroorganismy a jsou v zažívacím ústrojí efektivně adsorbovány. Tyto látky jsou vhodné nejenom jako doplňkové látky do krmiv, ale mohou být použity také jako součást veterinárních léčivých přípravků⁴. Sorpci vápníku také zvyšuje přírůstek di-D-fruktofuranosa-2,6':6,2'-dianhydridu (tzv. difruktosa-dianhydrid IV); vápník může být aplikován v takovém případě ve formě uhličitanu vápenatého⁵. Ke zvýšené metabolické využitelnosti vápenatých iontů může dojít také při současné aplikaci řady dalších látek, jako jsou lysin, methionin, sušené plody hlohu, sušené oplodí pomerančů, huminová kyselina a mikroelementy. Přípravek je velmi účinný jako doplňková směs urychlující růst prasat⁶.

Aplikace hořčíku je velmi důležitá – pozitivně se uplatňuje při zvyšování kvality masa⁷. Sorpce vápníku je vázána přítomností hořčíku - tento fakt je z humánní praxe znám už řadu let, proto je velmi žádoucí přidávat hořčík k vápníkovým přípravkům: byl navržen směsný přípravek jako aditivum do krmných směsí i napájecí vody pro nosnice; výsledkem jsou vejce se zvýšeným obsahem hořčíku a vápníku⁸. Hořčík je přidáván do krmných směsí v různých formách, většinou ve formě bazického uhličitanu hořečnatého, nebo laciného dolomitu. Nemalé množství Mg^{2+} však zůstává nevyužito; zdá se, že ideální solí je monoaspartát hořečnatý, velmi dobře rozpustný ve vodě, solvatační energie aspartátového aniontu je relativně nízká (nedochází k zadržení vody v GIT, tak jako při aplikaci síranu hořečnatého) a biologická dostupnost je vysoká. Může být použit prakticky u všech živočichů⁹.

Velmi důležitým kationtem je Zn^{2+} ; jeho biologická dostupnost je většinou nízká a jeho obsah v exkrementech díky tomu vysoký, což přináší významné ekologické problémy.

Patrně nejběžnějšími formami zinku jsou oxid zinečnatý a heptahydrát síranu zinečnatého. Ačkoliv má $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ poměrně výrazné adstringentní účinky, je jako doplňková látka používán. Ukázalo se, že jak tato forma, tak zinek ve formě organických solí jsou-li podávány ve směsi s mikrobiálními fytázami, dochází ke zvýšení sorpce zinku prakticky o 100 % oproti případu, kdy fytázy nebyly přidány. Směs fytáz a zinečnatých solí také modifikuje využití vápníku, fosforu, hořčíku, železa a mědi u selat¹⁰. Soli zinku ve směsi s chitosanem, estery monoglyceridů z rostlinných olejů a dalšími lipofilními látkami mohou sloužit jako regulátor fyziologických intestinálních procesů a jako prevence průjmů u hospodářských zvířat¹¹. Kombinaci zinku a linolové kyseliny zvyšuje fyziologickou stabilitu kůže a její ochranné vrstvy¹². V poslední době se začínají uplatňovat také organické soli, jako je propionat¹³, sukcinat¹⁴, nebo ve formě chelátů s některými organickými kyselinami¹⁵. Jako použitelná forma zinku se také ukázal komplex s methioninem, pro který byla vypracována technologie přípravy, např.¹⁶.

Stopové prvky hrají velmi významnou roli ve výživě zvířat; jejich aplikace však nesmí být nadbytečná a je žádoucí, aby mikroelementy byly dobře dostupné, nejlépe ve formě organických solí¹⁷. Nejen bivalentní, ale i vícevalentní ionty (vanad, molybden, železo, chrom) jsou doporučovány ve formě chelátů s hydroxyanalogem methioninu¹⁸. Efektivní se jeví také použití komplexů s α -aminodikarboxylovými kyselinami¹⁹.

Velkou pozornost je nutné věnovat selenu; často je podáván ve formě selenanů nebo seleničitanů, tato forma však není nejlepší. Biologická dostupnost z těchto solí bývá nejnižší ze všech používaných forem – surovina je však nejlacinější. Selen lze podávat velmi výhodně ve formě metal-L-seleno- α -aminokyselinových solí s dobrou rozpustností a dobrou biologickou dostupností²⁰. Standardně je doporučitelné použití yeast-selenium preparátů²¹ (Cytoplex Se). Selen, současně kombinován s některými dalšími látkami, má velmi příznivé účinky, např. imunostimulační (kolostrum+syrovátkové proteiny) – zvyšuje hladinu glutathionu v savčím organizmu²², nebo detoxikační (vitamin A+vitamin E) – působí u nosnic preventivně proti některým typům kanceróz indukovaných současným přísunem arzenu, rtuti nebo kadmia²³.

Nezanedbatelná pozornost je v literatuře věnována chromu, ačkoliv je jako doplňková látka do krmiva zvířat v EU zakázán (v případě doplňků stravy je povolen); jeho případný nadbytek se nemusí na první pohled výrazně projevit, může však vyvolat genotoxicitu, kancerózy v GIT a zvýšit urinární exkreci tohoto prvku. Nejškodlivěji se projevuje bichromat. Zcela kuriózně se používá ve formě nanočástic (CrNano), vykazuje velmi dobré parametry u jatečního vepřového masa²⁴. Podstatně běžnější je však doporučení aplikovat jej ve formě

organických solí yeast-chromium (Cytoplex Cr)²⁵ podobně jako v případě selenu, častěji však v humánní praxi dobře prověřeného pikolinátu²⁶, propionátu²⁷, nověji v komplexu s α -aminokyselinami²⁸.

Chromu blízkým prvkem se stává v poslední době vanad; stejně jako chrom (GTF) zvyšuje využitelnost glukózy živočišnou buňkou bez zvýšených nároků na inzulin. Existuje názor, že je méně toxický než chrom, prozatím se k tomuto tvrzení však lze jen obtížně vyjádřit. Jisté však je, že je možné jej aplikovat ve vyšších dávkách. Jako efektivní se zdá aplikace sušených řas rodu *Spirulina*, které byly kultivovány v médiu s rozpustnými solemi vanadu²⁹.

Atraktivním prvkem se stal v posledních šesti letech bor; v humánní praxi se používá jako elicitor testosteronu a element ovlivňující metabolismus osteocytů (působení proti osteoporóze). Bor se v současné době doporučuje ve formě komplexů se sacharidy a např. uhličitanem vápenatým (za tvorby kalcium fruktoboratu)³⁰.

Podobně atraktivním se stává germanium (IV); používá se ve formě seskvioxidů nebo jiných organických solí (bohužel, ne zcela netoxických). Ve formě komplexu s fytoovou kyselinou má nízkou toxicitu a širokou možnost využití³¹.

3.2 Sacharidy (mono- až oligosacharidy)

Z monosacharidů vykazala použitelný efekt laktulóza; u selat a prasat ve výkrmu má příznivý vliv na metabolismus ve střevech³². Je navržen přípravek s obsahem této látky pro zlepšení růstu bifidobakterií u prasat³³. Intenzivní množení zástupců rodu *Bifidobacterium*, etc. a současnou supresi růstu *Clostridium* sp. aj. patogenů, navozují xylooligosacharidy; jsou připravovány např. z odpadu při zpracování blahovičnicku xylanasou (*Bacillus* sp. 2113)³⁴. Prebiotické vlastnosti má také α -galaktosid z hrachu³⁵. Oligosacharidy, resp. produkty vzniklé hydrolyzou surovin s vysokým obsahem polysacharidů, mají příznivé účinky na žaludek a působí proti onemocněním GIT (zcela běžně se získávají hydrolyzou buněčných stěn *Saccharomyces cerevisiae*) – u prasat velmi významně inhibují adhezi *Escherichia coli* na mukózu střevní stěny³⁶. Tyto hydrolytické produkty mají sladkou chuť, jsou nestravitelné, příznivě ovlivňují růst střevních mikroorganismů (patogenní organizmy je nemohou pro svůj energetický metabolismus prakticky využít); zvyšují imunitu zvířat, odolnost vůči chorobám, zlepšují růst, konverzi krmiva, snižují mortalitu zvířat a zlepšují kvalitu živočišných produktů³⁷. Tyto vlastnosti se ve velké míře projevují u mannooligosacharidů: jako sloučeniny zvyšující imunitu jsou připravovány např. z dekofeinovaných kávových bobů³⁸. Jejich imunostimulační potenciál byl prokázán u masných brojlerů^{39,40}. Hydrolyzáty

mannosových polysacharidů (jedná se oligosacharidy, připravené hydrolyzou kopry) mají ve směsi s anorganickými nebo organickými kyselinami výrazný inhibiční vliv na infekci *Salmonella enteritidis*⁴¹. Jejich další výhodou je také sladká chuť⁴². Podobně působí např. u odstavených prasat některé celooligosacharidy: zlepšují růstové funkční charakteristiky⁴³.

Krmivářsky využitelné jsou také některé deriváty mono- a oligosacharidů. Je např. zajímavé, že výše zmiňovaný imunostimulační potenciál (telata Holstein) má také monosacharid D-glukosamin⁴⁴. Tato látka se v poslední době začíná velmi intenzivně uplatňovat při ovlivňování autoimunitních reakcí revmatoidního typu, k reparaci pojivové tkáně oběhového systému (spolu s chondroitin-sulfatem např. ve směsích pro domácí zvířata⁴⁵) a jako adjuvantní prostředek při ovlivňování demencí Alzheimerova typu, jedná se tedy o látku velmi perspektivní. Existují biotechnologické metody, umožňující přípravu látky v průmyslovém měřítku, např. hydrolyzou stěn chitinóznych tkání (zpracování fungální biomasy vzniklé jako průmyslový odpad)⁴⁶. Imunostimulační efekt mají také fosfooligosacharidy, využitelné nejen v živočišné výrobě, ale i v humánním sektoru. Fosforylovaný škrob nebo dextriny jsou levnější a méně alergizující alternativy konvenčních kasein-fosfopeptidů, využívaných k imunostimulaci⁴⁷. Nakonec stojí za zmínku, že směs solí fytové kyseliny a některých rostlinných extraktů (japonský cedr, japonský cypřiš, borovice, čajovník, někteří zástupci miříkovitých rostlin a japonských potravních hub) snižují nepříjemný zápach rozkládající se moči a feces hospodářských zvířat⁴⁸.

3.3 Polysacharidy různého typu

V posledních několika letech začíná vzrůstat zájem o použití chitosanu, resp. hydrolytických produktů vzniklých štěpením chitinu složeného z převážné míry molekulami N-acetyl-D-glukosaminu, který je základní stavební jednotkou těl hmyzu, garnátů a hub. U hub, zejména oddělení Eumycota, jsou struktury chitosanu provázány s architektonicky poměrně složitými molekulami rhamnogalaktanů aj. sacharidů. V přímořských zemích se také z garnátů vyrábí⁴⁹. Nutno říci, že vedle fosfolipidů se chitosanové produkty staly druhou velkou oblastí technologického výzkumu farmacie, protože tato látka má široce uplatnitelné vlastnosti. Po vyčištění chitinu oxidačními činidly a minerálními kyselinami se provádí částečná hydrolyza alkalickými louhy tak, aby se dosáhlo maximálně 8% acetylace aminových skupin D-glukosaminu. Vzniklý chitosan se podle standardních postupů dělí na frakce, charakterizované různými konvenčními hodnotami. Protože je bazický a disponuje určitou terciární strukturou, může fungovat (a v mnoha případech tomu tak je) jako iontoměnič. Tyto produkty mají velmi široké pole uplatnění⁵⁰. Velmi často jsou ve výživářských pokusech

používány směsi chitin+chitosan, nebo dokonce jen chitin: směsi jsou levné, dostupné a v příznivé kvalitě. Např. po aplikaci 1,5 % chitinu (Mol. hm. ~ 2 000 000) v krmivu se zvýšila absorpce vápníku u hlodavců o cca 11 % oproti kontrole⁵¹. Upravený vláknitý chitin ve směsi s dalšími doplňkovými látkami snižoval mortalitu narozených mláďat a měl imunostimulační efekt⁵², téměř současně se ukázalo, že působí jako aktivátor NK-buněk, stimuluje imunitní systém, snižuje hladinu cholesterolu a působí proti nadměrnému ukládání tuku v tkáních. Velmi podobně působí směs s chitosanem⁵³. Chitosanové deriváty mohou být výhodně požitý také jako matrix a obalový materiál pro jiné doplňkové látky uzpůsobené do tvaru mikro- a makročásteček, určené pro přežvýkavce⁵⁴. Zajímavé jsou oligosacharidy, vzniklé hydrolyzou chitosanu chlorofovodíkem při 70 °C: směs obsahuje D-glukosamin, chitobiosu až chitooktanosu a má schopnost snižovat hladinu sérového fosforu⁵⁵.

Významnými polysacharidy, které jsou intenzivně studovány se snahou prakticky je konečně využít jsou glukany, nejčastěji β -1,3-, β -1,4- a β -1,6. Každý z těchto typů může mít lineární nebo rozvětvené spojení jednotlivých cukerných jednotek (zejména jsou-li polysacharidy složitější struktury) a každý z těchto typů disponuje poněkud jinými biologickými účinky. Nejzajímavějšími jsou glukany s lineárním β -1,3-spojením. Mají výrazný imunostimulační účinek, často se jedná o hydrolytické produkty kurdlanu, použitelné u monogastričních živočichů^{56,57,58}. Imunostimulaci a plnoprodukční zdraví zvířat zlepšují také rozvětvené glukany typu β -1,3/ β -1,6, které mají příznivý vliv na růst hospodářských zvířat⁵⁹. β -1,3-glukany s dobrou biologickou dostupností (z ovsu) jsou součástí komplexních přípravků, v tomto případě se sorbovou kyselinou nebo sorbaty, které zlepšují růst a vývoj mladých prasat⁶⁰. Bohatým zdrojem těchto glukanů jsou pivovarské kvasnice (*Saccharomyces cerevisiae*). Kromě těchto glukanů obsahují kvasnice ještě další oligosacharidy (mananooligosacharidy), jak bylo uvedeno dříve; s fermentovanými rýžovými otrubami (jsou také zdrojem glukanů) jsou s dalšími komponentami složkou přídatné směsi, která má antistresový účinek, projevující se zejména na metabolismu brzlíku a štítné žlázy u zvířat⁶¹. β -D-glukany ze *Saccharomyces cerevisiae* mají také schopnost adsorbovat zealarenon⁶². Polysacharidové struktury z těchto kvasinek spolu s mravenčí a sorbovou kyselinou zasahují velmi příznivě do metabolismu selat, u nichž působí profylakticky proti průjmům⁶³.

Dalším, velmi důležitým polysacharidem, je inulin. Je označován jako fruktooligosacharid, není to však zcela přesné, protože jeho molekula obsahuje zpravidla více než 10 cukerných jednotek a můžeme jej tedy pro naše potřeby označovat jako polysacharid s krátkým řetězcem. Ve vysokém obsahu je přítomen v různých rostlinných, dobře

pěstovatelných zdrojích (listy agave, kořeny omanu, hlízy slunečnice topinamburu), nejběžnější je však z řepovitých kořenů čekanky (*Cichorium intybus* var. *sativum*). Nalézá stále významnější uplatnění v potravinářském sektoru jako látka působící preventivně proti kancerózám, zlepšuje sorpci některých minerálních látek (zejména vápníku a hořčíku), snižuje minerální resorpci kostí, zlepšuje jejich strukturu, moduluje metabolismus lipidů a stimuluje imunitu. Tyto vlastnosti jsou výborně využitelné při produkci hospodářských zvířat^{64,65}. Kořeny čekanky jsou velmi známé, snadno získatelné (v udržovacím šlechtění v Evropě jsou stále odrůdy použitelné k produkci kořenů pro kávovinovou náhražku), a proto byla s tímto materiálem konána řada pokusů. Speciální úpravou zahrnující tepelný zásah (pražení) byl získán suchý materiál s obsahem 18,7 % inulinu, 2,4 % sacharózy, 22,5 % fruktózy a 3,1 % glukózy⁶⁶. Toto je zároveň asi jeden z efektivních způsobů vedoucí k odstranění seskviterpenických laktonů výrazně hořké chuti, běžně metabolicky vznikajících v průběhu ontogeneze rostliny, které jsou však pro zvířata z chuťového hlediska poměrně nežádoucí.

Z polysacharidů jiného typu se uplatnily glukomannany z *Amorphophallus konjac*, které slouží spolu s montmorillonity pro adsorbci mykotoxinů z krmiva⁶⁷ a arabinoxylany z cereálií (ječmene), získatelné kyselou nebo enzymovou hydrolýzou, zlepšující růst zvířat a využitelnost krmné dávky⁶⁸. Enzymovou hydrolýzou některých cereálií (s vysokým obsahem škrobu) a ova za použití komerčních enzymů - α -amylasy (Fungamyl 800L) a β -amylasy (Spezyme BBA 1500) dochází ke zvýšení obsahu glukózy a β -glukanů. Vzniklý produkt má řadu příznivých vlastností na metabolismus a imunitu⁶⁹.

Z polysacharidů, které jsou poněkud neobvyklé ve smyslu frekvenčnosti jejich použití, je nutné jmenovat polydextrosu, která výrazně stimuluje imunitní systém⁷⁰. Je nepochybné, že použitelné jako imunostimulanty, resp. antivirotika budou také sulfáty N-acetylneuraminové kyseliny), které jsou aktivní vůči rotaviru⁷¹. Zajímavá je také kombinace β -cyklodextrin+jodpropan+L-jablečnan, která inhibuje ruminální mikrobiální produkci methanu u přežvýkavců a zlepšuje digestivní procesy⁷².

3.4 Aminokyseliny, jejich deriváty a dusíkaté látky

3.4.1 Aminokyseliny a jejich deriváty

Jednou z velmi studovaných látek z hlediska aminokyselin je v současnosti L-karnitin (3-karboxy-2-hydroxy-N,N,N-trimethyl-1-propanaminiumhydroxid, vnitřní sůl, účinná L-forma), který je v organismu syntetizován z lysinu a methioninu; jako látku tělu vlastní ji nelze pokládat za toxickou. Jeho hlavní funkcí je transport mastných kyselin mitochondriální

membránou a jejich vstoupení do cyklu β -oxidace. Volný karnitin reaguje s acylCoA za vzniku acylkarnitinu a volného CoA. Při vysoce anaerobním způsobu tvorby energie (hypoxie, lokální ischemie) může volný karnitin řídit poměr volný CoA/acylovaný CoA a to tak, že stále zůstává k dispozici dostatečné množství volného CoA k zachování funkce dýchacího řetězce a k vybavování energie v mitochondriích myokardu a příčně pruhovaného svalstva. Látka podporuje normální růst a vývoj organismu, působí preventivně proti vývoji některých kardiovaskulárních onemocnění (hyperlipidemií), chrání příčně pruhovanou svalovinu proti vlivu metabolických destruktivních procesů a podílí se na její výstavbě, působí hepatoprotektivně, zmírňuje negativní dopad vlivu diabetes mellitus na organismus, chrání ledviny vůči některým onemocněním a napomáhá organismu při zužitkování živin potravy.

L-karnitin (případně alkanoyl-L-karnitin) vytváří s magnezium-fumaratem stabilní a nehygroskopickou sůl, která je využitelná jako doplňková látka pro krmivo, případně jako součást doplňků stravy v humánní oblasti⁷³. Jedná se o velmi příznivé a důležité zjištění, protože hygroskopické soli, zvláště v přítomnosti redukujících látek (askorbová kyselina) a řady mikroelementů nebo přechodných prvků (Fe, Mn, Cu ad.) se velmi snadno rozkládají za vzniku aminově páchnoucích produktů. L-karnitin byl navržen jako doplňková látka pro koně, u nichž zlepšuje metabolické funkce a umožňuje tak provádění lepšího tréninku⁷⁴. Látka také zvyšuje reprodukční schopnost pavích oček (*Poecilia reticulata*) v koncentraci 100-5000 mg/kg krmiva⁷⁵. Vliv na koně a ryby je jistě zajímavý, zcela určitě však nestojí v popředí produkčního zájmu živočišné výroby, a proto jsou zajímavé studie, týkající se především prasat, nosnic a slepičích brojlerů. Patentová literatura uvádí, že v rozmezí 5-5000 ppm karnitinu v krmivu se po podání prasnícím ve stadiu gestace a laktace urychluje produkci (narození selat, kvalitu vrhu, odstav, snížení počtu spontánních potratů a zvýšení počtu selat, která zůstala živá v dalším vrhu)⁷⁶. Přísada karnitinu do krmiva v dávce 5-1000 ppm má preventivní efekt vůči syndromu náhlého úmrtí šlechtěných typů drůbeže⁷⁷. Po přidavku 50 ppm L-karnitinu do napájecí vody podané nosnicím udržovaným v režimu určitého hypertermního stresu bylo zjištěno určité zvýšení kvality albuminu ve vejcích⁷⁸. Z výsledků poslední doby se ukazuje, že aditivní L-karnitin ve formě esterů nebo solí je látkou budoucnosti, protože má velmi příznivé účinky na reprodukci a metabolismus.

Přidávání aminokyselin do krmiva je do určité míry problémové: ačkoliv jsou v současnosti vyráběny efektivními biotechnologickými postupy, jsou stále zdánlivě drahé (proto jsou používány většinou jen u rostoucích zvířat), především však nejsou zcela stabilní, protože některé složky krmiva (především kationty) a tepelná úprava v průběhu výroby

způsobuje jejich částečný rozklad. Tak jako v humánní praxi i zde je atraktivní arginin a glutamin. Obě látky stimulují imunitu savců zejména v oblasti střevní mukózy a zvyšují proteosyntézu. V případě argininu je tento efekt výrazný, podá-li se v dávce nad 3 g/100 kg hm. organismu, protože dochází k elicitaci signálních proteinů navozujících zvýšenou produkci růstového hormonu. Pokud jsou epifyzární štěrbiny už uzavřeny, projevuje se zvýšená hladina GR anabolicky. Přidá-li se arginin do mléka prasat v koncentraci 0,2-0,4 %, zvyšuje se u nich oproti kontrole hladina plazmatického inzulinu a růstového hormonu a dochází k lepšímu růstu a vývoji zvířat⁷⁹. U brojlerových kuřat, kterým byl podáván protein s obsahem L-argininu a L-valinu bylo zjištěno, že v dietách se současně nízkým obsahem proteinů má L-arginin výrazně pozitivní vliv na vývoj brojlerů. Jinak suplementace L-valinem neměla vliv na růst a vývoj jatečných zvířat⁸⁰. Tento údaj je do jisté míry pochopitelný: L-valin, L-leucin a L-isoleucin jsou sice glukogenní kyseliny patřící do skupiny BCAA, je však rozdíl, podají-li se jako intaktní aminokyseliny, nebo ve formě peptidů, či dokonce proteinů, kde se jejich dílčí účinek často jen obtížně projevuje.

U glutaminu podaného domácím zvířatům bylo zjištěno, že dochází ke zvýšené tvorbě IgA ve střevní mukosální membráně; tento fakt je využitelný při formulaci krmiva pro tato zvířata⁸¹. Poly(γ -glutamová) kyselina, připravené biotechnologicky pomocí *Bacillus natto* (případně její některé degradační produkty) snižují u brojlerových kuřat (v koncentraci 0,2 % v krmivu) exkreci fosforu⁸².

Z neobvyklých účinků leucinu lze jmenovat příznivý efekt na učení, významný u domácích zvířat (psi, kočky)⁸³; jeho použití jako rozvětvené aminokyseliny pro zlepšení růstu a zvětšení příčně pruhovaného svalstva není v živočišné výrobě nijak výrazně uváděno.

L-Lysin je aminokyselinou pro výživu savců nezbytně nutnou. Tato kyselina však vykazuje ještě jiné účinky, prakticky využitelné: lze ji použít jako aditivní látku s centrálním ataraktickým účinkem u přežvýkavců⁸⁴. Podstatně významnější je však použití jako RPAA (rumen-protected amino acids). V této indikaci se používá (ve formě hydrochloridu) společně s L-methioninem (tato aminokyselina je už jako RPAA používána ve formě přípravku Smartamine M); směs zlepšuje produkci mléka u krav a jeho rheologické vlastnosti s ohledem na další zpracování^{85,86}; existuje technologický postup na výrobu krmivového doplňku, kdy se aminokyselinová frakce enkapsuluje v lipofilním základě⁸⁷.

Hydroxyanalogy methioninu mají příznivý vliv ve výkrmu prasat; při sníženém obsahu proteinů v krmivu zlepšují eutonii v intestinální oblasti a snižují exkreci dusíku⁸⁸. U brojlerových kuřat bylo provedeno srovnání využitelnosti tekuté formy hydroxyanalogu D,L-methioninu s D,L-methioninem; objevily se některé příznivé vlastnosti hydroxyanalogu⁸⁹,

kteří svědčí o tom, že je to látka s určitou perspektivností, určitě však vhodná pro další širší studium.

Pokusy jsou prováděny také s cysteaminem: byla navržena směs pro nosnice, kterou je možné aplikovat současně s krmivem při výkrmu, anebo ji přidávat do premixů (konečná koncentrace je 120 ppm cysteaminu). Zvýší se snáška a kvalita vajec - menší počet abnormálních vajec a jejich křapovitost⁹⁰. Po aplikaci cysteaminu (jeho soli) kravám došlo ke zvýšení hladin IL-2 nebo IL-6 nebo ke zvýšení počtu lymfocytů. Z výsledků experimentů vyplývá, že cysteamin je případně vhodnou látkou pro zvýšení imunity u krav⁹¹.

3.4.2 Další dusíkaté látky

Betain (N,N,N-trimethylglycin, vnitřní sůl) je banální sloučeninou, používanou ve formě hydrochloridu několik desítek let v humánní terapii. V posledních několika letech se vrací opět do použití ve formě doplňků stravy, protože u ní byly nalezeny některé nové zajímavé účinky a také do pokusů v živočišné výrobě, např. je věnována pozornost jeho pozitivnímu ochrannému vlivu při infekci kuřat prvoky r. *Eimeria*⁹². Při porovnání s D,L-methioninem, resp. vlivu na růstové charakteristiky a vývoj korpusu u masných kachen se zjistilo, že betain je z hlediska vývoje korpusu, zrychlení růstu a využití krmné dávky mnohem efektivnější než methionin⁹³. Ve vazbě s organicky vázaným chromem (yeast-chromium, pikolínat) může být součástí doplňkové směsi ve výživě prasat. Samotný betain zvyšoval denní přírůstky, neměl výrazný vliv na index výkrmnosti oproti kontrole, směs betainu a organických forem chromu zvýšila v krevním séru hladinu kreatininu, celkového cholesterolu, snížila hladiny močoviny, triglyceridů a LDL-cholesterolu⁹⁴. Betain (Betafin) zvyšuje produkci protilátek a snižuje mortalitu u kohoutích brojlerových kuřat, které byly vystaveny stresu z vyšší teploty⁹⁵. Směs betainu a sušeného buněčného stromatu pivovarských kvasnic může být použita při tlumení infekcí GIT u domácích zvířat, ryb a ptáků⁹⁶. Směsná sloučenina, tzv. chloral-betain připravená krystalizací chloralhydrátu s betainem (1:1,2 až 2,0) má také antistresové účinky (doplňková směs obsahuje navíc vitaminy, siřičitan sodný a je triturována laktosou)⁹⁷. Hydrochlorid betainu je netoxický (ani akutně, ani chronicky), v organismu se nekumuluje, není mutagenní a může být bez problému používán jako doplňková látka⁹⁸.

Ze vzdálenějších derivátů aminokyselin se ukazují jako zajímavé některé substituované N-acylaminokyseliny rámcového složení $R^1\text{CONHCH}(R^2)\text{COOH}$ [kde $R^1=\text{H}$, primární, sekundární nebo terciární alkyl- nebo alkenyl-; $R^2=\text{H}$, (ne)rozvětvený (ne)substituovaný alkyl] [např. 2-(palmitoylamino)propionová kyselina], které zvyšují biologickou dostupnost

některých fyziologicky účinných látek (např. astaxanthinu) v organismu zvýšením permeability buněčných membrán⁹⁹.

Z dusíkatých látek je velmi perspektivní sloučeninou kreatin (α -methylguanidoocetová kyselina). Ten je v živočišném organismu transferem energie, přenašečem makroergního fosfátu ve formě kreatinfosfátu; enzymovým štěpením kreatinfosfátu se uvolňuje velké množství energie, která je uložena v makroergní vazbě N~P. Trénink zvyšuje hladinu kreatinfosfátu ve svalu. Při smrštění svalu nastává štěpení kreatinfosfátu a tím úbytek jeho klidové hodnoty. Kreatinfosfát pak přechází na místa v buňce, kde tuto chemicky vázanou energii opět předává ADP za vzniku ATP; tato energeticky bohatá molekula se potom uplatňuje v buňkách všude tam, kde probíhají energetické děje, např. při svalových stazích nebo jejich uvolňování (srdeční a kosterní svaly, mozková tkáň aj.). Po podání kreatinu se do jisté míry zvyšuje obsah vody ve svalových buňkách, dochází k podpoře proteosyntetických procesů a k určitému omezení procesů katabolických. Tento proces zvyšuje sílu pracujícího svalu a přispívá k regeneraci svalové hmoty. Saturace organismu však musí být pravidelná. Kreatin je látka živočišnému tělu vlastní (je složkou řetězce intermediárního metabolismu; její obsah v příčně pruhovaném svalu u lidí je včetně fosfátového konjugátu 0,2-0,5 %), nelze ji pokládat za xenobiotikum a předpokládat její toxicitu. Jako doplňková látka do krmiv (také ve formě solí) zlepšuje kvalitu krmiva a působí jako antimikrobiální promotor růstu¹⁰⁰. S kyselinou citronovou vytváří stabilní, dobře použitelnou sůl¹⁰¹ pro zvýšení síly organismu a snížení tuku¹⁰². Velmi vhodnou přísadou ke kreatinu (v tomto případě kreatinu monohydratu) je pyruvat (draselný, sodný nebo vápenatý). 55-75 % pyruvatu v této směsi a poměr směsi ke krmivu 1:10-20 snižuje obsah tuku v organismu¹⁰³.

3.5 Různé typy proteinů neenzymového charakteru

Z těchto skupin látek jsou v současnosti nejdůležitější tři: laktoferrin, vápenaté komplexy fosfopeptidů a kolostrum.

Bovinní laktoferrin je relativně snadno získatelný z mléka; jeho použití se v poslední době začíná rozšiřovat.

Laktoferrin a železo se mohou použít pro zvýšení hemopoetické funkce u nově narozených telat; směs se také ukazuje jako vhodná pro prevenci anemie¹⁰⁴. Laktoferrinové produkty (sumárně označované jako „laktoferriny“) inhibují aberantní krypty ve střevech (ACF)¹⁰⁵. Krmivo obsahující laktoferrin (dalšími přísadami jsou L-glutamin, glutaminový peptid, minerální látky, mikroelementy a rostlinné extrakty) je vhodné pro narozená mláďata,

zejména kuřata, u nichž zvyšuje odolnost vůči infekcím a chorobám, které je v tomto vývojovém stadiu postihují¹⁰⁶. Podobně lze použít laktoferrin ve směsi s laktoperoxidásou do mléka používaného jako náhradní krmivo při průjmech mladých telat. Směs ovlivňuje morfologické parametry a mikrobiální profil zažívacího ústrojí těchto zvířat¹⁰⁷. Laktoferrin může být přidáván také do krmiva pro ryby (spolu s minerálními látkami, vitaminy a aminokyselinami)¹⁰⁸; spolu s laktoferrinem je využitelný pro krmivo v procesu šlechtění domácích zvířat pro zajištění zdravého stavu narozených mláďat a mladých zvířat¹⁰⁹.

Kasein je složenou bílkovinou obsahující kromě síry také fosfor (v aniontové formě); tato bílkovinná složka má dobrou biologickou využitelnost a je zdrojem oligopeptidových štěpů. Častěji jsou používány kaseináty (sodný, vápenatý) v různé formě výživy. V některých případech však mohou být obtížně stravitelnou bílkovinou. Při vhodné přípravě vápenatých komplexů fosfopeptidů se vytváří tzv. „koloidní vápník“, který je z kaseinových micel velmi dobře uvolňován a je vhodný jako doplňková látka pro zvířata¹¹⁰. Nabízí se aplikace těchto komplexů s látkami, ovlivňujícími transport vápníku do kostí, resp. metabolismus osteocytů, jako je isoflavon genistein; směs zabraňuje demineralizaci kostí¹¹¹ a může být použita jak humánně, tak jako součást krmné dávky pro hospodářská zvířata. Přísada kaseinátů vápenatých do krmiva je efektivní také u koní, kde snižuje nebezpečí fraktur, event. zlepšuje jejich hojení, navíc však vykazuje určité centrální účinky: působí sedativně, zlepšuje chování, snižuje vyčerpanost a má celkový zdravotně posilující účinek¹¹².

Bovinní kolostrum (mlezivo) je získáváno 24-48 hodin po otelení a dodáváno na trh v různé kvalitě. Tekutina je po homogenizaci fluidně vysušena a zároveň pasterizována 15 min. při 140 °C. Výrobci tvrdí, že přítomné tkáňové faktory jsou ve směsi natolik stabilní, že se rozkládají při tomto postupu jen omezeně, o čemž je možné alespoň zčásti pochybovat. Takto sušený materiál obsahuje: immunoglobuliny a růstové faktory, proteiny 63-65 % (vč. laktoglobulinu, albuminu, laktalbuminu, prealbuminu), vlhkost 4.26 %, popel 4.85-4.97 %, tuk 0.8-3 %, laktózu 2-3 %, elementy: Ca 0.26 % P 0.24 %, Mg 0.04 %, Na 0.07 %, K 0.14 %, Fe 0.0002 %, Cu 0.00006 %, Co 0.00006 %, Mn 0.000016 %, I 0.00003. Vitamíny a pod. látky: cholin 0.12 %, axeroftol 4.5 % (v tuku), karotenoidy 3.5 % (v tuku), kalciferol 4 IU/100 ml, v čerstvém materiálu: tokoferol 2-3 mg/100 ml, thiamin 500 mg/100 g, niacin 100 mg/100 g, pantothen. kyselina 220 mcg/100 ml, niacin 70-80 mcg/100 ml, pyridoxin 50-70 mcg/100 ml, kyanokobalamin 1 mcg/100 ml, biotin 3-4 mcg/100 ml, listová kyselina 5-9 mcg/100 ml, askorbová kyselina 2.5 mg/100 g, riboflavin 500 mcg/100 ml. Imunitní faktory: immunoglobuliny: vysokou konc. IgG, dále IgM, IgA, IgE, secretory IgA, IgA Specific Helper Factor (sIgA) (indukuje syntézu IgA), α -1-antitrypsin, α -1-fetoprotein, α -2-

makroglobulin, haemopexin, haptoglobin, β -2-mikroglobulin C3, C4, orosomukoid, cytokiny interleukin IL-1, IL-6, IL-10, Tumor Necrosis Factor (TNF), interferon- γ , laktoperoxidasu, thiokyanát a xanthin oxidasu, laktoferrin, lymfokiny a lysozym, Proline-Rich Polypeptide (PRP), α -2-glykoproteiny, AP-glykoprotein, širokou skupinu specifických antibakteriálních, -virových, -kvasinkových a -protozoálních protilátek a významnou hladinu sloučenin neprotilátkového charakteru zahrnující glykokonjugáty. Růstové faktory: Insuline-like Growth Factor 1 (IgF-1, vysoká koncentrace), Transforming Growth Factors A and B (TgF A & B), Epithelial Growth Factor (EgF), Fibroblast Growth Factor (FgF), prolaktin, Gonadotropin Releasing Hormone s doprovodnými peptidy (GnRH a GAP), inzulin.

Kolostrum (sušené) je dále čištěno (odstraňován tuk, laktóza a mléčné proteiny) - tímto způsobem se získá velmi kvalitní materiál s vysokým obsahem tkáňových faktorů. Kolostrum má významný efekt na imunitu, používá se při infekčních a degenerativních chorobách (nemoci kardiovaskulárního systému, neoplasmata), regeneruje a akceleruje normální růst různě postižených svalů (v různém stadiu vývoje živočišného organismu), kostí, chrupavek, kostního kolagenu a nervové tkáně, pomáhá při odstraňování tělesného tuku a vyrýsování svalů, zrychluje metabolický obrat RNA a DNA v organismu, podílí se na regulaci krevního cukru, urychluje hojení ran a vyrážek (kožních defektů), snižuje bolestivost a urychluje hojení defektů v ústní dutině, pomáhá regulovat hladinu glukózy a mozkových neuromediátorů, zlepšuje psychickou koncentraci.

Směs mleziva a dalších biologicky aktivních látek může být použita pro inhibici onemocnění zažívacího ústrojí různých hospodářských zvířat¹¹³.

Z dalších produktů se jako perspektivní ukazují některé metabolity rostlin i nižších organismů u kterých bychom možnou aditivní použití teoreticky nepředpokládali. Byla navržena dusíkatá aditivní směs s obsahem aktivního glutenu (50 % vitálního glutenu, 50 % máčené kukuřičné moučky), která má univerzální použití nejen pro případnou výrobu krmiv, potravin, ale také např. pro produkci antibiotik. Tato směs je vhodná pro produkční kultivaci *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Bacillus subtilis*¹¹⁴. Byla také vypracována efektivní metoda pro čištění komplexu rostlinných proteinů, resp. odstraňování nízkomolekulárních látek: sojový protein je teplotně zpracován a ve vodném médiu filtrován přes Amberlite IRA-910 na kterém se zachytí isoflavony. Tyto látky jsou využitelné v jiných sférách, naopak mohou být do krmivových směsí znova přidávány, velmi použitelný je však do značné míry vyčištěný protein, protože nativní množství isoflavonů v sojových proteinech působí antinutričně¹¹⁵. Fyziologicky aktivní látky – metabolity zelených sírných bakterií

(*Chlorobium limicola*) je přidáván do krmiva pražmy (red sea bream) u které zvyšuje využitelnost krmiva, zvyšuje hmotnost ryb a jejich přežívání¹¹⁶. *Macrobrachium rosenbergii* produkuje lektin použitelný v prevenci běloskvrnitosti („White spot“) po infekci baculovirem u krevet. Čistý lektin výrazně zvyšuje rezistenci korýšů vůči infekci¹¹⁷. Sericin, nebo jeho hydrolyzát, může být velmi dobře použit jako doplňková látka působící preventivně proti zhoubným nádorům tračníku¹¹⁸. Nesporně novátorské a perspektivní jsou metody genové manipulace při kterých jsou získány látky vzniklé imunizací zvířat vůči cizorodým látkám, nebo tvorba transgenních organismů s přesně žádanými obsahovými látkami. Je možné využít přírodních anti-sekretorních proteinů (NASP) pro ovlivnění a profylaxi chorobných stavů spojených s výraznou ztrátou tělových tekutin (je používán vaječný žloutek ve kterém byla manipulačně zvýšena hladina těchto látek)¹¹⁹. Je možné také vyrobit protilátky vůči některým gastrointestinálním neuromediátorům: např. protilátky vůči CCK-8 byly připraveny z vaječného žloutku slepic, které byly ve stadiu kuřat imunizovány CCK-8 konjugovaným s nosným proteinem. Po přidavku protilátkového komplexu do krmiva brojlerů bylo zjištěno ~ 2% zvýšení svalového proteinu a ~ 0,3% snížení tuku v těchto kuřatech¹²⁰. V případě zelené řady r. *Chlorella* byla provedena genová manipulace (exprese některých virových antigenů nebo růstových hormonů - jednalo se o foot and mouth disease virus, porcine transmissible gastroenteritis virus, porcine reproductive and respiratory syndrome animal virus, avian influenza virus, newcastle disease virus, animal growth factors PGH nebo PEGF) a tato řasa může být využita jako doplňková látka (zdroj příslušných protilátek) při výživě hospodářských zvířat¹²¹.

3.6 Enzymy

Převážná část spektra nových nebo nově používaných směsí enzymů nebo enzymových systémů má určité fyziologické aktivity podporovat, existují však případy, kdy má dojít k útlumu aktivit. Je pochopitelné, že všechny procesy se vztahují k digestivním procesům – přímo, nebo zprostředkovaně.

U přežvýkavců je důležitá optimalizace ruminální mikroflóry: pro tento účel se může uplatnit APAO enzymy (enkodované aminopolyol-aminoxidasovými polynukleotidy a polypeptidy z *Exophiala spinifera*); APAO je typem flavinových aminoxidas, které katalyzují degradaci fumonisinu, což je velmi důležité pro detoxikaci krmných i potravinářských cereálií a siláže¹²². Neškrobové polysacharidy (NSP) jsou významným zdrojem energie a jsou hlavní součástí krmiva, které musí ruminální mikroorganismy intenzivně zpracovat. Proto je účelné přidávat do krmiva komplexní směs xylanů (s obsahem endo-1,4- β -xylanasy), které

rozkládají NSP, zvyšují energetickou bilanci organismu, zlepšují jejich vývoj (jehněčí brojeři, dojnice); v tomto případě už existuje doplňková směs-přípravek (Rumino-Zyme, Bata Co., Ocsa, Hungary)¹²³. Z ruminální bovinní tekutiny byla z bakterie blízké r. *Butyrivibrio* izolována endoxylanasa nazvaná *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* Mz5T xylanasa XynT; může být vhodně použita jako doplňková látka pro zvířata se zdravotními problémy, protože zvyšuje rozmnožování příznivé mikroflory zažívacího traktu¹²⁴. Často jsou enzymové systémy používány ve směsi s dalšími doplňkovými látkami a probiotickými bakteriemi. Existuje směs, patentovaná v Brazílii obsahující amylasu, celulasu, proteasu, lipasu, pektinazu, *Lactobacillus acidophyllus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum*, *B. longum* a zinečnatou sůl¹²⁵. Směs probiotických organismů a enzymů je také doporučena pro zlepšení růstu, využitelnosti krmné dávky a dusíku, resp. ke snížení emise amoniaku u odstavených selat¹²⁶. Bylo zjištěno, že α -mannobiosa inhibuje kolonizaci střev salmonelami a efektivně eliminuje tohoto mikroba z organismu; disacharid je možné snadno připravit z rostlinné suroviny obsahující dostatečné množství mannanů, které jsou inkubovány s β - a α -mannosidasou (přípravky Cellulosin GM 5 a Transglucosidase Amano) za vzniku α -1,6-mannobiózy¹²⁷. Acetylxylanesterasa z *Chaetomium gracile* je vhodným doplňkovým enzymem pro krmivo domácích zvířat; podílí se na zlepšení trávení. Acetylxylanesterasové geny byly vneseny do *Aspergillus oryzae* a touto genovou expresí dosaženo produkce enzymu¹²⁸.

V některých případech je vhodné snížit enzymovou aktivitu, konkrétně aktivitu glukosidas. Inhibitory α -glukosidas (extrakt z *Quercus salicina*) jsou využitelné pro zabránění nežádoucí postprandiální hyperglykémie¹²⁹. Bylo také zjištěno, že některá bifidobakteria [*Bifidobacterium longum* BGN3(KCTC 0138BP) a *Bifidobacterium* sp. M-6(KCTC 0137BP)] snižují aktivitu β -glukosidas a jsou vhodné k použití pro mléčnou fermentaci nebo jako probiotické aditivum do krmiva i potravin¹³⁰.

3.7 Mastné kyseliny a jejich deriváty

Vyšší živočichové nedovedou na rozdíl od rostlin syntetizovat polyenové mastné kyseliny řad ω -3 (α -linolenová, ALA, příp. CLA; eikosapentaenová, EPA; dokosahexaenová DHA) ani ω -6 (linolová, γ -linolenová, arachidonová). V živočišném organismu se linolová a α -linolenová kyselina elongací prodlouží o 2, resp. 6 uhlíků a desaturací vzniknou další dvojně vazby, takže vznikají mastné kyseliny s 20-24 atomy uhlíku a 3-6 dvojnými vazbami v molekule. Tyto vyšší esenciální mastné kyseliny mají v organismu živočichů nezastupitelnou úlohu,

protože fungují jako prekurzory eikosanoidů (prostaglandinů, leukotrienů, prostacyklinů, thromboxanů a lipoxinů) a jako modulační složky biologických membrán, zajišťujících jejich fluiditu a flexibilitu. Jednou z nejdůležitějších látek je arachidonová kyselina, která se ukládá v biologických membránách jako C-2 ester fosfatidylinositolu a jiných fosfolipidů. Z arachidonové kyseliny vznikají působením cyklooxygenas (COX) prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany řady 2, působením lipoxygenas vznikají leukotrieny s indexem 4, z EPA vznikají analogicky prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany s indexem 3, leukotrieny pak s indexem 5. Některé z těchto sloučenin se významně uplatňují jako vazokonstrikční nebo vazodilatační látky, regulátory krevního tlaku a agregační nebo antiagregační látky. Po podání glyceridů (tuků) s obsahem těchto kyselin do GIT dochází vlivem lipas k rozštěpení esterové vazby, uvolnění mastných kyselin a prostřednictvím chylomikronů pak k jejich resorpci. Velmi významně tedy záleží na tom, jaký typ mastných kyselin je prostřednictvím glyceridů do organismu dodán: enzymy, katalyzující desaturaci a elongaci obou typů kyselin jsou stejné, snáze však probíhá desaturace a elongace u ω -3 kyselin. Tam, kde je nízká hladina Δ^6 -desaturasy, klíčově se na procesech podílející, jsou tyto přeměny znesnadněny. Proto se velmi často přidávají jako doplňkové látky pyridoxin, biotin, zinek, hořčík a vápník. Významně negativní vliv mají stres, virové infekce a vyšší příjem *trans*-nenasycených mastných kyselin a polohových izomerů přirozených nenasycených kyselin. Proto je zkrmování tukových odpadů různé provenience (včetně pyrolytických produktů) velmi problématické, resp. použití je málo žádoucí.

Významným zdrojem ω -3 kyselin jsou rybí oleje čištěné do různého stupně (odstranění aminově páchnoucích látek). Po přidání biopolymerů a lecitinu se provede mikroenkapsulace, rezultuje práškový produkt, který je velmi vhodný jako aditivní látka^{131,132}. Směs ω -3 kyselin však může být připravena i jiným způsobem (heterotrofní houby řádu *Thraustochytriales*)¹³³, z řas (*Schizochytrium* sp.)¹³⁴ nebo z planktonu chladných moří. Směs ω -3 mastných kyselin má i určité terapeutické vlastnosti – je vhodné ji použít jako alternativu k antibiotikům, kokcidostatikům^{135,136} a jako materiál, zvyšující kvalitu konečných produktů: masa¹³⁶ a vajec; začíná se významně využívat u nosnic (ať už ve formě čištěného rybího oleje, nebo jiného ω -3 kyselinového koncentrátu) pro produkci vajec se zvýšeným obsahem ω -3 kyselin nebo samotné DHA^{137,138,139,140,141}. Velmi často jsou do těchto směsí přidávány vitaminové a minerální premixy, Ca, Zn, Fe, Se, I, lecitin, antioxidanty (vitamin E, ethoxin), ale také přírodní látky, jako např. extrakt ze zelených listů čajovníku a allicin (sulfidový derivát z *Allium sativum*). Velmi často se operuje také s koncentrátem samotné DHA (resp.

jejím koncentrátem především z mořských produktů): jako doplňková látka je podávána např. březím zvířatům pro zvýšení jejich vitální aktivity¹⁴², zvýšení reprodukčních schopností prasnic¹⁴³. Existují také údaje o podávání doplňkových látek do krmiva dojníc, jejichž úkolem je inhibovat mikrobiální degradaci DHA v rumen, což způsobí zvýšený přechod DHA do mléka a zajistí tak jeho vyšší kvalitu¹⁴⁴.

Zajímavý údaj existuje o použití EPA: premix obsahující kyselinu a soli alkalických kovů nebo amonných může být použit jako ochranné agens před mletím obilí; jsou sice přidávány další biologicky aktivní látky a antioxidanty, nicméně doporučená koncentrace EPA je až neuvěřitelně nízká: 104 mg/t obilovin. Premix je odolný vůči mikrobiální degradaci a neinhibuje digestivní procesy zvířat¹⁴⁵; ke stejnému účelu jsou navrženy i eikosapentaenoátové deriváty¹⁴⁶. Ošetření obilnin před uskladňováním je možné provést nejen deriváty EPA, ale také deriváty arachidonové kyseliny¹⁴⁷.

Tzv. konjugovaná linolová kyselina (CLA) je směs zpravidla dvou polohových izomerů (9-*cis*, 11-*trans*; 10-*trans*, 12-*cis*). Používá se ve formě triglyceridů, esterů nebo ve volné formě^{148,149}. Tyto látky snižují obsah tělesného tuku¹⁵⁰ a zvyšují imunitu¹⁵¹. U slepičích brojlerů bylo zjištěno zvýšení užitkovosti¹⁵². Tak jako v předešlých případech se podává ve formě prášku, jehož technologie je už vypracována^{153,154}; v mikrotobolkách může být nejen ve formě kyseliny, ale i esterů¹⁵⁵. Želatinový film, v němž je enkapsulována, je navržen k použití pro snížení obsahu mononenasyčených mastných kyselin v tkáních, které jsou odpovědné za tukovou akumulaci¹⁵⁶. Pro přípravu těchto látek se nabízí řada klasických metod, neklasické však mají určitou zajímavost a perspektivnost: halofilní rostlina *Suaeda salsa* a *Artemisia capillaris* obsahují ve svých plodech (semenech) ~20 % mastného oleje, tvořeného ze ~60 % CLA¹⁵⁷.

Směs ω -3 a ω -6 polynenasycených mastných kyselin zvyšuje kvalitu masa brojlerů (konkrétně bylo pozorováno zlepšení vůně a křehkosti masa) spojenou se zvýšením jejich nutriční hodnoty¹⁵⁸.

MCT (Medium Chain Triglycerides) jsou triglyceridy, složené ze středně dlouhých mastných kyselin (MCFA), které mají řetězec C₈-C₁₀, zdrojem jsou často určité frakce rostlinných olejů (palmový nebo kokosový olej); metabolizují se 4x rychleji než normální lipidy, neukládají se do adipózní tkáně a představují rychlý zdroj mobilizovatelné energie. Vyskytují se také v mléčném tuku. V 50.-60. letech začaly být vyráběny z kokosového oleje. Tyto látky mají významnou budoucnost z důvodů svých fyzikálních, chemických a nutričních vlastností (stálost vůči vzdušné oxidaci, nízká viskozita, dobrá rozpustnost, mixibilita a dobré lubrikační vlastnosti); počítá se s nimi jako s určitou alternativou klasických rostlinných olejů.

MCT patří mezi tuky s relativně nízkou hodnotou energie, a proto se v humánní sféře používají při výrobě různých speciálních potravin, např. v pekařských výrobcích se sníženým obsahem energie; mohou být však použity spolu se sacharidy jako energetický suplement, při léčbě alkoholového poškození jater, k enterální výživě diabetických pacientů a k normalizaci zdravotního stavu - obecně při ztrátách tuků a katabolických procesech u pacientů s AIDS, po operacích po nichž dochází k rychlému katabolismu aj. Byla navržena směs s obsahem těchto látek a exogenními lipolytickými enzymy jako alternativní doplňková látka do krmiva selat vůči antibiotikům, protože bylo prokázáno, že tyto látky mají antimikrobiální aktivitu. Vykazují také příznivou aktivitu na růst zvířat a působí kurativně při chorobách GIT¹⁵⁹.

Existují také údaje o použití samotných kyselin se střední délkou řetězce (MCFA): jejich směs s různými promotory růstu (anorganické a anorganické kyseliny, antibiotické stimulatory růstu, konvenční růstové promotory a různé rostlinné extrakty), má antimikrobiální účinky a zlepšuje zdraví a prosperitu zvířat¹⁶⁰. Je ovšem otázkou, jak významnou roli mohou v této směsi, obsahující antibiotické stimulatory růstu, hrát MCFA. Komplexy MCFA s cyklodextrinem (za použití kyselin C₈ nebo C₁₀) se ukázaly *in vitro* efektivní při snížení produkce methanu u ruminantů¹⁶¹.

V případě nasycených mastných kyselin s delším řetězcem (C>12) bylo u ovcí zjištěno, že myristová kyselina přímo ovlivňuje methanogenní bakterie a snižuje tak produkci tohoto plynu v rumeni; je však třeba zjistit ještě řadu dalších fyziologických záležitostí v této oblasti¹⁶².

3.8 Fosfolipidy

Fosfolipidy jsou skupinou přírodních látek, získávaných z některých rostlin (zástupci čeledí Fabaceae, Asteraceae, Brassicaceae); ze strukturního hlediska se jedná o fosfoglyceroly: dvě hydroxylové skupiny glycerolu jsou esterifikovány vyššími mastnými kyselinami (např. olejovou, linolovou, linolenovou), třetí nese zbytek kyseliny fosforečné. Jeden vodík v tomto zbytku je nahrazen buď dusíkatými látkami (cholinem, ethanolaminem, serinem) nebo cyklitolem (inositol). Prakticky se pod pojmem lecitin rozumí vždy jen fosfatidylcholin, ostatní látky (fosfatidylethanolamin, -serin a -inositol) jsou souhrnně označovány jako rostlinné fosfolipidy. Jejich pozitivní vliv na stabilitu cévní stěny, povrch erytrocytů, konsekvenčnost destičkového agregačního procesu je velmi dobře znám - nativní fosfolipidy a jejich polosyntetické analogy se staly ve světě jedním z odvětví farmaceutické chemie. Pro praktické použití je významná schopnost těchto látek snižovat incidenci onemocnění kardiovaskulárního systému, které je v přímé souvislosti s hladinou cholesterolu. V případě

hospodářských zvířat jsou zdrojem určitého množství fosfátů, cholinu (jako vitagenu) a inositolu (jako látky příznivě ovlivňující metabolismus a CNS). V poslední době jsou fosfolipidy (především lecitin) doporučovány při potížích pohybového aparátu.

Fosfolipidy mohou být použity jako aditivní látky do krmiva pro hospodářská zvířata; jejich použitím se zvyšuje produktivita zvířat ve velkochovech¹⁶³. Lecitin a lysolecitin přidané do krmiva pro brojlerů zvyšují aktivitu exogenních enzymů (např. xylanových preparátů) a vývoj zvířat¹⁶⁴. Podobně působí specifická směs fosfolipidů obsahující fosfatidylcholin (18 %), fosfatidylethanolamin (14 %), lysofosfatidylcholin (4 %), lysofosfatidylethanolamin (1 %) a lysofosfatidylinositol (1 %)¹⁶⁵. Pro účely aplikace do krmiva byla vypracována technologie výroby práškové směsi s fosforečnanem vápenatým splňující parametry technologických požadavků při výrobě krmiva¹⁶⁶.

3.9 Vitaminy a vitageny

3.9.1. Vitaminy

Jak už bylo v úvodu této studie řečeno, v úvahu přicházejí takové formy vitaminů, které zajistí vyšší stabilitu v průběhu krmné směsi, případně vyšší biologickou dostupnost látky.

Patrně nejběžnějším vitamínem je kyselina askorbová; je esenciálním vitamínem v lidském těle nesyntetizovaným (a nesyntetizovaným v těle ostatních živočichů vyjma psů), s významnými antioxidačními vlastnostmi, podporuje hojení ran a kostí, uplatňuje se v biosyntéze kortikoidních hormonů a potlačuje vliv negativních stresových faktorů na organismus (zvyšuje adaptaci organismu vůči stresu). Zvyšuje fyzickou výkonnost a odolnost proti infekcím. Jeho zvýšené podávání je efektivní ve vyšším věku, při těžké a stresující práci, při vysoce bílkovinné a vysoce tukové stravě, preventivně ke zvýšení imunorezistence. Kromě toho plní v organismu roli významného redoxního faktoru a spolu s vitamínem E je základním redoxním faktorem. Je to látka polyvalentní aktivity: kromě účasti v oxidoredukčních reakcích vstupuje do metabolismu vyšších živočichů také jako látka specifických aktivit. Od poloviny 40. let minulého století je totální syntéza tohoto gulonolaktonu dokonale vyřešena, je to látka relativně laciná, bohužel však, v intaktním stavu dosti nestálá, zejména za přítomnosti kovových iontů, vlhkosti. Z tohoto důvodu jsou hledány buď nové technologické postupy pro tvorbu přídatných směsí, anebo formy solí, případně derivátů, které by se omezeně rozkládaly a organismu přinesly vyšší biologickou využitelnost. S vitamínem jsou prováděny stále různé formy pokusů, např. při sledování vlivu na imunitu a snášku slepic, které byly podrobeny teplotnímu stresu (31,5 °C) a imunitní vakcinaci (Newcastle Disease, NCD) nebyl zjištěn statisticky významný vliv na příjem krmiva, snášku a

využitelnost krmné dávky; pozitivní efekt se projevil jen na hmotnosti vajec u NCD skupiny vzhledem ke kontrole¹⁶⁷. Aditivní přísada do krmiva (jak volné kyseliny, tak jejich derivátů) může také zlepšovat kvalitu a výtěžnost jatečního masa¹⁶⁸. Velmi často je tento vitamin podáván s dalšími látkami pro zvýšení účinku, zejména imunity: bývá to zinek, směs zlepšuje kromě zvýšení imunity hojení ran také růstové charakteristiky u prasat¹⁶⁹. Významná je kombinace s tokoferoly: směs vitaminů C, E, selenu, allicinu a rozemletých ředkviček (*Raphanus sativus* var. *radicula*) smísená s vhodným inertním nosičem má stabilizační vliv na imunitu hospodářských zvířat¹⁷⁰, u kuřat bylo prokázáno, že podání vitaminů C a E zlepšuje imunitní odpověď a snižuje jejich mortalitu¹⁷¹. Askorbová kyselina ve formě L-askorbyl-2-monofosfátu hořečnatého aplikovaná s α -tokoferyl-fosfáty zvyšuje kvalitu masa a zdraví zvířat (krávy, kuřata), jak bylo ukázáno na býčcích, v jejichž mase se zvýšila hladina nenasycených mastných kyselin, snížila hladina cholesterolu, neutrálních tuků a glukosy¹⁷². Směs vitaminu C a E (za přídavku karotenoidů a taurinu) působí výrazně antioxidačně a snižuje poškození DNA u hospodářských zvířat¹⁷³ ad.

Stále však existuje představa, že aplikace nativní askorbové kyseliny je plně účinná a jsou hledány cesty, jak technologicky zajistit, aby v procesu výroby krmné směsi nedocházelo k rozkladu látky. Existuje návrh na složení doplňkové směsi s více vitamíny, která je odolná vůči teplotě: např. krystalická askorbová kyselina se obalí voskovou hmotou obsahující polyglycerin-hexastearat. Směs je možné použít v pekařství a cukrářství; po pečení bylo ve výrobcích údajně 98,9 % askorbové kyseliny a její biologická dostupnost byla lepší než v přípravku s kyselinou neupravenou¹⁷⁴. Místo lipofilní matrice může být použita směs s multiporézním škrobem, vlákninou z kukuřice a malým množstvím MCT a polyglycerin ricinooleatu. Směs se disperguje v ethanolu, sprejově vysuší a granulují. Po 1měsíčním skladování při 50 °C bylo ve směsi nalezeno 98 % askorbové kyseliny¹⁷⁵. Tyto dva demonstrační příklady by mohly vytvořit dojem, že tvorba derivátů je zcela zbytečná, stačí jen zvolit vhodný technologický postup. Je to však jen zdání: technologický proces a pomocné látky, které jsou přidávány jsou minimálně stejně finančně náročné jako polosyntéza askorbylderivátů a navíc jsou tyto formy charakteristické spíše pro humánní potravinářskou oblast s výrobky pro rychlou spotřebu a jen těžko lze u těchto humánních přípravků předpokládat zcela cílenou přísadu stopových prvků, iontů těžkých kovů anebo přechodných prvků (tak jako je přídavek např. klinoptilolitu nebo montmorillonitů do krmiva).

Studiu stabilních derivátů askorbové kyseliny byla a je věnována pozornost, protože to jsou látky do velké míry důležité: jsou sledovány estery, glukosidy, ketal a acetal¹⁷⁶. Poměrně časté zmínky jsou o 2-O-fosfatu a 2-O-glukosidu; např. askorbyl 2-glukosid je součástí

antistresové doplňkové směsi do krmiva¹⁷⁷ a tato forma, podobně jako L-askorbyl-2-monofosfat slouží jako zdroj vitamínu C pro mladé korejské ropušnice (*Sebastes schlegeli*)¹⁷⁸. Jak volná askorbová kyselina, tak oba zmíněné estery mají v kombinaci s chitosanem antihypercholesterolemický efekt, zvyšují hladinu IgG1 a IgG2 u telat (Japanese black, Holstein)¹⁷⁹. U askorbyl-fosfatu je diskutován inhibiční vliv na metastázy některých tumorů a telomery DNA¹⁸⁰.

Odhlédneme-li od použití volné askorbové kyseliny, pak další nejběžněji používanou formou je podle literatury askorbyl-2-fosfat nejčastěji ve formě alkalických solí nebo solí alkalických zemin^{181,182}. Tato forma se používá jako součást krmiva při chovu mořských garnátů¹⁸³ a ve formě hořečnaté soli jako efektivní inhibitor oxidačního stresu, jak bylo prokázáno na kuřatech, kterým byl podán 2,2'-azobis(amidinopropan) dihydrochlorid¹⁸⁴.

Z dalších derivátů je stabilní sloučeninou cholin-askorbat uplatnitelný v krmivářství^{185,186}.

V poslední době se začíná provádět stále více pokusů s aplikací vitamínu E (nejčastěji D,L- α -tokoferyl-acetatem, protože přírodní forma, směs všech 4 izomerů, je sice vysoce účinná, ale výrazně drahá, protože se získává superkritickou extrakcí z obilných klíčků); nejedná se jen o antioxidační přísadu, která by měla zajišťovat v interakci s askorbovou kyselinou redoxní procesy, jak bylo uvedeno dříve, ale tento terpen má přímo zvyšovat kvalitu živočišných produktů: při současné aplikaci celého lněného semena (*Linum usitatissimum*) a tokoferolu byl pozorován vzestup hladin α -linolenové kyseliny a tokoferolu v mléce krav¹⁸⁷, směs tokoferolu, selenu a alkalických solí (nebo solí kovů alkalických zemin a amonných) mastných kyseliny (lněný olej) vytváří doplňkovou směs, po jejíž aplikaci se zvyšuje v masě zvířat hladiny ω -3 a ω -6 mastných kyselin¹⁸⁸, přísada vitamínu E do krmiva nosnic zvyšuje hladinu tokoferolu ve vejcích¹⁸⁹. V humánní potravinářské praxi se uplatňuje především D,L- α -tokoferyl-acetat; v živočišné výrobě se ukazuje také jako použitelný fosfát a jeho soli¹⁹⁰. Je to zcela pochopitelné: acetat je látka výrazně lipofilní, i když je v krmivu dispergován na velkém povrchu, může dojít k nižšímu vstřebávání, protože pro resorpci potřebuje dostatečné množství tuků a krmiva pro hospodářská zvířata nebývají na tuky bohatá. Naopak alkalický fosfát tokoferolu je látkou výrazně hydrofilní, při přípravě krmiva se disperguje na velkém povrchu, po příjmu zvířetem se rozpustí ve vodném prostředí GIT, lipasami se rozštěpí a z velkého povrchu podstatně lépe vstřebá. Svědčí o tom sdělení, které doporučuje využít kyselinu křemičitou (voluminózní silikagel) pro sorpci málo polárního D,L- α -tokoferyl-acetatu¹⁹¹.

Z dalších lipofilních vitaminů existují údaje o použití 25-hydroxycholecalciferolu jako doplňkové látky pro zlepšení tibiální dyschondroplazie u drůbeže, resp. pro udržení hmotnosti zvířat¹⁹². Aplikace forem vitaminu D je záležitostí velmi důležitou, je spojen s kaskádou fyziologických procesů růstu, v organismu se však kumuluje a mohou nastat nežádoucí stavy, zejména při nevhodné technologii přípravy krmiva. Jeho toxicita je snižována současnou aplikací forem vitaminu A, většinou se však tato záležitost řeší přidavkem β -karotenu (β, β' -karoten), který je komerčně dobře dostupný, laciný a stabilní. Tato symetrická molekula je metabolickým prekurzorem vitaminu A z něhož v potřebném množství v organismu vzniká.

Jako aditivní látky se uplatňují také někdy vitaminy K, často však vitaminy skupiny B, které jsou velmi důležité zejména pro růst (elicitory intermidárního metabolismu), vývoj srsti a zdravý stav nervového systému. Jsou to látky poměrně choulostivé, po jejich přidání do kompletní krmné směsi nastává z nemalé části jejich rozklad. Proto jsou hledány cesty, jak aplikovat komplexní směsi vitaminů do krmiva a přitom zajistit, aby od okamžiku výroby až po dobu spotřeby jejich obsah výrazně v krmivu neklesal. Vývoj je hledán jak ve formách tekutých¹⁹³, tak pevných: byl zpracován návrh na směs vitaminů a dalších doplňkových látek pro nosnice¹⁹⁴, stabilní směs obsahující vitaminy a karotenoidy, sloužící především jako zdroj vitaminu A¹⁹⁵, komplexní doplňková směs s obsahem nejen vitaminů a karotenoidů, ale i minerálních látek, flavonoidů, koenzymu Q10 a ω -3 mastných kyselin¹⁹⁶. Pro stabilizaci a řízené uvolňování vitaminů ze směsi byla navržena směs s obsahem polyionických hydrogelů založených na xanthanu a chitosanu¹⁹⁷.

3.9.2 Vitageny

Do skupiny tzv. vitagenů patří cholin; nejedná se o vitamin, ale látku pro metabolismus velmi důležitou: zasahuje jako koenzym do oxidačních procesů při metabolismu lipidů, zvyšuje využití vitaminů rozpustných v tucích a zasahuje do metabolismu jako přenašeč methylových skupin. Jeho nedostatek vede k tukové degeneraci jater; v tomto směru je také perorálně i parenterálně používán s methioninem a vitamíny skupiny B. Organismus jej získává štěpením fosfolipidů (lecitinu), někdy je však vhodné přidávat jej jako doplňkovou látku. Ve výživě hospodářských zvířat se uplatňuje velmi významně, působí jako urychlovací faktor vývoje organismu a je podáván spolu s některými organickými kyselinami (sorbovou, benzoovou, propionovou, mravenčí a fumarovou) pro zlepšení růstu a udržení plnoprodukčního zdraví zvířat¹⁹⁸. Alternativní aplikaci představuje také podání stabilní soli – askorbátu, která má navíc tu výhodu, že vnáší do biologického systému vitamin C¹⁸⁶. Byla také vypracována metoda pro stabilizaci cholin chloridu sorpcí na kukuřičný škrob a lignin¹⁹⁹.

3.10 Báze nukleových kyselin, nukleosidy, nukleové kyseliny a jejich fragmenty

Tyto látky jsou v humánní sféře používány minimálně 8 let; někteří producenti nutraceutik přidávají nukleové kyseliny do potravin pro zvláštní výživu a deklarují jejich účinek: zvýšení proteosyntézy, zvýšení imunity, celkové odolnosti organismu aj. aktivity. Tyto účinky jsou však diskutabilní: je jisté, že podané nukleové kyseliny nemohou sloužit jako intaktní komponenty proteosyntézy, protože jsou pro lidský organismus zcela cizím materiálem (v GIT dojde běžně k depolymeraci řetězců). Látky jsou přidávány v malých množstvích a je otazné, do jaké míry mohou tato malá množství elicitovat nějaký biologický účinek. Potvrzený efekt však mohou vyvolat hydrolýzou vzniklé nukleosidy, jak to bylo prokázáno poprvé už ve dvacátých letech a to zejména svojí kardiovaskulární aktivitou. Zajímavou aktivitu však vykazují také některé báze (např. uracil).

Nukleové kyseliny a jejich prekurzory jsou materiálem netoxickým, složeným z velké části z nukleotidů, jsou tedy zdrojem makroergně vázaných fosfátů na nukleové báze. Tyto štěpy, vznikající v GIT mohou být proto spolu s látkami stejného charakteru, vzniklými při zpracování potravy využity samostatně při výstavbě buněk a mohou pozitivně ovlivňovat kardiovaskulární systém a posílit zdraví.

V oblasti živočišné výroby byly navrženy deriváty uracilu jako stimulatory růstu, které zároveň snižují obsah tuku ve tkáních zvířat²⁰⁰, oligonukleotidy z kvasničné RNA ovlivňují příznivě imunitu a odolnost vůči chorobám hybridů okouna (*Morone chrysops*, *M. saxatilis*)²⁰¹. Podobným účinkem disponuje koncentrát nukleových kyselin, využitelný jako součást krmiva pro hospodářská zvířata: má imunostimulační a růstově-potenciační efekt²⁰².

4. SEKUNDÁRNÍ METABOLITY

4.1 Organické kyseliny a alkoholy

Některé alifatické polyoly přidávané do krmiva snižují zápach feces²⁰³. Směs 1,2-propadiolu s glycerolem, methyl-propionatem, glycerol-propionatem a dalšími minoritními složkami (ve formě sirupu) slouží jako glukogenní směs profylakticky nebo kurativně při hypoglykemii u přežvýkavců²⁰⁴.

Častěji než alkoholy jsou však používány organické kyseliny. O tzv. nižších mastných kyselinách (alifatické kyseliny C-1 až C-5) bylo napsáno velmi mnoho, protože to jsou látky už široce používané s antifungálním účinkem (aplikace na obilniny, do siláží atd.) a jsou to

produkty probiotických mikroorganismů ve střevě. Zde stojí za zmínku jen několik patentových sdělení, zahrnující tyto látky jako látky doplňkové, podávané přímo v premixech nebo krmivu. Propionat vápenatý (případně sodný) ve směsi se síranem železnatým a síranem měďnatým vykazuje dlouhodobou antibakteriální aktivitu vůči druhům *Salmonella*²⁰⁵. Propionat vápenatý (v dávce 0,04-0,29 g/kg hm.) ve směsi s proteinovým nosičem může být použit pro snížení inzulínové rezistence a zvýšení hmotnosti u přežvýkavců. Navozená zvýšená citlivost k inzulínu zlepšuje stav organismu a může zvýšit reprodukční charakteristiky u přežvýkavců²⁰⁶. Butyrát vápenatý (případně sodný) a ethyl-butyrát jsou hlavní součástí směsi pro zlepšení digestivních procesů; k této směsi mohou být přidány ještě další komponenty²⁰⁷. Jako nosič karboxylových kyselin a některých solí jsou doporučovány upravené řepné řízky, které jsou podstatně výhodnější než dříve používané anorganické nosiče jako silikagel, perlit, vermikulit aj. Tato nevstřebatelná vláknina má příznivé efekty v GIT, nejedná se jen o nosič a adsorbent, ale je zvířaty v krmivu příznivě přijímána²⁰⁸.

Z nenasycených kyselin existuje zmínka o aplikaci polyakrylátu sodného (0,1 % v krmivu), která brání vývoji edematózních onemocnění (stavů) u selat²⁰⁹.

Poměrně velký význam budou hrát v blízké budoucnosti některé keto- a hydroxykyseliny. Byly prováděny pokusy zaměřené na absorpci a metabolismus 2-oxoglutarátu (α -ketoglutarátu) u rostoucích selat. Bylo zjištěno, že látka má nízkou enterální dostupnost (koncentrace v periferních tkáních je nízká), protože je absorbována jen v žaludku a duodenu, nebo je metabolizována mikrobiálně v žaludku²¹⁰. Škoda, že nejsou k dispozici práce, které by poskytly ucelený náhled na biologickou využitelnost 2-oxoglutarátu, bez ohledu na místě jeho resorpce, protože je to velmi zajímavá věc: ornithin-2-oxoglutarát (OKG) je látkou, používanou intenzívně v humánní nutriční praxi a má se obecně za to, že kromě ornithinu se na celkově anabolizujícím a ochranném účinku podílí také 2-oxoglutarát. 3-Hydroxy-3-methylbutyrát (HMB) má podobné využití jako OKG; u tohoto leucinového metabolického produktu je však osud v organismu znám a lze jej považovat za validní prostředek pro zvýšení hmotnosti, síly a celkového zdraví zvířat; byla vypracována metoda jeho syntetické výroby a zároveň návrh aplikační pevné formy do krmiva²¹¹.

Hydroxykarboxylové kyseliny specifické chirální konfigurace jsou připravovány pomocí katalýzy proteolytickými enzymy; vzniklé oligomery mohou být využity u přežvýkavců jako doplňkové látky pro zvýšení biologické dostupnosti aminokyselin, jsou rezistentní vůči degradaci v rumen, ale i v GIT dalších živočichů jako jsou prasata, slepice nebo vodní živočichové²¹². Pro regulaci zažívacích procesů byly navrženy některé poly(hydroxykarboxylové kyseliny), např. poly(mléčná kyselina). Tyto polymery snižují pH

v GIT, tím redukuje symptomy jako je flatulence, měkké (nestrukturované) feces v důsledku činnosti bakterií produkujících amoniak a aminy²¹³. 3-Hydroxyalkanoátové oligomery, vycházející z 3-hydroxykyselin (3-hydroxymáselná, -valerová, -hexanová, -heptanová) mají schopnost ovlivňovat obsah ketolátek v krvi, tím snižovat dispoziční ke křečím, příznivě ovlivňovat metabolické choroby (např. snižovat inzulínovou rezistenci), snižovat proteinový katabolismus a odstraňovat nechuť k příjmu potravy²¹⁴. Di- a trikarboxylové kyseliny (fumarová a citronová) mohou sloužit jako doplňková přísada do startérů při výživě prasat²¹⁵.

Z derivátů organických kyselin je nutné jmenovat některé hydroxamové kyseliny (acetohydroxamovou, propiohydroxamovou a benzhydroxamovou), které mohou ve formě aditiv do krmiva úspěšně fungovat jako inhibitor mikroorganismů produkujících ureasu u přežvýkavců²¹⁶. Jako zajímavá látka pro živočišnou výrobu se ukazuje 2-amino-4-methylthio(S-oxo-S-imino)máselná kyselina využitelná jak v drůbežářství (slepičí brojleři, kachny), tak u skotu a prasat. Látka zvyšuje denní přírůstky, má příznivý vliv na kvalitu vepřového masa, stimuluje imunitu a zvyšuje adaptaci zvířat vůči stresovým faktorům²¹⁷.

Z přírodních alifaticko-aromatických nebo zcela aromatických kyselin se ukázaly jako významné rosmarinová a gallová kyselina. Rosmarinová kyselina (získatelná komerčně ve formě koncentrátů z listů *Salvia officinalis* nebo *Rosmarinus officinalis*) má ve volné formě, nebo ve formě solí, esterů nebo amidů významné antioxidační účinky a může být přidávána do krmných surovin, které relativně snadno podléhají oxidačním procesům²¹⁸. Spolu s kyselinou gallovou, vitaminy E a C, kurkuminem a dalšími složkami je využitelná pro zvýšení celkové antioxidační kapacity u zvířat, zvýšení sérových hladin vitamínu E a odolnosti vůči oxidaci LDL²¹⁹.

Z aromatických karboxylových kyselin je uváděna kyselina pikolinová a její deriváty, které mohou být využity jako chelatační agens kovů obsažených v metaloproteinech a enzymech zodpovědných za růst, replikaci a zánětlivé reakce. Přípravky mohou být použity jako antineoplastika, antivirové, protizánětlivé analgetické prostředky²²⁰.

Zvláštní postavení zaujímá huminová a fulvinová kyselina (kyseliny). Tyto ryze přírodní látky kyselé povahy vznikají při humifikaci biologického materiálu a připravují se v současnosti biotechnologicky. Fungují jako přírodní elektrolytové složky, které mohou vytvářet rovnováhu a energetický převod v biologických systémech a zlepšovat tak biologickou dostupnost řady kationtů pro buněčný životní cyklus. Podporují vytvoření elektrochemické rovnováhy systémem donor-akceptor, působí jako silné přírodní zametače volných radikálů a antioxidanty, mají komplexotvorné a rozpouštěcí schopnosti pro řadu makroelementů a stopových prvků, zvyšují nutriční dostupnost řady elektrolytů a jejich

využitelnost, katalyzují enzymové reakce, stimulují metabolismus, působí jako detoxikans některých polutantů (Paraquat), podílí se údajně na zvýšení rozpustnosti oxidu křemičitého, zlepšují růst tkání, zvyšují permeabilitu buněčných membrán, metabolismus proteinů, aj. Směs obou kyselin (25 % v přípravku) působí jako růstově-stimulační faktor ve výživě hospodářských zvířat²²¹.

4.2 Fenolické látky

Existuje běžná představa podporovaná literaturou, že fenolické látky z rostlin mají antinutriční charakter. Tato představa vychází z reálné chemické představy o reaktivitě fenolické skupiny s funkčními skupinami proteinů. Přesto však existuje řada prací, které ukazují, že ne všechny fenolické látky jsou antinutričním činitelem ve výživě zvířat a to platí dokonce i o polyfenolech a některých tanninech.

Nejrozšířenějšími fenolickými látkami jsou flavonoidy a třísloviny. V případě flavonoidů neuvádí literatura žádné významné údaje o možnostech jejich získávání s cílem suplementace krmiva až na údaj, uvedený níže v kapitole o tříslovinách. Jsou to látky velmi běžně se vyskytující v pícninách, jejich biologická aktivita se projevuje až ve vyšších dávkách. Za jediný validní údaj lze uvést tři nové chalkonové deriváty z kořenů *Angelica keiskei*, které lze použít jako doplňkové látky (nejspíše ve formě extraktu) preventivně k ochraně nervových buněk, k regulaci tvorby oxidu dusnatého, inhibici aldosa-reduktasy a k regulaci tvorby interleukinů v tkáních²²². Druhou skupinou látek jsou izoflavony, které jsou v živočišné výrobě velmi běžné (jedná se o dominantní sekundární metabolity rostlin z čeledi Fabaceae – především jetelů, vojtěšky a soji), dosud jim není věnována však žádoucí pozornost. Látky mají významnou biologickou aktivitu – působí antioxidačně, estrogeně a antikancerogenně, jejich případné vedlejší efekty a to jak na zdraví zvířat při zkrmování, tak na pozdějšího uživatele nejsou ještě naprosto přesně známy. Je jisté, že u přežvýkavců jsou tyto látky téměř dokonale rozštěpeny, u monogastričních živočichů však není záležitost ještě zcela vyjasněna. Zajímavý je údaj o obsahu těchto isoflavonů v siláži z jetele lučního (*Trifolium pratense*) a štírovníku růžkatého (*Lotus corniculatus*). Byl sledován genistein, formononetin a biochanin A a to jak v průběhu ontogeneze, tak v konečném produktu: pokud byla siláž připravena za inokulace *Lactobacillus plantarum*, byl obsah biochaninu A a genisteinu (hladina formononetinu byla v rostlinách při sklizni nízká) vyšší než za použití mravenčí kyseliny²²³.

Druhou, relativně uzavřenou skupinu fenolických látek tvoří obsahové sloučeniny rostlin rodu *Curcuma* (Zingiberaceae). Látky jsou souhrnně označovány jako kurkuminoidy a

hlavními účinnými složkami jsou kurkumin a tetrahydrokurkumin. Práškované suché kořeny kurkumy (*Curcuma longa*) mohou být ve směsi s manooligosacharidy alternativní náhradou antibiotik u brojlerových kuřat. Po aplikaci dochází k výrazné inhibici duodenálních koliformních bakterií, kvasinek a plísní ve slepém střevě a všech živých mikrobu v ileu. Kurkuma také snižuje depozici tuku u sledovaných brojlerů²²⁴. Kurkuminoidy lze z rostlinného materiálu snadno izolovat ve formě sumární směsi; pro jejich další použití je vhodná stabilizace²²⁵. Deriváty kurkuminu lze také použít v prevenci a ovlivňování některých onemocnění ledvin²²⁶. Inhibitory zabraňující zvyšování hladiny neutrálního tuku v krvi hospodářských zvířat obsahují tetrahydrokurkumin a jeho alkoxyderiváty²²⁷.

Další velkou a použitelnou skupinou fenolických látek jsou polyfenoly (většinou oligomerní procyanidiny) a jejich monomerní stavební jednotky katechin, gallokatechin, epikatechin a epigallokatechin. Byla vytvořena doplňková směs do krmiva pro domácí zvířata obsahující laktoferrin, epikatechin-gallat a antioxidační vitaminy pro prevenci a ovlivnění tvorby plaku, nemocí periodontu a halitózy; směs zároveň zvyšuje antioxidační kapacitu celého organismu²²⁸. Směs polymannos (guarová guma, polygalaktomannan aj.) s polyfenolovými monomery jako (+)-katechin, (+)-gallokatechin, (-)-epigallokatechin-gallat ad. je navržena pro zvýšení produktivity drůbeže. Po aplikaci doplňkové směsi do krmiva bylo zjištěno zvýšení hmotnosti vajec, působila preventivně proti snížení obsahu vitamínu E a mastných kyselin ve vejcích v průběhu skladovací periody. Rovněž bylo prokázáno snížení cholesterolu v kuřecím mase²²⁹. Mohou se uplatnit také profylakticky i terapeuticky při dysfunkci rumen u přežvýkavců (ketózy, proventrikulární nadýmání aj. choroby); aditivní směs obsahuje téměř všechny dříve jmenované monomery a jejich gallaty²³⁰.

Polyfenoly, které vznikají kondenzací výše uvedených monomerních jednotek, budou mít s největší pravděpodobností také význam. Jako doplňková látka mohou zlepšit v krmivu pro hospodářská zvířata intestinální motilitu²³¹, ve směsi s hemicelulózami je lze použít pro ovlivňování gastrointestinálních potíží zvířat²³², procyanidiny ve formě sumárního extraktu jsou efektivní jako inhibitory adherence bakterií s p-typem fimbrií (např. P-typu *Escherichia coli* v zažívacím traktu skotu); jedná se o zástupce čeledí Ericaceae, Rosaceae, Vitaceae a Pinaceae, které jsou těmito látkami bohaté²³³. Směs škrobu, jedné nebo více používaných organických kyselin nebo jejich solí a přírodního polyfenolu přidaná do krmiva zvyšuje jeho hygienický stav a zlepšuje zdravotní stav hospodářských zvířat²³⁴. Podobně jako monomery, stejně tak oligomerní polyfenoly (procyanidiny) zvyšují hmotnost vajec nosnic (White Leghorn); aditivní směs obsahovala kromě extraktu ze semen grapefruitu s obsahem 14 % procyanidinů rýžové otruby, uhličitan vápenatý, extrakt z papriky a běžný nutriční základ

složený z cereálií a moučky ze semen po lisování oleje²³⁵. Tyto látky jsou používány také v produkčních kulturách ryb, kde mají působit preventivně proti negativním oxidačním procesům zejména v průběhu chladového skladování²³⁶ a pro zlepšení tvorby pokožkové vrstvy hlenu²³⁷. Velmi výhodná se ukázala také směs karotenů (astaxanthin, kantaxanthin) s procyanidiny; umožňuje snížit množství použitých karotenoidů, vybarvuje ryby (pstruh) a snižuje obsah peroxidických látek v rybím mase, což je důležité zejména pro skladování²³⁸.

Jako doplňkové látky do krmiva mohou být použity fyziologické tanniny z listů banánovníku (*Musa* sp.)²³⁹. Třísloviny z rodů *Aesculus*, *Castanea*, *Quercus*, *Juglans*, *Ceratonia*, *Quillaja*, *Vitis*, *Camellia* mohou být použity ve směsi s flavonoidy z citrusových plodů nebo vinných hroznů jako promotory růstu zvířat²⁴⁰. Směsi tanninů mohou být použity jako aditiva s novými možnostmi ve výživě zvířat²⁴¹.

Fenolickou povahu má také zvláštní skupina látek, tzv. složené acetogeniny, které jsou v tomto případě zastoupeny humulovými kyselinami; tyto látky, přidané do krmiva, zvyšují jeho příjem a energetickou utilizaci v chovech. Mohou fungovat jako určitá alternativa antibiotik, inhibují růst nežádoucích bakterií v GIT, zvyšují produkci propionátu a laktátu ve střevech a snižují tvorbu methanu²⁴².

4.3 Terpeny

Terpeny jsou širokou skupinou látek s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a biologickou aktivitou v závislosti na velikosti molekuly a vlastní struktuře. Skelet je vystaven z reaktivních C₅-isoprenových jednotek. V závislosti na jejich počtu hovoříme o monoterpenech běžné struktury (silice, oleoresiny, iridoity, celkově C₁₀), seskviterpeny (silice, kapalně seskviterpenické laktony, C₁₅), diterpeny (pevné, C₂₀), triterpeny a steroidy (pevné, saponiny, ekdysteroidy, fytosteroly, modifikované triterpeny, C₃₀) a karoteny (pevné, žluté až červené, C₄₀). Ostatní skupiny látek nejsou z tohoto pohledu zajímavé, a proto o nich nebude zde pojednáno.

4.3.1 Mono- a seskviterpeny

Účinek některých silic a jejich složek (thymol a fenylypropanový derivát cinnamylaldehyd) byl sledován na brojlerových slepicích. Byly zjišťovány různé fyziologické parametry, které mají vztah k výživě. Výsledky nepotvrdily pozitivní efekt na růstové charakteristiky kuřat, není však vyloučeno, že pozitivní účinek by se objevil v horších hygienických podmínkách za použití méně kvalitního krmiva²⁴³. Je-li sledován experimentálně thymol, pak většinou jsou prováděny pokusy také s jeho polohovým izomerem karvakolem, protože v silicích se tyto

složky vždy vyskytují. Terpen snižoval u brojlerových slepice hmotnost, ale zvyšoval konverzi krmiva, snižoval hladinu plazmatických triglyceridů, neovlivňoval však hladinu plazmatického cholesterolu²⁴⁴. U krůt byla použita silice z dobromysli (jejíž hlavní součástí je thymol a karvakrol) a/nebo α -tokoferol a to jak ve zkrmovacím režimu, tak post-mortem. Aplikace jak silice, tak tokoferyl-acetatu do krmiva vykazala vysokou antioxidační aktivitu. Post-mortem aplikace jak silice tak vitamínu snižovala lipidovou peroxidaci v mletém masu ve srovnání s kontrolou, avšak tento efekt byl nižší než efekt krmivářské suplementace ačkoliv suplementace α -tokoferolu obsahovala 90x více látky než produkt z krmivové suplementace masa. Maso ze stehien bylo k oxidaci náchylnější než prsní maso, ačkoliv ve stehenním masu bylo podstatně více α -tokoferolu²⁴⁵. U sloučenin kafru bylo prokázáno, že podporují uvolňování růstového hormonu²⁴⁶. U přežvýkavců byla zkoušena směs silic a saponinů; některé z kombinací navodily optimální hladinu ruminálních proteinů (mezi 55-65 %), která je žádoucí pro trávicí procesy²⁴⁷. Ethanolový extrakt z listů blahovičníků (*Eucalyptus grandis*, *E. botryoides*, *E. globulus* aj.) vykázal ve směsi s chitosanem synergickou antimikrobiální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Escherichia coli*. Tato směs inhibuje také růst *Propionibacterium acnes*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger* a *Penicillium citrinum*. Směs je možné aplikovat na různé živočišné produkty²⁴⁸. Těkavé a vonné jsou rovněž různé typy alifatických sulfidů z rodu *Allium*, ačkoliv se nejedná o nízkomolekulární terpeny: hlavní obsahová složka česneku – allicin – může být použit a při léčbě leishmaniázy, má desinfekční nebo biocidní účinky na různé vodní druhy organismů, může se uplatnit jako antimikrobiální přísada do krmiva pro zvířata, do potravin, jako antiparazitický a antibakteriální prostředek u včel nebo při léčbě GIR-SA (Glycopeptide Intermediate Resistant *Staphylococcus aureus*)²⁴⁹. Při aplikaci silic je velmi důležitá jejich technologická úprava: jedná se o přírodní směsi poměrně citlivé, prchavé, které musí být vhodně upraveny tak, aby se mohly v GIT zvířat okamžitě uvolnit a v co nejvyšší míře vstřebat. Takovou představu umožňuje splnit enkapsulace emulzí typu o/w za přítomnosti přírodního polymeru. Při její technologické realizaci je možné použít nejenom silic, ale také sumárních extraktů s určitým podílem silice²⁵⁰.

4.3.2 Steroidy

Aplikace steroidních látek je zastíněna určitými názorovými problémy, existuje domněnka, že podání rostlinných steroidů do krmiva zvířat je nepatřičné, protože může vyvolat hormonální nerovnováhu u pozdějšího uživatele. Ačkoliv tato domněnka nebyla

nikdy prokázána, existuje v aplikaci ekdysteroidů jistá zdrženlivost. U těchto přírodních derivátů 5 β -cholest-7-en-6-onu, především nejdostupnějšího ekdysteronu (β -ekdysonu, 20-hydroxyekdysonu) byl prokázán proteosyntetický efekt²⁵¹, donedávna se však v živočišné výrobě významně nevyužíval (za to je však významně využíván při výrobě potravních doplňků): ruští autoři navrhli dvě kombinace přípravku (Metaveron) jako doplňkové směsi do krmiva zvířat s obsahem 5,6 % ekdysteroidů (směsi 20-hydroxyekdysonu, inokosteronu a α -ekdysonu) z *Serratula coronata* s obsahem aminokyselin, mono- a oligosacharidů, flavonoidů (rutin, kvercetin) a solí organických a minerálních kyselin, která má určité anabolické účinky, příznivě ovlivňuje reprodukční funkce samců (kvalitu spermatu). Je kuriózní, že u látky byl nalezen také estrogenní účinek²⁵². Záležitost ekdysteroidů je tématem pro širší odborné fórum, které by mělo validně zhodnotit možnosti jejich využití v živočišné výrobě.

4.3.3 Triterpeny (saponiny)

Triterpeny, zejména pentacyklické, jsou zcela přirozeným metabolitem řady vyšších rostlin a setkáváme se s nimi v rostlinném materiálu poměrně běžně. Oleanolová a medikagová kyselina jsou dvě nejběžnější látky tohoto typu, které jsou zvířaty patrně nejvíce konzumovány, protože jsou běžnou součástí píce. Pentacyklické triterpeny jsou v převážné míře aglykonem triterpenických saponinů, o nichž existuje představa, že jsou látkami antinutričními. Je nepochybné, že některé saponiny antinutriční efekt vykázaly (je však otázkou, jak byly pokusy nastaveny, o jaký typ zvířat se jednalo a jaká statistická metoda byla pro zhodnocení použita), tyto výsledky však nelze pokládat za charakteristické účinky celé skupiny látek. Jako jeden příklad za všechny mohou sloužit saponiny r. *Quillaja*, která mají ve výrobě doplňkových směsí své nezastupitelné místo.

Je obecnou zvyklostí dělit saponiny na triterpenoidní a steroidní; každá skupina má svoje specifické účinky. Z hlediska praktické využitelnosti jsou na prvním místě saponiny triterpenoidní. O jejich biologických účincích a použití jako doplňkových látkách do krmiva se poměrně široce diskutuje, např.^{253,254}; je o nich také uvažováno jako o aktivních látkách při šlechtění a výkrmu ryb a koryšovitých živočichů²⁵⁵. Byla navržena protiprůjmová směs pro savce (s možností použití jak preventivního tak terapeutického) složená ze sacharidů, proteinů, fytoosterolů a/nebo pentacyklických triterpenů (saponinů) získaných rafinací oleje z *Butyrosperma* (Shea oil; *Butyrosperma parkii*)²⁵⁶. Jak triterpenoidní saponiny (*Quillaja*), tak saponiny steroidní (*Yucca*) jsou primární složkou pro aditivní směs navrženou pro drůbežářství, resp. produkci vajec, která mají sníženou hladinu cholesterolu²⁵⁷. Ze steroidních saponinů je pozornost věnována také evropské rostlině – pískavici řecké seno (*Trigonella*

foenum-graecum), jejíž steroidní saponiny mohou být součástí krmných aditiv²⁵⁸; steroidní saponiny a jejich deriváty mohou být použity k ovlivňování neurodegenerativních onemocnění²⁵⁹. Saponiny mohou být ve směsi s dalšími typy sekundárních metabolitů rostlin (např. silicemi) prostředkem k ovlivňování fermentačních ruminálních procesů, což může přinést velký užitek ve velkochovech²⁶⁰.

4.3.4 Karotenoidy

Tetraterpenické karotenoidy jsou v posledních několika letech používány stále častěji. Prací, které jsou na toto téma publikovány je mnoho a bylo by zbytečné je vyčíslovat, proto se soustředíme jen na charakterizující průřez tímto tématem. Karotenoidy (což je souhrnný název pro uhlovodíkové karoteny a jejich kyslíkaté deriváty xanthofyly) jsou získávány z různých zdrojů a podávány v různých formách (tekuté, pevné) ovšem vždy s cílem dosáhnout maximální biologické dostupnosti. Jsou výrazně nepolární, málo rozpustné ve vodě, barevně se pohybují od oranžové až po temně červenou, mají významnou antioxidační aktivitu, působí také imunostimulačně a antikancerogenně a vždy se distribuují především do tukových tkání. Získávají se z různých zdrojů, např. trávy annatto – *Bixa orellana* (bixin)²⁶¹, z řasy *Dunaliella* (β -karoten), z kvasinky *Xanthophyllomyces dendrorhous*, z květenství *Tagetes* aj. Protože jsou v současnosti už biotechnologicky dobře dostupné, jsou relativně laciné a mohou být tedy poměrně široce využívány. Nejběžnější je stále použití β -karotenu, který kromě své provitaminové funkce funguje sám o sobě jako suverenní látka zasahující do metabolismu zvířat. Byla připravena aplikační prášková forma, dobře dispergovatelná ve studené vodě, kterou je možné použít k různým účelům²⁶², (a to nejen pro β -karoten)²⁶³, ve formě granulátu, obsahujícího suchou tkáň řasy *Dunaliella*, rýžové otruby, vitaminy D₃ a vitamin E je použit ke zvýšení kvality vajec (snížení obsahu cholesterolu) a masa slepičích brojlerů²⁶⁴, případně ke zvýšení imunity různých hospodářských zvířat²⁶⁵. Sušená tkáň řasy *Dunaliella* je ve formě pelet spolu s dalšími složkami (uhličitanem a propionatem vápenatým, kvasnicemi, sojovou moučkou, melasou ad.) používána u mléčných krav k prevenci mastitid a jako prostředek pro zvýšení vitamínu E a β -karotenu v krvi zvířat²⁶⁶. Tento karoten je získatelný také z kvasinky *Rhodotorula glutinis*, mutant 32, která funguje jako jeho alternativní zdroj²⁶⁷. Jedním z významných zdrojů pro získávání karotenoidních látek jsou květenství aksamitníku (*Tagetes* sp.): obsahují ze strukturního hlediska různé sloučeniny, které je možné z nich izolovat a použít (kromě β -karotenu neoxanthin, violaxanthin, lykopen, α -kryptoxanthin, astaxanthin)²⁶⁸; většinou se však s dobrými výsledky používá sumární směs.

Deriváty karotenů se velkou měrou používají k zabarvení vajec, ryb a koryšů²⁶⁹, masa²⁷⁰, konkrétně k vybarvení rybího těla a lesku rybího masa²⁷¹. Zbarvení vaječného žloutku se dosahuje velmi dobře červeně zbarvenými karotenoidy²⁷², mezi které patří především astaxanthin. V poslední době je to nejžádanější karotenoid. Je možné jej připravit biotechnologicky z kvasinek *Xanthophyllomyces dendrorhous*^{273,274} a *Pfaffia rhodozyma*²⁷⁵. Tento karotenoid je velmi vhodný při chovu vodních živočichů (lososa, pstruha, garnátů) u nichž zlepšuje příjem krmiva a růst (použitou surovinou byly rostliny r. *Tagetes*)^{276,277}. Pro tyto účely je možné také použít diestery astaxanthinu s ω -3 mastnými kyselinami²⁷⁸. Mohou však být používány také vodorozpustné formy astaxanthinu – glykosidy připravené rekombinantně (*Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum*, *Escherichia coli*)²⁷⁹. Běžně se však do krmiva užívají komplexy s cyklodextrinem (jsou lacinější), při uskladňování se málo rozkládají a biologická dostupnost astaxanthinu je velmi dobrá²⁸⁰.

5. MIKROBIÁLNÍ PRODUKTY

Tato oblast zahrnuje relativně velké množství prací, týkajících se především probiotických bakterií z nichž některé jsou nové, anebo představují nový invenční záměr.

V oblasti zástupců r. *Lactobacillus* jsou hledány nové taxony, resp. chemovary s prakticky velmi využitelnými účinky; v této souvislosti byla publikována zpráva o novém druhu – *Lactobacillus equi*, který vytváří povlak na povrchu epiteliálních buněk gastrické mukózy. Je rezistentní vůči širokému spektru antibiotik a může být použit jako doplňková látka v ochraně zvířat před průjmy²⁸¹. Některé probiotické kmeny rodu *Lactobacillus* mají také schopnost vázat aflatoxiny G1, G2 a B2; např. aflatoxin G1 je vázán různou mírou druhy *Lactobacillus acidophylus* CU028 a *L. brevis* CU06 (ca z 50 %), G2 je sorbován z 67 % na *L. acidophylus* CU028, B2 se navazuje na *L. acidophylus* a *L. brevis* (38 až 55,9 %). Je tedy patrné, že kmen *L. acidophylus* CU028 je vhodný jako přísada do krmiva ve smyslu jeho detoxikace²⁸². Kromě rodu *Lactobacillus* jsou pochopitelně používány další vhodné kmeny: pro *L. acidophylus* nebo *Enterococcus faecium* byla vypracována metoda imobilizace, umožňující dosáhnout adekvátní životnosti přípravku²⁸³. Zajímavé jsou také druhy mikroorganismů, které spontánně produkují fytázu, rozkládající fytoovou kyselinu, která není příznivým faktorem při výživě kuřat a prasat. V tomto případě se jedná o *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (KFCC-11042), který vykazuje vysokou fytázovou aktivitu. Mikroorganismus může být produkován ve velkých množstvích a je využitelný jak k přímé aplikaci do krmiva, tak k produkci fermentovaného krmiva²⁸⁴. Jako promotor růstu skotu, koz a prasat mohou být použity také směsné kultury mikroorganismů vhodného profilu

(*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium longum*) s digestivními enzymy (amylasa, celulasa, proteasa, lipasa, pektinasa) a některými kationty (Zn^{2+})²⁸⁵. Probioticky významný je také rod *Bacillus*: přísada lysozymu do krmiva s obsahem *B. cereus* CIP 5832 zvyšuje výrazně efektivitu tohoto probiotického mikroorganismu a krmivová směs působí jako stimulant růstu prasat²⁸⁶. *Bacillus subtilis* kmen C-3102 je součástí přípravku Calsporin: zvyšuje odolnost a pozitivní mikrobiální status brojlerových kuřat. Po porážce zvířat byl v jatečním korpusu zjištěn snížený počet koliformních bakterií (s výjimkou *E. coli*) a zástupců r. *Campylobacter*. Ve všech případech byl zjištěn r. *Salmonella*. Po vyhodnocení pokusu je jasné, že přípravek Calsporin může suplovat do určité míry antibiotika a přispět ke snížení hladiny patogenů z chovu²⁸⁷. V poslední době je také věnována pozornost probiotickému kmeni *Propionibacterium jensenii* 702. Začíná být používán jako doplňková látka pro aditivní produkci kyanokobalaminu, stimulaci růstu bifidobakterií, příznivý vliv na metabolismus lipidů a imunitní systém, snížení obsahu homocysteinu a aktivity β -glukoronidasy aj.²⁸⁸.

Probiotické mikroorganismy mohou sloužit také jako zdroj pro výrobu dalších produktů: z nově získaných kmenů *Paenibacillus* a *Bacillus* byly získány nové bakteriociny, které mohou sloužit jako prostředek ke snížení obsahu cílových bakterií v hospodářských zvířatech (drůbeži)²⁸⁹. Autolýzát methanotropních bakterií *Methylococcus capsulatus* (50-55 °C, pH 7-7,5, 4 hod.) je používán jako zchutňovací přísada do krmiva²⁹⁰. Probiotický vitamogen a $\beta(1\rightarrow4)$ galaktooligosacharidy mají velmi příznivý vliv na fyziologické procesy u mléčných krav: směs obou součástí redukuje emisi methanu u krav a přispívá tak ke snížení produkce skleníkového plynu²⁹¹.

6. ROSTLINY

Použití léčivých rostlin v produkci doplňkových látek za posledních šest let vzrůstá; za toto období nastal jen v Evropě téměř dvojnásobný nárůst produkčních firem, které se zabývají výrobou extraktů pro doplňkové směsi v zemědělství nebo přímo premixů s obsahem přírodních látek. Výzkum v této oblasti však nepokračuje tak rychle, jak by bylo vhodné; důvodem je určitá konzervativní tradice (stejná jako v případě humánní terapie), ale také skutečnost, že se jedná o složitější problém: sumární extrakty jsou často komplikované směsi, je potřeba jejich standardizace, analytické zázemí, znalost interakcí a stability látek, což vyžaduje poměrně specializovaná pracoviště. Je však nepochybné, že toto studium a jeho praktické výsledky se budou stále rozšiřovat. Nové pohledy ke klasickým přístupům,

týkajícím se použití rostlinných extraktů se intenzívně objevují zejména v oblasti náhrad antibiotických stimulátorů růstu ze zcela pochopitelných důvodů²⁹², k rozvoji welfare hospodářských zvířat²⁹³, je diskutována aplikace rostlinných látek do krmiva přežvýkavců s ohledem na zvýšení kvality mléka²⁹⁴, ovlivňování patofyziologických procesů u hospodářských zvířat rostlinnými látkami zejména z pohledu vývoje zhoubného bujení²⁹⁵. Níže uvedené údaje jsou jen průřezem oblastí, v nichž se se sekundárními metabolity rostlin setkáváme, nejedná se o detailní výpis studií, protože by to překročilo rámec této studie.

Významnou oblastí použití přírodních látek je jejich aplikace přežvýkavcům: jak je známo, nese v sobě použití látek u přežvýkavců výrazná specifika, kterými se odlišuje od použití u monogastrických živočichů, jejichž fyziologii lze do určité míry predikovat s ohledem na fyziologické procesy u člověka (zejména v případě prasat); jsou sledovány látky, které příznivě ovlivňují ruminální fermentaci. Např. extrakt ze semen *Moringa oleifera* má pozitivní efekt na metabolismus ruminálních proteinů²⁹⁶. Je také sledován účinek vybraných skupin látek, jako jsou především saponiny a silice na hyperprodukcii amoniaku, životnost ruminálních bakterií a další parametry a optimální sloučeniny, které mohou přinést potenciální zisk pro chovatele²⁹⁷. Pro produkci mléka se zvýšeným obsahem jodu se používá nejen jodičnan vápenatý, ale jako aditivní látky mleté listy *Gynostemma pentaphylla*, směs aminokyselin a kvasnice²⁹⁸.

Použití sekundárních metabolitů rostlin (ať už ve formě mletých rostlinných drog, nebo sumárních extraktů) může být příznivá pro kvalitu finálních produktů: např. směs anýzu (*Pimpinella anisum*), česneku (*Allium sativum*), pískavice (*Trigonella foenum-graecum*) a ostropestřece (*Silybum marianum*) za přísady řebříčku (*Achillea millefolium*) a/nebo křenu (*Armoracia rusticana*) prasatům ovlivnila příznivě stres a zvyšovala kvalitu masa²⁹⁹.

Pro krmivo je významné použití antioxidantů: ačkoliv jsou tyto látky v současnosti do některých citlivých surovin přidávány (BHA, BHT v olejnatých komponentách podléhajících oxidačnímu rozkladu), lze se s takovýmto přístupem jen těžko spokojit, protože se jedná o látky ryze syntetické s problematičným osudem v organismu budoucího uživatele, resp. jeho reziduálnímu časovému dopadu. V ideálních případech jsou přidávány vitamin C a vitamin E, existuje však možnost přídatku dalších rostlinných antioxidantů, praxí prověřených (oligomerní prodcyanidiny ze semen grapefruitu) s přídatkem prebiotik³⁰⁰, nebo přísadou známých fenolických a terpenických látek ze šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) nebo dobromysli obecné (*Origanum vulgare*)³⁰¹.

Velmi žádoucí je používání přírodních látek, které zvýší využitelnost krmné dávky, konverzi krmiva, přírůsteky a sníží tak náklady na výrobu 1 kg masa (aplikace pentacyklických

triterpenů a jejich derivátů)³⁰², resp. zvýší celkově zdravotní stav zvířat použitím široce prozkoumaných rostlinných surovin, např. přidavkem sumárního extraktu z listů *Aloe*³⁰³.

Specifickou skupinou přírodních látek je využití surovin široce dostupných (odpadních), které obsahují sloučeniny s antiinvazívními vlastnostmi: jako příklad je možné jmenovat extrakty z cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*) bez cukru s obsahem látek tlumících rozvoj salmonel v chovech drůbeže³⁰⁴. Tyto odpadní suroviny mohou sloužit také jako aditivní zdroj důležitých látek, jako např. taniny v případě anakardia východního (*Anacardium occidentale*)³⁰⁵.

Pro vývoj zvířat má také velký vliv podávání látek stimulujících osteogenezi. V tomto směru se mohou příznivě uplatnit jak některé látky z rostlin, např. xanthenové deriváty z kořenů *Angelica keiskei*³⁰⁶, nebo doplňková směs s obsahem kostní moučky, slunečnicových výlisků, směsi vitaminů a mletých oddenků omanu pravého (*Inula helenium*), určená pro prasata a drůbež³⁰⁷. Tento literární údaj však pro nás není významný, protože kostní moučka je v současnosti zakázána.

Některé přírodní látky mohou být používány také jako repelenty, např. hydrolyzáty z plodů medvědice (*Arctostaphylos uva-ursi*); extrakt připravený horkou vodou je navržen k použití ve formě aerolu k eliminaci methylmerkaptanu³⁰⁸.

Nakonec je nutné pohovořit o významu rostlinných zdrojů: každá lokální flóra a tradiční medicína může využít svých znalostí k rozvoji využití prostředků i v oblasti živočišné výroby; významné je to zejména u východní medicíny – indické nebo čínské, které jsou významným rezervoárem biologicky intenzivně aktivních látek³⁰⁹.

7. ZÁVĚR

Z přehledu vyplývá (ačkoliv ve studii nejsou citovány všechny shromážděné literární podklady), že současné trendy ve vývoji doplňkových látek pro živočišnou výrobu se dosud řídí následujícími pravidly:

1. v převažující míře (z kvantitativního hlediska) jsou stále používány „klasické“ doplňkové látky, jako vitaminy, minerální látky, stopové prvky, aminokyseliny a jejich deriváty, enzymy,
2. u těchto látek jsou hledány nové aplikační formy, které zajistí vyšší biologickou dostupnost ze zažívacího traktu zvířat a tím i vyšší biologický účinek, případně vyšší kvalitu konečného produktu,
3. jedná se o využití nových druhů solí nebo jiných chemických forem vitaminů aj. látek, nebo o nové formy technologické úpravy známé z oblasti farmacie nebo potravinářského průmyslu, případně o kombinaci obou postupů, což je idea, k níž je často (ale ne vždy zcela úspěšně) směřováno,
4. za posledních šest let je věnována stále větší pozornost použití sacharidů, zejména přirozených fruktooligosacharidů nebo jejich analogům připraveným biotechnologicky,
5. z primárních metabolitů se dostává stále významnější pozornosti použití esenciálních mastných kyselin, bazí nukleových kyselin a hydrolyzátů nukleových kyselin,
6. výzkum využití produktů teplokrevných živočichů významně neroste (s výjimkou bovinního laktoferinu), zato však významně roste výzkum v oblasti produktů z mořských živočichů a produktů mikrobiálního a bakteriálního původu (enzymy),
7. z hlediska studia různých látek, využitelných jako látky doplňkové, dochází k významnému využití těchto produktů v chovu ryb a měkkýšů a drůbeže,
8. při hodnocení využití sekundárních metabolitů rostlin, resp. sumárních extraktů z rostlin je patrné, že za posledních šest let dochází v této oblasti k daleko intenzivnějším nárůstu jak v počtu publikovaných prací, tak v počtu praktických aplikací, než je tomu u „klasických“ doplňkových látek; lze říci, že nejintenzivněji se rozvíjí hledání a použití nových produktů z rostlin, poněkud nižší intenzitu rozvoje zaznamenávají deriváty aminokyselin, různé sloučeniny povahy proteinů (peptidy, některé enzymy) a ve třetím pořadí se objevuje použití vitaminů a minerálních látek, které jsou pokládány patrně za dostatečně známé a výzkum v této oblasti vyžaduje daleko vyšší finanční náklady,
9. významně se zvyšuje podíl produktů získaných řízenými biotechnologiemi než produktů, které jsou připravovány dosud klasickými způsoby,

10. při používání doplňkových látek se objevuje kromě zájmu na zlepšení metabolismu, zvýšení využitelnosti krmné dávky a celkového zdraví zvířat stále více druhý zřetel a tím je zvýšení kvality konečného produktu, což lze pokládat v posledních šesti letech za reálný pokus o komplexní využití některých doplňkových látek,
11. komplexnost řešitelských týmů z hlediska profilu zúčastněných odborníků na tvorbě krmiva a následně konečného uživatelského produktu se v posledním období rozšířila, ale „statisticky nevýznamně“: jednotlivé pracovní týmy jsou oborově poměrně uzavřené, ačkoliv by bylo žádoucí, aby byly proporcionálně propojeny ve třech oblastech: výživářské-potravinářské-farmaceutické,
12. v současnosti je nepochybné, že formulace optimálního krmiva je záležitostí podstatně složitější s vyšším počtem návazností na ekonomické a behaviorální procesy ve společnosti než tomu bylo před deseti lety a ukazuje se, že tvorba optimálního krmiva (které má být jedním z prvků pro zajištění bezpečnosti krmivového a potravního řetězce) bude záležitostí finančně i invenčně náročnější než jaká je představa, která se uplatňuje dosud.

8. LITERATURA

- ¹ Sakamoto, Koji; Asano, Takeshi; Mizuochi, Kazuo et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 53148537 (1978); Chem. Astr. 90, 150680.
- ² Onuma, Shinichi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10191932 (1998); Chem. Abstr. 129, 108292.
- ³ Oku, Kazuyuki; Kubota, Michio; Fukuda, Shigeharu et al.: PCT Int. Appl. WO 2003016325 (2003).
- ⁴ Ikeda, Tooru; Yugawa, Toshihide: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 09059232 (1997); Chem. Abstr. 126, 276660.
- ⁵ Tomita, Nobuo; Yokota, Atsushi; Hara, Hiroshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000204042 (2000); Chem. Abstr. 133, 119722.
- ⁶ Chen, Yuan: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1194102 (1998); Chem. Abstr. 132, 264454.
- ⁷ Ono, Hiroomi: Chikusan no Kenkyu 57(9), 1015-1020 (2003); Chem. Abstr. 139, 223359.
- ⁸ Osawa, Takashi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003245045 (2003); Chem. Abstr. 139, 196829.

-
- ⁹ Hagen, B. P.; White, W. E.; Wayne, E. et al.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2004214884 (2004).
- ¹⁰ Revy, P. S.; Jondreville, C.; Dourmad, J. Y.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 116(1-2), 93-112 (2004); *Chem. Abstr.* 141, 379282.
- ¹¹ Hoegh, L.; Hoejvang-Nielsen, L.; Schmidt, C.: *PCT Int. Appl.* WO200480210 (2004).
- ¹² Marsh, K. A.; Watson, T. D. G.: *PCT Int. Appl.* WO 9856263 (1998).
- ¹³ Park, S. Y.; Birkhold, S. G.; Kubena, L. et al.: *Poultry Sci.* 83(1), 24-33 (2004).
- ¹⁴ Yuwen Yongyi; Wang, Zhi: *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN* 1124137 (1996); *Chem. Abstr.* 130, 37608.
- ¹⁵ Clingan, D. L.: U.S. US 6808718 (2004).
- ¹⁶ Zhang, Xiaoming; Du, Xuanhi; Liu, Danghui: *Zhongguo Liangyou Xuebao* 12(2), 48-53 (1997); *Chem. Abstr.* 127, 134997.
- ¹⁷ Flachowsky, G. in: *Mengen-, Spurenelem., Arbeitstag., (Anke, M., ed.), 17th, Verlag Harald Schubert, Leipzig 1997, s. 599-619.*
- ¹⁸ Cinti, E.; Ciribolla, A.: *PCT Int. Appl.* WO 2004021802 (2004).
- ¹⁹ Abdel-Mlonem, M. M.; Anderson, M. D.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2004077714 (2004).
- ²⁰ Abdel-Monem, M. M.; Andersen, M. D.: *PCT Int. Appl.* WO 2004075654 (2004).
- ²¹ Benz, S.: *Federal Register* 68(170), 52339-52340 (2003); *Chem. Abstr.* 140, 15967.
- ²² Crum, A.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003124198 (2003).
- ²³ Ki, Sok-u: *Repub. Korea KR* 9504051 (1995); *Chem. Abstr.* 133, 104235.
- ²⁴ Wnag, M. Q.; Xu, Z. R.: *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 17(8), 1118-1122 (2004); *Chem. Abstr.* 141, 394623.
- ²⁵ Kosa, E.; Biro, O.; Fekete, S. et al.: *Magyar Allatorvosok Lapja* 123(2), 108-111 (2001); *Chem. Abstr.* 135, 226283.
- ²⁶ Yu, D.; Xu, Z., Chen, S.: *Zhejiang Daxue Xuebao, Nongye Yu Shengming Kexueban* 27(1), 95-98 (2001); *Chem. Abstr.* 135, 91972.
- ²⁷ Odgaard, R. L.: *PCT Int. Appl.* WO 2001010240 (2001).
- ²⁸ Abdel-Monem, M. M.; Anderson, M. D.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003228394 (2002).
- ²⁹ Nechajeva, S. V.; Mazo, V. K.; Golubjev, M. A. et al.: *Russ. RU* 2198215 (2003).
- ³⁰ Miljkovic, D.: *PCT Int. Appl.* WO 9843652 (1998).
- ³¹ Gao, Jinqun; Fan, Damin; Zhang, Xiangdong et al.: *Liaoning Daxue Xuebao, Ziran Kexueban* 28(1), 88-91 (2001); *Chem. Abstr.* 138, 321335.
- ³² Kamphues, J.; Tabeling, R.; Stuke, O.: *Dtsch. Tieraertztlich. Wochenschr.* 110(9), 365-368 (2003).
- ³³ Tomita, Manoru; Kokubo, Sadayuki; Mizota, Teruhiko et al.: *PCT Int. Appl.* WO 2003101218 (2003).
- ³⁴ Izumi, Kaya; Azumi, Naoya: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 2001226409 (2001); *Chem. Abstr.* 135, 180065.

-
- ³⁵ Lisowski, M.; Lewandowska, M.; Bednarczyk, M. et al.: Bull. Polish Acad. Sci.: Biol. Sci. 51(4), 291-298 (2003).
- ³⁶ Vuorenmaa, J.; Virkki, M.; Jukola, E. et al.: PCT Int. Appl. WO 9827829 (1998).
- ³⁷ Yu, Dongyou; Li, Weifen; Xu, Zirong: Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa 11(4), 81-85 (1999); Chem. Abstr. 132, 221471.
- ³⁸ Asan, Ichiro; Fujii, Shigeyoshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004051582 (2004); Chem. Abstr. 140, 162796.
- ³⁹ Shashidhara, R. G.; Devegowda, D.: Poultry Sci. 82(8), 1319-1325 (2003).
- ⁴⁰ Zhou, Yinghua; Zhang, Shirui: Hunan Nongye Daxue Xuebao 29(3), 250-253 (2003); Chem. Abstr. 141, 123012.
- ⁴¹ Tanaka, Nobumasa; Kawano, Takashi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000050813 (2000); Chem. Abstr. 132, 165584.
- ⁴² Inoue, Yasushi; Okamoto, Katsuyuki; Miyoshi, Shinsuke et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000217546 (2000); Chem. Abstr. 133, 149761.
- ⁴³ Otsuka, Makoto; Ishida, Aiko; Nakayama, Yumi et al.: Anim. Sci. J. 75(3), 225-229 (2004).
- ⁴⁴ Jin, M. G.; Hong, Z.S.; Jin, R. H. et al.: J. Anim. Sci. Technol. 43(4), 497-506 (2001).
- ⁴⁵ Marino, R. P.: U.S. US 5922692 (1999).
- ⁴⁶ Fosdick, L. E.; Bohlman, J. A., Trinkle, J. R. et al.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2004077055 (2004).
- ⁴⁷ Otani, hajime; Sakakibara, Ikue; Aoki, Takayoshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004043326 (2004); Chem. Abstr. 140, 162763.
- ⁴⁸ Kimura, Akihiko; Ishikawa, Naoto; Takada, Atsushi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10120574 (1998); Chem. Abstr. 129, 4056.
- ⁴⁹ Synowiecki, J.; Al-Khateeb, N. A.: Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 43(2), 145-171 (2003).
- ⁵⁰ Struszczyk, M. H.: Polimery (Warszaw) 47(6), 396-403 (2002).
- ⁵¹ Okano, Atsushi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000333643 (2000); Chem. Abstr. 134, 17005.
- ⁵² Schroeder, H. C.; Lorenz, B.; Senyuk, O. et al.: Ger Offen DE 10210571 (2003).
- ⁵³ Goto, Yoshio; Kaizu, Nobuhide: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003146887 (2003); Chem. Abstr. 138, 368102.
- ⁵⁴ Franzoni, Ch.; Gagnieu, Ch.; Porte, H.: Eur. Pat. Appl. EP 371878 (1990).
- ⁵⁵ Matahira, Yoshiharu; Wada, Masahiro: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 200344802 (2003); Chem. Abstr. 134, 41595.
- ⁵⁶ Kajikawa, Akihiro; Kameno, Masaki; Murosaki Shinji et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10194977 (1998); Chem. Abstr. 129, 104216.
- ⁵⁷ Hiss, S.; Sauerwein, H.: J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 87(1-2), 2-11 (2003).
- ⁵⁸ Cheng, Y.-H.; Lee, D.-N.; Wen, Ch.-M. et al.: Asian-Australasian J. Anim. Sci. 17(8), 1145-1149 (2004); Chem. Abstr. 141, 394714.

-
- ⁵⁹ Engstad, R.; Raa, J.: *Kfartfutter* 1999(7-8), 261-266.
- ⁶⁰ Raczek, N. N.; Ter-Meer, H.-U.; Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003334001 (2003); Chem. Abstr. 139, 380727.
- ⁶¹ Koh, J. H.; Ju, K. W.; Suh, H. J.: *Lett. Appl. Microbiol.* 35(1), 47-51 (2002).
- ⁶² Yiannikouris, A.; Francois, J.; Poughon, L. et al.: *J. Food. Protect.* 67(6), 1195-1200 (2004).
- ⁶³ Bolduan, G.; Hackl, W.: *Kraftfutter* 1997(12), 517-518, 520-521.
- ⁶⁴ Frippiat, A.: *Eur. Pat. Appl.* EP 867470 (1998).
- ⁶⁵ Frippiat, A.; Van, L. J.; Smits, G.: *Eur. Pat. Appl.* EP 1125507 (2001).
- ⁶⁶ Janssens, M.: *PCT Int. Appl.* WO 2003011042 (2003).
- ⁶⁷ Xu, Z.; Hu, C.; Xia, M. et al.: *PCT Int. Appl.* WO 2003077673 (2003).
- ⁶⁸ Delcour, J.: *PCT Int. Appl.* WO 2003015533 (2003).
- ⁶⁹ Nilsson, J.; Funeteg, B.; Lingerud, C.: *PCT Int Appl.* WO 2003075683 (2003).
- ⁷⁰ Rautonen, N.; Apajalahti, J.; Tiihonen, K.: *PCT Int. Appl.* WO 2003059333 (2003).
- ⁷¹ Ushijima, Koji; Yamaguchi, Shinya; Ota, Yasuhiro et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 09278660 (1997); Chem. Abstr. 128, 39536.
- ⁷² Mohammed, N.; Lila, Z. A.; Ajisaka, N. et al.: *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 88(5-6), 188-195 (2004).
- ⁷³ Santaniello, M.; Scafetta, N.; Tinti, M. O.: *P/CT Int. Appl.* WO 9849134 (1998).
- ⁷⁴ Zeyner, A.; Harmeyer, J.: *Arch. Anim. Nutr.* 52(2), 115-138 (1999).
- ⁷⁵ Blum, R.; Becker, K. W.: *PCT Int. Appl.* WO 9720474 (1997).
- ⁷⁶ Nelssen, J. L.; Goodband, R. D.; Tikach, M. D. et al.: *PCT Int. Appl.* WO 9824328 (1998).
- ⁷⁷ Teeter, R. G.; Vanhooser, S. L.; Owen, K. Q.: U.S. US 6090849 (2000).
- ⁷⁸ Celik, L. B.; Tekeli, A.; Ozturkcan, O.: *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 88(5-6), 229-233 (2004).
- ⁷⁹ Kim, S. W.; McPherson, R. L.; Wu, G.: *J. Nutr.* 143(3), 625-630 (2004).
- ⁸⁰ Leitgeb, R.; Tschischej, M.; Hutterer, F. et al.: *Bodenkultur* 54(3), 187-195 2004).
- ⁸¹ Butterwick, R. F.; Rolfe, V. E.; Vallance, Ch. E.: *PCT Int. Appl.* WO 2002100189 (2002).
- ⁸² Takimoto, Hiroyuki; Karasawa, Akihiko; Toride, Takahiko: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10117701 (1998); Chem. Abstr. 129, 27338.
- ⁸³ Fone, J.: *PCT Int. Appl.* WO 2003086098 (2003).
- ⁸⁴ Onodera, Ryoji; Sato, Hiroyuki: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 07309750 (1995); Chem. Abstr. 124, 144318.
- ⁸⁵ Grega, T.; Pisulewski, P.; Kowalski, Z. et al.: *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 8(3), 91-100 (1999).
- ⁸⁶ Tojo, Takeshi; Suzuki, Hiroyuki; Ueda, Takeo et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001086940 (2001); Chem. Abstr. 134, 265679.

-
- 87 Richardson, P. H.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003129295 (2003).
- 88 Buttin, P.: *Kraftfutter* 2000(1), 30,32.
- 89 Mandal, A. B.; Elangovan, A. V.; Johri, T. S.: *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 17(1), 102-108 (2004); *Chem. Abstr.* 140, 356448.
- 90 Chi, F.; Wen, Q. T.; Chen, J. et al.: *Brit. UK Pat. Appl.* GB 2377874 (2003).
- 91 Chi, F.; Wen, Q. T.; Shen, Z. et al.: *Brit. UK Pat. Appl.* GB 2398497 (2003).
- 92 Augustine, P. C.; Mcnaughton, J. L.; Virtanen, E. et al.: *Poult. Sci.* 76(6), 802-809 (1997).
- 93 Wang, Y. Z.; Xu, Z. R.; Feng, J.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 116(1-2), 151-159 (2004).
- 94 Urbanczyk, J.; Hanczakowska, E.; Swiatkiewicz, M.: *Ann. Warszaw Agric. Univ., Anim. Sci.*, 36, 133-140 (1999).
- 95 Zulkifli, I.; Mysahra, S. A.; Jin, L. Z.: *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 17(2), 244-249 (2004); *Chem. Abstr.* 140, 356441.
- 96 Kiyoshi, Akihiro; Yamamoto, Nobuharu: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 2001008636 (2001); *Chem. Abstr.* 134, 70690.
- 97 Yin, Shengzhang; Liu, Zhengwu: *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN* 1277963 (2000); *Chem. Abstr.* 135, 107063.
- 98 Wang, Yizhen; Wang, Youming; Fu, Jianyun: *Zhongguo Shouyi Xuebao* 22(3), 309-310 (2002); *Chem. Abstr.* 139, 337198.
- 99 Garnet, D. J.: *PCT Int. Appl. WO* 9944986 (1999).
- 100 Wallimann, T.; Pfrirter, H. P.: *Eur. Pat. Appl. EP* 1051914 (2000).
- 101 Purpura, M.; Pischel, I.; Jaeger, R. et al.: *PCT Int. Appl. WO* 2003047367 (2003).
- 102 Ota, Atsutane; Takasaki, Misao; Sugiura, Katsumi et al.: *Jpn. Kokai Taokkyo Koho JP* 2001131065 (2001); *Chem. Abstr.* 134, 331658.
- 103 Yu, Zuxun; Zhao, Lan; Yang, Zheng et al.: *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN* 1404746 (2003); *Chem. Abstr.* 141, 206119.
- 104 Tanabe, Shinobu; Kume, Shinichi: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 08289737 (1996); *Chem. Abstr.* 126, 74068.
- 105 Nishino, Hoyoku; Tsuda, Hiroyuki; Tomita Mamoru et al.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 10025249 (1998); *Chem. Abstr.* 128, 132468.
- 106 Cleeve, R. J.; Larkins, N. J.: *Brit. UK Pat. Appl. GB* 2396810 (2004).
- 107 Van Leeuwen, P.; Oosting, S. J.; Mouwen, J. M. V. M. et al.: *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 83(1), 15-23 (2000).
- 108 Kamimoto, Kaoru; Omae, Takeshi; Taga, Daisuke: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 2001309749 (2001); *Chem. Abstr.* 135, 330790.
- 109 Krammer, S.; Pfeiffer, J.: *PCT Int. Appl. WO* 2003047363 (2003).
- 110 Kato, Takeshi; Toba, Yasuhiro; Takada, Yukihiro et al.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 10290682 (1998); *Chem. Abstr.* 130, 3285.

-
- ¹¹¹ Yamaguchi Masayoshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001302539 (2001); Chem. Abstr. 135, 327376.
- ¹¹² Hashimoto, Kiyoshi; Sawada, Kazuhiko; Goto, Shoji et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10014502 (1998); Chem. Abstr. 128m 114389.
- ¹¹³ Elfstrand, L.; Floren, C.-H.; Hagman, C. et al.: PCT Int. Appl. WO 2004041004 (2004); Chem. Abstr. 140, 422797.
- ¹¹⁴ Erpicum, T.; Saniez, M.-H.: Eur. Pat. Appl. EP 1123661 (2001); Chem. Abstr. 135, 136694.
- ¹¹⁵ Suh, J. D.; Ostrom, K. M.; Ndife, L. I. et al.: PCT Int. Appl. WO 9810665 (1998).
- ¹¹⁶ Matsuura, Akihisa: U.S. US 5820902 (1998).
- ¹¹⁷ Roman, L. A.: U.S. Pat. Appl. Pub. US 2004102363 (2004).
- ¹¹⁸ Sasaki, Masahiro; Yamada, Hideyuki; Nomura, Masakazu: PCT Int. Appl. WO 2000051627 (2004).
- ¹¹⁹ Lange, S.; Goransson, L., Lonroth, I.: PCT Int. Appl. WO 2000038535 (2000).
- ¹²⁰ Adalsteinsson, O.; Fitzpatrick-Mcelligott, S. G.; Hunchar, J. G.: PCT Int. Appl. WO 9908708 (1999).
- ¹²¹ Zhong, Anqing; Qin, Zhifeng; Chu, Chengcai: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1366048; Chem. Abstr. 139, 144947.
- ¹²² Crasta, O. R.; Duvick, J.; Folkerts, O. et al.: PCT Int. Appl. WO 2000004160 (2000).
- ¹²³ Brydl, E.; Rafai, P.; Konyves, L. et al.: Feed Mix 9(2), 22-23, 25-26 (2001).
- ¹²⁴ Cepeljnik, T.; Krizaj, I.; Marinsek-Logar, R.: Enzyme Microb. Technol. 34(3-4), 219-227 (2004).
- ¹²⁵ Arenas, S. E.: Braz. Pedido PI BR 2000006642 (2002); Chem. Abstr. 138, 89082.
- ¹²⁶ Park, D. Y.; Namkung, H.; Paik, I. K.: J. Anim. Sci. Technol. 43(4), 485-496 (2001).
- ¹²⁷ Moriko, Toshiaki; Yokomizo, Futoshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004173620 (2004); Chem. Abstr. 141, 37938.
- ¹²⁸ Ota, Masaaki; Nagashima, Naoshi; Yamazumi, Takao: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001054383 (2001); Chem. Abstr. 134, 174851.
- ¹²⁹ Tamura, Yoshitaka; Takatsu, Zenta; Miyauki, Hirofumi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2004000164 (2004); Chem. Abstr. 140, 58781.
- ¹³⁰ Ji, Keun-Uk; Kim, Young-Chan; Choe, Yun-Jung et al.: Rep. Korea KR 135615 (1998); Chem. Abstr. 139, 380117.
- ¹³¹ Sheng, Bangding; Yi, Ruizao: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1120993 (1996); Chem. Abstr. 130, 196084.
- ¹³² Cai, Jinbo; Wu, Kegang: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1387863 (2003); Chem. Abstr. 141, 122916.
- ¹³³ Barclay, W. R.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003138477 (2003).
- ¹³⁴ Barclay, W.; Abril, R.; Abril, P. et al.: World Rev. Nutr. Diet., 83(Return of w3 Fatty Acids into the Food Supply), 61-76 (1998); Chem. Abstr. 130, 152827.

-
- ¹³⁵ Kiy, T.; Wullbrandt, D.; Muelnlner, S. et al.: Ger. Offen. DE 19629433 (1998).
- ¹³⁶ Gasso, C. F.: PCT Int. Appl. WO 2003063610 (2003).
- ¹³⁷ Schwartz, C. S.; Weiss, H. S.: PCT Int. Appl. WO 8810112 (1988).
- ¹³⁸ Moreau, P.; Pieroni, G: Fr. Demande FR 2749133 (1997).
- ¹³⁹ Scheideler, S. E.: PCT Int. Appl. WO 9847389 (1998).
- ¹⁴⁰ Odagiri, Makoto; Arai, Katsumi; Oigawa, Minoru et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001323295 (2003); Chem. Abstr. 135, 357091.
- ¹⁴¹ Wang, Xingfu: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1330879 (2002); Chem. Abstr. 137, 337117.
- ¹⁴² Edwards, S.: PCT Int. Appl. WO 2004095940 (2004).
- ¹⁴³ Maldjian, A.; Penny, P. C.; Noble, R. C.: Male Fertility and Lipid Metabolism, s. 60-72 (De Vriese, S, R.; Christophe, A. B., ed.), AOCS Press, Champaign 2003.
- ¹⁴⁴ McBride, B.; Holub, B. J.; Wright, T. C.: PCT Int. Appl. WO 2000044239 (2000).
- ¹⁴⁵ Kvasenkov, O. I.; Lomašinskij, V. A.; Goreňkov, E. S.: Russ. RU 2147194 (2000).
- ¹⁴⁶ Kvasenkov, O. I.; Lomachinskij, V. A.; Goreňkov, E. S.: Russ. RU 2147196 (2000).
- ¹⁴⁷ Kvasenkov, O. I.; Lomachinskij, V. A.; Goreňkov, E. S.: Russ. RU 2148307 (2000).
- ¹⁴⁸ Fimreite, D.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003149288 (2003).
- ¹⁴⁹ Saebo, A.; Skarie, C.: PCT Int. Appl. WO 2001077271 (2001).
- ¹⁵⁰ Cook, M. E.; Jerome, D.; Pariza, M. W.: U.S. US 6020378 (2000).
- ¹⁵¹ Ghisalberti, C.: PCT Int. Appl. WO 2001017374 (2001).
- ¹⁵² Sirri, F.; Tallarico, N.; Meluzzi, A. et al.: Poultry Sci. 82(8), 1356-1361 (2003).
- ¹⁵³ Ono, Kazuo; Watanabe, Naoto; Okuyama, Hitoshi et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000050841 (2000); Chem. Abstr. 132, 136682.
- ¹⁵⁴ Fimreite, D.: PCT Int. Appl. WO 2001078531 (2000).
- ¹⁵⁵ Wumanjiang, Aili; Zhang, Yagang; Wen, Bin et al.: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1357407 (2002); Chem. Abstr. 140, 110433.
- ¹⁵⁶ Gourdel, Y.; Tronel, J.: Fr. Demande FR 2774263 (1999).
- ¹⁵⁷ Lu, Chunkui: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1289758 (2001); Chem. Abstr. 301182.
- ¹⁵⁸ Abril, J. R.: PCT Int. Appl. WO 2002091853 (2002).
- ¹⁵⁹ Decuypere, J. A.; Dierick, N. A.: Nutr. Res. Rev. 16(2), 193-209 (2003).
- ¹⁶⁰ Molly, K.; Bruggeman, G.: Eur. Pat. Appl. EP 1314358 (2003).
- ¹⁶¹ Ajisaka, Noriko; Kumata, Takako; Kanda, Shuhei et al.: Anim. Sci. J. 73(6), 479-484 (2003).
- ¹⁶² Machmueller, A.; Soliva, C. R.; Kreuzer, M.: Brit. J. Nutr. 90(3), 529-540 (2003).
- ¹⁶³ Balzamova, T. I.; Shazzo, A. J.; Butina, E. A. et al.: Russ. RU 2152731 (2000).
- ¹⁶⁴ Van Beek, E.; Sommers, I.; Peys, E. et al.: PCT Int. Appl. WO 2001049129 (2001).

-
- ¹⁶⁵ Garnett, D. J.: PCT Int. Appl. WO 2000036929 (2000).
- ¹⁶⁶ Matsutani, Nobuyuki; Ikemori, Shunsuke; Owada, Hirohisa et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 09121781 (1997); Chem. Abstr. 127, 33260.
- ¹⁶⁷ Lin, Hai; Buyse, Johan; Sheng, Qingkai et al.: J. Food, Agric. Environ. 1(2), 103-107 (2003).
- ¹⁶⁸ Hubbert, M. E.; Bachman, S. E.: PCT Int. Appl. WO 2003084345 (2003).
- ¹⁶⁹ Bhar, R.; Maiti, S. K.; Goswarni, T. K. et al.: Indian J. Anim. Sci. 73(6), 674-677 (2003); Chem. Abstr. 139, 364075.
- ¹⁷⁰ Hansen, J. E.: Eur. Pat. Appl. EP 1378177 (2004).
- ¹⁷¹ Gheisari, A. A.; Samie, A. H.; Mousavi, T. et al.: Archives of Razi Inst. 54, 65-75 (2002); Chem. Abstr. 140, 422909.
- ¹⁷² Ito, Shinobu; Ogata, Eiji: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001169731 (2003); Chem. Abstr. 135, 45627.
- ¹⁷³ Heaton, P. R.; Smith, B. E. H.; Rawlings, J. M.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003035821 (2003); Chem. Abstr. 138, 152637.
- ¹⁷⁴ Horie, Noriko; Nanbu, Hironobu: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000143545 (2000); Chem. Abstr. 132, 333690.
- ¹⁷⁵ Ishihara, Noriyuki; Kitahata, Koichi; Juneja, Reka Raju: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001288081 (2001); Chem. Abstr. 135, 293992.
- ¹⁷⁶ Ito, Shinobu: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000351905 (2000); Chem. Abstr. 134, 61235.
- ¹⁷⁷ Ito, Shinobu; Ogata, Eiji; Yamada, Masahiro: Eur. Pat. Appl. EP 848955 (1998).
- ¹⁷⁸ Wang, Xiaojie; King, Kang-Wong; Park, Gun-Jun et al.: Aquaculture Research 34(14), 1337-1341 (2003).
- ¹⁷⁹ Hashimoto, Kunihiko; Onishi, Nobukazu: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001169750 (2001); Chem. Abstr. 135, 60476.
- ¹⁸⁰ Ito, Shinobu; Ogata, Eiji: Kagaku to Kogyo (Tokyo), 52(6), 694-698 (1999); Chem. Abstr. 131, 58188.
- ¹⁸¹ Dlubala, A.; Nosberger, P.: Eur. Pat. Appl. EP 866069 (1998).
- ¹⁸² Wang, Hongbin; Liu, Wanhan; Shi, Wenjuan: Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1357549 (2002); Chem. Abstr. 139, 149880.
- ¹⁸³ Yasue, Toshiro; Ogata, Eiji: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 62285759 (1987); Chem. Abstr. 108, 203597.
- ¹⁸⁴ Aoyagi, Yosuke; Narumiya, Katsuhide; Itoh, Shinobu et al.: Nippon Kakin Gakkaishi 33(6), 383-387 (1996); Chem. Abstr. 126, 117310.
- ¹⁸⁵ Oftring, A.; Habich, A.; Guth, F.: PCT Int. WO 2004000292 (2004).
- ¹⁸⁶ BASF A.G.: Ger Offen DE 10244397 (2004).
- ¹⁸⁷ Deaville, E. R.; Givens, D. I.; Blake, J. S.: Animal Research 53(1), 3-12 (2004).
- ¹⁸⁸ Zajac, P.; Zajac, T.: PCT Int. Appl. WO 2004047551 (2004).

-
- ¹⁸⁹ Sugano, Okifumi; Muramoto, Tetsuo; Higashijima, Masanori et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 60184358 (1985); Chem. Abstr. 104, 19030.
- ¹⁹⁰ Ito, Shinobu; Ogata, Eiji: Eur. Pat. Appl. EP 845216 (1998).
- ¹⁹¹ Barthel, T.; Klose, M.; Siray, M. et al.: Eur. Pat. Appl. EP 1018303 (2000).
- ¹⁹² Stark, L.; Yarger, J. G.; Perry, S.: U.S. US 5695794 (1997).
- ¹⁹³ Schwarz, G.: *Kraeffutter* 1998(10), 438-443.
- ¹⁹⁴ He, Jinquan; Fan, tianlong; Lian, Fang et al.: *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* CN 1176063 (1998); Chem. Abstr. 132, 150944.
- ¹⁹⁵ Bewert, W.; Schmitt, P.; Betz, R. et al.: Eur. Pat. Appl. EP 1088486 (2001).
- ¹⁹⁶ Rosenberg, T. D.; Deffner, K.: U.S. US 6579544 (2003).
- ¹⁹⁷ Chornet, E.; Dumitriu, S.: PCT Int. Appl. WO 2000004086 (2000).
- ¹⁹⁸ Raczek, N. N.; Mollenkopf, Ch.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003170342 (2003).
- ¹⁹⁹ Shen, Hui; Yin, Xibao; Chen, Zhongbing: *Zhongguo Liangyou Xuebao* 15(2), 52-55 (2000); Chem. Abstr. 134, 177688.
- ²⁰⁰ Euler, K.; Lechtken, P.; Franz, L. et al.: PCT Int. Appl. WO 8910701 (1989).
- ²⁰¹ Li, Peng; Lewis, D. H.; Gatlin, D. M.: *Fish & Shellfish Immunol.* 16(5), 561-569 (2004); Chem. Abstr. 141, 206261.
- ²⁰² Houde, R.: Can. Pat. Appl. CA 2332749 (2001); Chem. Abstr. 141, 349182.
- ²⁰³ Von Tucher, F.: Ger Offen DE 3703489 (1988).
- ²⁰⁴ Treulle, J.: PCT Int. Appl. WO 9636243 (1996).
- ²⁰⁵ Tahara, Shunichi; Takase, Kenjiro; Morita, Shigeyuki: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11299432 (1999); Chem. Abstr. 131, 285732.
- ²⁰⁶ Petersen, M. K.; Sawyer, J. E.; Waterman, R. C. et al.: U.S. US 6525095 (2003).
- ²⁰⁷ Gossart, P.: Eur. Pat. Appl. EP 1000552 (2000).
- ²⁰⁸ Van Amersfoort, J.; Van Ooijen, J. A. C.: Eur. Pat. Appl. EP 891717 (1999).
- ²⁰⁹ Kono, Kazumi; Usu, Jiro; Okazaki, Hiroshi: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003284507 (2003); Chem. Abstr. 139, 276244.
- ²¹⁰ Kristensen, N. B.; Jungvid, H.; Fernandez, J. A. et al.: *Anim. Nutr.* 86(7-8), 239-245 (2002).
- ²¹¹ Heyl-Frank, B.; Irle, H.; Pianzola, D. et al.: PCT Int. Appl. WO 2002094255 (2002).
- ²¹² Lorbert, S. J.; Nam, P. K. S.; Forciniti, D. et al.: PCT Int. Appl. WO 2002088667 (2002).
- ²¹³ Marimoto, Kazushi; Yazawa, Kohei; Ajioka, Masanobu: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11092552 (1999); Chem. Abstr. 130, 281169.
- ²¹⁴ Martin, D. P.; Peoples, O. P.; Williams, S. F. et al.: PCT Int. Appl. WO 2000004895 (2000).
- ²¹⁵ Falkowski, J. F.; Aherne, F. X.: *J. Anim. Sci.* 58(4), 935-938 (1984).
- ²¹⁶ Wang, Jiaqi: *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* CN 1210853 (1999).

-
- ²¹⁷ Strunin, b. P.; Novak, D. I.; Maslennikov, E. I. Et al.: Russ. RU 2233099 (2004).
- ²¹⁸ Reznik, R.: PCT Int. Appl. WO 2000039248 (2000).
- ²¹⁹ Lowe, J. A.; Gordon, Ch.; Tonks, W. P.: Brit. UK Pat. Appl. GB 2385768 (2003).
- ²²⁰ Fernandez-Pol, J. A.: U.S. US 6579891 (2003).
- ²²¹ Williams, D.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003003203 (2003).
- ²²² Onogi, Hiromu; Sugiyama, Katsumi; Muraki, Nobuko et al.: PCT Int. Appl. WO 2004031165 (2004).
- ²²³ Sarelli, L.; Tuori, M.; Saastamoinen, I. et al.: Acta Agric. Scand., Sect. A: Anim. Sci. 53(1), 58-63 (2003).
- ²²⁴ Samarasinghe, K.; Wenk, C.; Silva, K. et al.: Asian-Australasian J. Anim. Sci. 16(10), 1495-1500 (2003); Chem. Abstr. 140, 27327.
- ²²⁵ Takagaki, Akishi; Yamada, Yuki: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10191927 (1998); Chem. Abstr. 129, 108291.
- ²²⁶ Wanpuntragoon, Chantimar: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11246398 (1999); Chem. Abstr. 131, 204640.
- ²²⁷ Osawa, toshihiko; Kaku, Hiroyuki; Ueno, Yuki et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003002827 (2003); Chem. Abstr. 138, 54991.
- ²²⁸ Krammer, S.: PCT Int. Appl. WO 2004012522.
- ²²⁹ Ishihara, Noriyuki; Okubo, Tsutomu; Shu, Seiji et al.: PCT Int. Appl. WO 2000027219 (2000).
- ²³⁰ Ishihara, Noriyuki; Tanaka, Noboru; Akaji, Shigeteru et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10226643 (1998); Chem. Abstr. 129, 170529.
- ²³¹ Ishihara, Noryuki; Ookubo, Tsutomu; Takahashi, Hidehisa et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 05000051 (1993); Chem. Abstr. 118, 146758.
- ²³² Richards, G. N.: PCT Int. Appl. WO 9603150 (1996).
- ²³³ Howell, A. B.; Vorsa, N.: U.S. US 6608102 (2003).
- ²³⁴ Raczek, N. N.; Hausmanns, S.: Ger. Offen DE 10244358 (2004).
- ²³⁵ Sakiura, Toshiyuki: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003219806 (2003); Chem. Abstr. 139, 132727.
- ²³⁶ Ishihara, Noriyuki; Shu, Masaharu; Juneja, Lekh Raja: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000270786 (2000); Chem. Abstr. 133, 251553.
- ²³⁷ Sakiura, Toshiyuki; Tanaka, Osamu; Oguro, Takashi et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003052315 (2003); Chem. Abstr. 138, 169353.
- ²³⁸ Sakiura, Toshiyuki: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001299232 (2001); Chem. Abstr. 135, 343701.
- ²³⁹ Ruiz Gabaldon, A.: PCT Int. Appl. WO 2003086101 (2003).
- ²⁴⁰ Elgaard, T.; Bjornhauge, R. A.: Eur. Pat. Appl. EP 1323354 (2004).
- ²⁴¹ Marenchino, L.: PCT Int. Appl. WO 2004089106 (2004).

-
- ²⁴² Maye, J. P.: PCT Int. Appl. WO 2004026041 (2004).
- ²⁴³ Lee, K.-W.; Everts, H.; Kappert, H. j. et al.: Brit. Poultry Sci. 44(3), 450-457 (2003).
- ²⁴⁴ Lee, K.-W.; Everts, H.; Kappert, H. J. et al.: J. Appl. Poultry Res. 12(4), 394-399 (2003).
- ²⁴⁵ Govaris, A.; Botsoglou, N.; Papageorgiou, G. et al.: Int. J. Food. Sci. & Nutr. 55(2), 115-1232 (2004); Chem. Abstr. 141, 173192.
- ²⁴⁶ Nargund, R.; Patchett, A. A.: Brit. UK Pat. Appl. GB 2297972 (1996).
- ²⁴⁷ Aoun, M.; Amiand, G.; Garres, P. et al.: PCT Int. Appl. WO 2003056935 (2003).
- ²⁴⁸ Takahashi, Tetsunari: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000154109 (2000); Chem. Abstr. 133, 1748.
- ²⁴⁹ Bennet, N. J.; Josling, P. D.: PCT Int. Appl. WO 2004084645 (2004).
- ²⁵⁰ Hutzinger, M.: Eur. Pat. Appl. EP 1419811 (2004).
- ²⁵¹ Opletal, L.; Sovová, M.; Dittrich, M. et al.: Česk. Slov. Farm. 46(6), 247-255(1997).
- ²⁵² Zajnullin, V. G.; Mišurov, V. P.; Puněgov, V. V. et al.: Rast. Resursy 39(2), 95-103 (2003).
- ²⁵³ Cheeke, P. R.: Adv. Exp. Med. Biol. 405(Saponis used in food and agriculture), 377-385, Plenum Press 1996.
- ²⁵⁴ Francis, G.; Kerem, Z.; Makkar, H. P. S. et al.: Brit. J. Nutr. 88(6), 587-605 (2002).
- ²⁵⁵ Becker, W.; Makkar, Harinda P. S.: Ger. Offen DE 19952360 (2001).
- ²⁵⁶ Verhaart, J.; Collins, G.; Stam, W. et al.: Eur. Pat. Appl. EP 1424073 (2004).
- ²⁵⁷ Yamamoto, Masaji; Kameda, Shigeru: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 05007462 (1993); Chem. Abstr. 118, 190642.
- ²⁵⁸ Feng, Yuxian; Zhou, Zhenqi; Dan, Hai et al.: Xibei Zhiwu Xiebao 17(2), 242-246 (1997); Chem. Abstr. 127, 173866.
- ²⁵⁹ Xia, Zhongqin; Hu, Yaer; Rubin, I et al.: U.S. US Pat. Appl. Publ. US 20020193317 (2002).
- ²⁶⁰ Wallace, R. J.; McEwan, N. R.; McIntosh, F. M. et al.: Asian-Australasian J. Anim. Sci. 15(10), 1458-1468 (2002); Chem. Abstr. 138, 13754.
- ²⁶¹ Levy, P. E.; Lewy, L. W.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003104090 (2003).
- ²⁶² Auweter, H.; Bohn, H.; Haberkorn, H. et al.: Ger. Offen. DE 19637517 (1998).
- ²⁶³ Tokuda, Katsuhiko: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000106844 (2000); Chem. Abstr. 132, 264475.
- ²⁶⁴ Hayashi, Katsuhiko: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001286262 (2001); Chem. Abstr. 135, 288078.
- ²⁶⁵ Hayek, M. G.: PCT Int. Appl. WO 9844808 (1998).
- ²⁶⁶ Tanaka, Miho: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000060438 (2000); Chem. Abstr. 132, 179944.
- ²⁶⁷ Bhosale, P.; Jogdand, V. V.; Gadre, R. V.: J. Appl. Microbiol. 95(3), 584-590 (2003).
- ²⁶⁸ Hauptmann, R.; Winner, B. L.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2003196232 (2003).

-
- ²⁶⁹ Giger, A.; Simon, W.: Eur. Pat. Appl. EP 718284 (1996).
- ²⁷⁰ Harasawa, Isamu; Suzuki, Yoshihisa; Yokomizo, Yoshio et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 60203147 (1985); Chem. Abstr. 104, 147499.
- ²⁷¹ Sakiura, Toshiuki: Eur. Pat. Appl. EP 1284101 (2003).
- ²⁷² Blanch, A.; Hernandez, J. M.: Feed Mix 8(6), 9-12 (2000).
- ²⁷³ An, Gil-Hwan; Choi, Eui-Sung: Biotechnol. Lett. 25(10), 767-771 (2003).
- ²⁷⁴ De La Fuente Moreno, J. L.; Piero Cezon, E.; Diez Garcia, B. et al.: PCT Int. Appl. WO 2003066875 (2003).
- ²⁷⁵ Matsushita, Koichi; Komiyama, Hisashi; Akiba, Yuko et al.: Nippon Kakin Gakkaishi 37(6), 341-348 (2000); Chem. Abstr. 134, 55957.
- ²⁷⁶ Rodriguez, G.; Schloemer, G.; Artola, V.: PCT Int. Appl. WO 2003077950 (2003).
- ²⁷⁷ Flachmann, R.; Sauer, M.; Schopfer, Ch. R. et al.: PCT Int. Appl. WO 2004017749 (2004).
- ²⁷⁸ Breivik, H.; Sanna, L. I.; Aanesen, B. A.: PCT Int. Appl. WO 2003003848 (2003).
- ²⁷⁹ Misawa, Norihiko; Yokoyama, Akihiro: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10327865 (1998); Chem. Abstr. 130, 94529.
- ²⁸⁰ Mortensen, B.; Jansson, S. T. K.: PCT Int. Appl. WO 2004005353 (2004).
- ²⁸¹ Morotomi, Masami; Kushiro, Akira; Yuki, Norikatsu et al.: Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003235569 (2003); Chem. Abstr. 139, 210746.
- ²⁸² Byun, J. R.; Yoon, Y. H.: Asian-Australasian J. Anim. Sci. 16(11), 1686-1689 (2003); Chem. Abstr. 140, 180382.
- ²⁸³ McGrath, S.; McHale, A. P.: PCT Int. Appl. WO 2001065923 (2001).
- ²⁸⁴ Yang, Si Yong; Kim, Chang Won; Kang, Chang Won et al.: Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo KR 20000010060 (2000); Chem. Abstr. 135, 370725.
- ²⁸⁵ Vituri, G. C.; Micheletti, J. C.: Braz. Pedido PI BR 2001004925 (2001); Chem. Abstr. 141, 313525.
- ²⁸⁶ Nguyen, Tan Hung; Guyonvarch, A.; Brongniart, I.: Fr. Demande FR 2765078 (1998); Chem. Abstr. 130, 196228.
- ²⁸⁷ Fritts, C. A.; Kersey, J. H.; Motl, M. A. et al.: J. Appl. Poultry Res. 9(2), 149-155 (2000).
- ²⁸⁸ Adams, M. C.; Huang, Y.: PCT Int. Appl. WO 2004001022 (2004).
- ²⁸⁹ Stern, N. J.; Svetoch, E. A.; Urakov, N. Y. et al.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2004220093 (2004).
- ²⁹⁰ Cockbain, J.; Moen, E.; Eriksen, H. et al.: PCT Int. Appl. WO 2003068003 (2003).
- ²⁹¹ Mwenya, B.; Zhou, X.; Santoso, B. et al.: Asian-Australasian J. Anim. Sci. 17(3), 349-354 (2004); Chem. Abstr. 141, 53510.
- ²⁹² Kamel, Ch.: Feed Mix 8(3), 16-18 (2000).
- ²⁹³ Moreland, S.: Feed Mix 10(6), 23-26 (2002).
- ²⁹⁴ Krazsewski, J.; Wawrzynzak, S.; Wawrzynski, M.: Feed Mix 10(6), 20-22 (2002).

-
- ²⁹⁵ Malnoe, A.; Cavin, Ch.; Offord-Cavi, E.: U.S. Pat. Appl. Publ. US 2004001898 (2004).
- ²⁹⁶ Hoffmann, E. M.; Muetzel, S.; Becker, K.: *Arch. Anim. Nutr.* 57(1), 65-81 (2003).
- ²⁹⁷ Teferedeagne, B.; Newbold, C. J.: *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 15(10), 1458-1468 (2002).
- ²⁹⁸ Gao, Peng: *Lfaming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* CN 1119913 (1996); *Chem. Abstr.* 130, 209107.
- ²⁹⁹ Tamaoki, Kazuyuki; Inayama, Kazunari; Iwasawa, Toshiyuki et al.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003088302* (2003); *Chem. Abstr.* 138, 237265.
- ³⁰⁰ Berkulin, W.; Pischel, I.: *PCT Int. Appl. WO 2004017979* (2004).
- ³⁰¹ Vichi, S.; Zitterl-Eglseer, K.; Jugl, L. et al.: *Nahrung* 45(2), 101-104 (2001).
- ³⁰² Lomovskij, O. I.; Salenko, V. L.: *Russ. RU 2223662* (2004).
- ³⁰³ Tomita, Mamoru: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001097883* (2001); *Chem. Abstr.* 134, 251709.
- ³⁰⁴ Nakamura, Osamu; Yamamoto, Toshiaki; Tagami, Masayuki et al.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2002325541* (2002); *Chem. Abstr.* 137, 337130.
- ³⁰⁵ Nagarja, K. V.: *J. Food Sci. Technol.* 37(5), 554-556 (2000).
- ³⁰⁶ Ohnogi, Hiromu; Sugiyama, Katsumi; Muraki, Nobuko et al.: *PCT Int. Appl. WO 2004030683* (2004).
- ³⁰⁷ Zorzoliu, A. C.: *Rom. RO 111983* (1997); *Chem. Abstr.* 132, 221748.
- ³⁰⁸ Fujimot, Yasuo; Imai, Tadashi; Hamaya, Tadao: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11226099* (1999); *Chem. Abstr.* 157201.
- ³⁰⁹ Zhu, Jianjin; Zhu, Chunlei; She, Xiaohui: *Wuxi Qinggong Daxue Xuebao* 21(2), 194-196 (2002); *Chem. Abstr.* 139, 6010.