



VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i. Praha Uhřetěves

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

VĚDECKÝ VÝBOR VÝŽIVY ZVÍŘAT

KOMISE VÝŽIVY ODBORU ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY ČAZV

## **AKTUÁLNÍ POZNATKY VE VÝŽIVĚ A ZDRAVÍ ZVÍŘAT A BEZPEČNOSTI PRODUKTŮ 2022**

Sborník z konference

**22. listopadu 2022**



Praha Uhřetěves



## OBSAH

### **20 LET EVROPSKÉHO ÚŘADU PRO BEZPEČNOST POTRAVIN**

PETR BENEŠ

### **ÚČINEK ORLISTATU U POTKANŮ MŮŽE SOUUISET S RŮZNOU ABSORPCÍ MASTNÝCH KYSELIN**

MILAN MAROUNEK, ZDENĚK VOLEK, TOMÁŠ TAUBNER, LADISLAV ČERMÁK

### **ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA EXTRAKTU Z KONOPÍ VŮČI BAKTERII SALMONELLA ENTERITIDIS**

EVA SKŘIVANOVÁ, LUCIE MALÁ, MATĚJ MALÍK

### **SKLIZEŇ KUKUŘICE METODOU SHREDLAGE A JEJÍ VLIV NA KVALITU SILÁŽE**

FILIP JANČÍK, PETR HOMOLKA, PETRA KUBELKOVÁ, RADKO LOUČKA

### **DOPLŇKOVÉ LÁTKY SNIŽUJÍCÍ PRODUKCI METANU U PŘEŽVÝKAVCŮ**

MIROSLAV JOCH, VÁCLAV KUDRNA

## 20 LET EVROPSKÉHO ÚŘADU PRO BEZPEČNOST POTRAVIN

**Ing. Petr Beneš**

Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin

### Shrnutí

Již od roku 2002 je úkolem Evropského úřadu pro bezpečnost potravin poskytovat orgánům EU nezávislá vědecká stanoviska, vědeckou a technickou podporu pro legislativní a politickou činnost v oblastech, které mají přímý nebo nepřímý vliv na bezpečnost potravin a krmiv. Tato činnost má přispívat ke zvyšování důvěry spotřebitelů, hladkému fungování vnitřního trhu a vysoké úrovni ochrany zdraví lidí, zdraví a pohody zvířat, zdraví rostlin a ochrany životního prostředí.

### Úvod

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority – EFSA nebo také Úřad) je úřadem EU, který provádí hodnocení rizik v oblasti potravinového řetězce, podporuje a koordinuje vývoj jednotných metodik hodnocení rizika, vyhledává, sbírá a analyzuje vědecká data a provádí činnosti vedoucí k identifikaci a charakterizaci nově vzniklých rizik. Je také zodpovědný za komunikaci o riziku. V těchto oblastech je úkolem EFSA, v úzké spolupráci s národními autoritami a dalšími zúčastněnými organizacemi a tělesy, poskytovat objektivní a nezávislé vědecky podložené poradenství a jasná sdělení založená na nejaktuálnějších vědeckých poznatcích a informacích o existujících a nově se objevujících rizicích.

Evropský úřad pro bezpečnost potravin byl nařízením Evropského parlamentu a Rady č. 178/2002 založen v roce 2002. Od roku 2005 je jeho stálým sídlem italská Parma. Úřad přispívá ke zvyšování důvěry spotřebitelů, hladkému fungování vnitřního trhu a k vysoké úrovni ochrany lidského zdraví, zdraví a pohody zvířat, zdraví rostlin a ochrany životního prostředí. EFSA provádí hodnocení již existujících i nových rizik v celém potravinovém řetězci. Výstupy EFSA jsou podkladem pro tvůrce evropských předpisů, pravidel a strategií, a tak pomáhají chránit spotřebitele před riziky v potravinovém řetězci.

### Ohlédnutí za uplynulými dvěma dekadami

Během dvaceti let své existence prošel EFSA významnou proměnou. Do značné míry jde o přiložený proces, který souvisí s fixováním pozice Úřadu v evropském systému bezpečnosti potravin a přejímáním kompetencí v jednotlivých řešených oblastech. Současně však jde o výsledek působení řady externích vlivů, které na Úřad působí. Přímo na EFSA působí zejména vyvíjející se požadavky právních předpisů a stakeholderů – zejména EK, členských států a subjektů uvádějících na trh regulované produkty, pro které je vyžadováno posouzení EFSA. Přímo na Úřad působí také politiky EU: Zelená dohoda pro EU a její Strategie „Od zemědělce ke spotřebiteli“, které jsou velkou výzvou pro celý agro-potravinářský řetězec. Dalším faktorem je narůstající komplexnost: na dílčí problematiku je stále více nahlíženo z pohledu vzájemného spolupůsobení a provázanosti. Příkladem může být problematika „jednoho zdraví“, na kterou je nahlíženo optikou přímé souvislosti mezi zdravím zvířat a lidí, nově se však součástí stává také zdraví environmentální. Další vlivy přináší globalizace a změna klimatu. Zásadním hybatelem se v posledních letech stávají společenské požadavky. Pro EFSA to znamená nutnost být schopen se flexibilně přizpůsobit vyvíjejícím se požadavkům.

Pod vlivem těchto faktorů se EFSA během své existence vyvinul v moderní, široce respektovanou instituci, která je připravena čelit výzvám dnešní doby. Do jisté míry došlo ke změně v činnosti Úřadu. Jádro aktivit, tzn. poskytování vědeckého poradenství pokrývajícího celý potravinový řetězec zůstalo zachováno, bylo však rozšířeno o rozsáhlý systém poradenství pro žadatele o posuzování regulovaných produktů. Velká pozornost je věnována vývoji metodik pro hodnocení rizik s ambicí jejich uplatnění v globálním měřítku.

Druhou oblastí činnosti EFSA je komunikace o riziku. Tu EFSA v posledních letech posunul takovým způsobem, že můžeme hovořit o novém standardu. Výrazně k tomu přispěly i požadavky na transparentnost kodifikované nařízením (EU) 2019/1381 o transparentnosti. Samozřejmě s výjimkou chráněných citlivých informací, které jsou předmětem žádostí o posouzení regulovaných produktů, je možné na portálech Úřadu nalézt veškeré informace, které s jeho činností souvisí.

### Úloha Koordinačního místa pro vědeckou spolupráci (Focal Point)

Česká republika s EFSA intenzivně spolupracuje od jeho ustavení v roce 2002. Spolupráci v odborné rovině zajišťuje napřímo především celá řada českých institucí (např. participací na řešení výzkumných projektů) a také vědeckých pracovníků (účastí v odborných pracovních skupinách, kolokviích a seminářích). Administrativní rovina spolupráce je zajišťována na úrovni ministerstev, příp. dalších centrálních orgánů státní správy. Nicméně vzhledem k tomu, že EFSA je nezávislou organizací, je tato oficiální vazba na členský stát minimální. Zajištěním spolupráce bylo po vstupu ČR do EU pověřeno Ministerstvo zemědělství.

Spolupráce mezi Úřadem a členskými státy se dlouhodobě výrazně prohlubuje, což s sebou přináší nárůst objemu přenášovaných informací. Proto byl v každé členské zemi vytvořen tzv. „Focal Point“ - v češtině používáme označení *Koordinační místo pro vědeckou a technickou spolupráci s EFSA* (dále jen „Koordinační místo“). Jejich úkolem je zajistit a zjednodušit komunikaci mezi EFSA a úřady, organizacemi a jednotlivci na národní úrovni. Činnost Koordinačního místa v ČR zajišťuje Odbor bezpečnosti potravin MZe, a to na základě dohody uzavřené mezi MZe a EFSA.

Základním úkolem Koordinačního místa je podporovat zástupce v Poradním sboru EFSA, zajišťovat výměnu vědeckých informací mezi EFSA a ČR, podporovat zapojení zainteresovaných organizací do spolupráce s EFSA. Dalším úkolem je zviditelnování poslání a práce EFSA v ČR a podpora zapojování našich expertů a organizací do aktivit EFSA i jiných mezinárodních aktivit v oblasti bezpečnosti potravin.

### Aktuální možnosti spolupráce s EFSA

#### ▪ Spolupráce s podle čl. 36

Jedna z nejdůležitějších aktivit EFSA vycházející z článku 36 Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví se postupy týkající se bezpečnosti potravin, je propojení organizací působících v oblastech poslání EFSA. Cílem tohoto propojení je zejména vytvořit rámec pro vědeckou spolupráci prostřednictvím koordinace činností, výměny informací, přípravy a provádění společných projektů, výměny odborných poznatků a osvědčených postupů.

Pro organizace spolupracující s EFSA podle čl. 36 vyhlašuje EFSA výzvy k podání návrhů na řešení projektů v oblasti hodnocení rizik. Řešení těchto projektů se mohou zúčastnit pouze tyto organizace. K 1. 11. 2022 bylo na seznam organizací spolupracujících s EFSA podle čl. 36 uvedeno zhruba 350 organizací, z toho 14 z ČR:

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

- Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.
- Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
- Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.
- Česká zemědělská univerzita v Praze
- Veterinární univerzita Brno
- Mendelova univerzita v Brně
- Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
- Státní zdravotní ústav
- Ostravská univerzita v Ostravě

- Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
- Biologické centrum Akademie věd
- Ministerstvo zemědělství

Možnost spolupráce je otevřená i pro další instituce, aktualizace seznamu probíhá průběžně.

#### ▪ **Členství ve vědeckém panelu EFSA**

Nezávislý odborník se může stát členem jednoho z vědeckých panelů, případně Vědeckého výboru EFSA. Vědecké panely se skládají z nezávislých expertů členských států jmenovaných Správní radou na dobu pěti let (podle nařízení (EU) 2019/1381). V současné době existuje 10 vědeckých panelů:

- Panel on Animal Health and Welfare (AHAW)
- Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS)
- Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)
- Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF)
- Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)
- Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)
- Panel on Genetically Modified Organisms (GMO)
- Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)
- Panel on Plant Health (PLH)
- Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR)

V prvním čtvrtletí roku 2023 bude zveřejněna výzva nezávislým expertům, aby se stali členy vědeckých panelů se začátkem funkčního období od 1. 7. 2024.

#### ▪ **Stáže nabízené EFSA**

V současné době úřad nabízí stáže pro pracovníky veřejných institucí – v režimu SNE (Seconded national expert) či „programu pro hosty“ (Guest Programme Visitors). Dále stáže pro absolventy vysokých škol či univerzit. Již od roku 2017 je každoročně realizován program stáží pro pracovníky organizací spolupracujících s EFSA podle čl. 36 – European Food Risk Assessment Fellowship Programme (EU FORA).

Stáže pro absolventy vysokých škol/ univerzit jsou určeny absolventům VŠ zemí EU, EFTA a kandidátských zemí. Cílem stáže je vysvětlit roli EFSA a práci v oblasti hodnocení rizik, usnadnit začátek kariéry absolventům, podpořit odborný růst kvalifikovaných jedinců v oblastech práce EFSA a vytvořit skupinu mladých lidí se zkušeností s prací v úřadu a s jeho pracovními metodami, kteří budou připraveni na budoucí spolupráci s EFSA. Délka stáže je 5 až 12 měsíců; financování: formou grantu EFSA.

Cílem programu EU FORA je přilákat a motivovat mladé a mírně pokročilé vědce k hodnocení rizika, prohloubit spolupráci mezi EFSA a organizacemi v členských státech EU, přispět k harmonizaci metod hodnocení rizik v Evropě a dále rozvíjet metodologii hodnocení rizik. Program je zaměřen na hodnocení chemických a mikrobiologických rizik. Obsah programu je vytvářen podle požadavků EFSA organizací vybranou ve výběrovém řízení. Průběh stáže zahrnuje „on-job“ školení, tedy praktickou činnost pod vedením zkušeného odborníka. Financování je zajištěno formou grantu EFSA, o který mohou společně žádat konsorcia dvou organizací z různých zemí EU (vždy jedna hostitelská organizace a jedna organizace vysílající stážistu). Délka stáže je 12 měsíců a stážista 3-5 měsíců stráví v hostitelské organizaci. Dále v rámci toho účastník stáže absolvuje třítydenní úvodní pobyt v EFSA (Parma, Itálie) a tři jedno-týdenní školení v průběhu roku v různých jiných organizacích. Do konce roku 2022 bude zveřejněna výzva k zapojení do programu EU FORA pro ročník 2023/2024.

Pro informace o těchto a dalších možnostech spolupráce s EFSA můžete kontaktovat Koordinační místo na adrese [efsa.focalpoint@mze.cz](mailto:efsa.focalpoint@mze.cz) nebo telefonicky 221 812 321.

# MOŽNÉ VYSVĚTLENÍ ÚČINKU ORLISTATU NA SÉRIOVÉ LIPIDY POTKANŮ

prof. Ing. Milan Marounek, DrSc.; doc. Ing. Zdeněk Volek, Ph.D.; Ing. Tomáš Taubner, Ph.D.;  
Mgr. Ladislav Čermák, Ph.D.

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

## Úvod

Orlistat je lék na obezitu, který inhibuje lipasy v trávicím traktu a tím snižuje vstřebávání monoglyceridů a mastných kyselin (Guerciolini, 1997). Práce s Orlistatem se zabývají hlavně snížením tělesné hmotnosti při jeho užívání. Práci s Orlistatem u potkanů je málo a jen ojediněle se zabývají vlivem na ukazatele séra. Lim a kol. (2012) zjistili, že Orlistat podaný v dávce 40 mg/kg živé hmotnosti snížil u obézních potkanů sérový cholesterol a triglyceridy. Mahmoud a Elnour (2013) uvádí, že Orlistat v koncentraci 200 mg/kg diety snížil u potkanů v séru celkový i LDL-cholesterol a triglyceridy. Práci o účinku Orlistatu při vyšších koncentracích je málo. V roce 2021 jsme na konferenci VVVZ představili práci „Účinky Orlistatu při různém obsahu v dietě potkanů“. K této práci se nyní vrátíme.

## Metody

Potkani kmene Wistar ♀ věku 6 týdnů byli umístěni jednotlivě v klecích. Dieta byla doplněna o cholesterol (10 g/kg) a palmový tuk (70 g/kg). Orlistat byl přidán v množství 0, 200, 300 a 600 mg/kg. Za 3 týdny byli potkani usmrceni a odebrány vzorky krve a jater. Analyzovány byly sérové metabolity a vzorky exkrementů. Detaily metodiky jsou v práci Marounek a kol. (2019).

## Výsledky

Tab. 1 shrnuje účinky Orlistatu na sérové lipidy a koncentraci tuku v exkrementech potkanů. Orlistat v koncentraci 300 mg/kg zvýšil cholesterol v séru o 84 %. Při vyšší koncentraci (600 mg/kg) byl významně zvýšen sérový cholesterol i triglyceridy. Koncentrace tuku ve výkalech se zvyšovala současně s koncentrací Orlistatu v dietě. Orlistat neměl významný vliv na příjem krmiva, glykemii a koncentraci cholesterolu a celkových lipidů tkáně jater. Výsledky byly představeny na konferenci „Aktuální poznatky ve výživě a zdraví zvířat a bezpečnosti produktů 2021“. Z výsledků uvádíme jen statisticky signifikantní:

**Tab. 1.** Účinek Orlistatu při různém obsahu v dietě potkanů<sup>a</sup>

	Orlistat (mg/kg)			
	0	200	300	600
Cholesterol v séru (μmol/mL)	4,27 ± 0,79 <sup>b</sup>	4,94 ± 0,74 <sup>b</sup>	6,95 ± 0,47 <sup>b</sup>	10,98 ± 3,65 <sup>c</sup>
Triglyceridy v séru (μmol/mL)	1,93 ± 1,12 <sup>b</sup>	3,65 ± 1,03 <sup>b</sup>	6,00 ± 0,92 <sup>b</sup>	17,03 ± 10,05 <sup>c</sup>
Tuk v exkrementech (mg/g DM)	192,7 ± 16,7 <sup>b</sup>	203,0 ± 29,2 <sup>b</sup>	227,8 ± 23,1 <sup>bc</sup>	334,0 ± 20,1 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> 7 potkanů ve skupině

<sup>bc</sup>  $p < 0,05$

Mastné kyseliny byly stanoveny plynovou chromatografií s použitím kapilární kolony a s programem teploty 180 – 240 °C.

**Tab. 2.** Profil mastných kyselin<sup>a</sup> v exkrementech potkanů krměných dietou kontrolní a dietou s Orlistatem

Mastná kyselina	Kontrola	Orlistat 300 mg/kg
Kapronová	0	0,40 ± 0,12
Kaprylová	1,38 ± 0,22 <sup>b</sup>	7,64 ± 0,88 <sup>c</sup>

Kaprinová	1,88 ± 0,41 <sup>b</sup>	8,84 ± 0,45 <sup>c</sup>
Laurová	29,21 ± 1,67 <sup>b</sup>	18,20 ± 1,83 <sup>c</sup>
Myristová	20,75 ± 0,87 <sup>b</sup>	23,31 ± 1,20 <sup>b</sup>
Palmitová	16,36 ± 0,56 <sup>b</sup>	14,08 ± 0,34 <sup>c</sup>
Stearová	7,13 ± 1,38 <sup>b</sup>	5,88 ± 0,68 <sup>b</sup>
Olejová	4,82 ± 0,36 <sup>b</sup>	8,64 ± 0,43 <sup>c</sup>
Elaidová	1,16 ± 0,31 <sup>b</sup>	0,70 ± 0,23 <sup>b</sup>
Linolová	7,02 ± 1,43 <sup>b</sup>	9,59 ± 0,59 <sup>c</sup>
Nasyčené	85,95 ± 1,89 <sup>b</sup>	80,12 ± 1,35 <sup>c</sup>
Mononenasyčené	6,60 ± 0,65 <sup>b</sup>	9,51 ± 0,55 <sup>c</sup>
Polynenasycené	7,37 ± 0,49 <sup>b</sup>	10,23 ± 0,66 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> 7 potkanů ve skupině

<sup>bc</sup>  $p < 0,05$

## Závěr

Studie navazuje na předchozí experimenty s amidovaným alginátem, zaměřené na hypocholesterolemický účinek tohoto sorbentu lipidů. Studie VVVZ v roce 2019 srovnávala amidovaný alginát s Orlistatem a ukázala, že účinek amidovaného alginátu o koncentraci 40 g/kg krmné směsi je srovnatelný s účinkem Orlistatu v krmivu při koncentraci 300 mg/kg. V současném experimentu Orlistat neměl vliv na příjem potravy, parametry séra a jater, v koncentraci 300 mg/kg diety ale významně zvýšil koncentraci cholesterolu v séru o 84 %. Orlistat ve vyšší koncentraci (600 mg/kg) dále zvýšil sérový cholesterol i triglyceridy. Koncentrace tuku ve výkalech rostla úměrně s koncentrací Orlistatu v dietě. Hypercholesterolemický účinek Orlistatu dáváme do souvislosti se změnou profilu mastných kyselin v exkrementech, jak jsme popsali v předchozí práci (Marounek a kol. 2021). Soudíme, že účinkem Orlistatu se více nasyčených mastných kyselin vstřebá a více nenasycených mastných kyselin se ztrácí v exkrementech. Nasyčené mastné kyseliny (tzv. satureovaný tuk) jsou příčinou zvýšené cholesterolemie. Vyšší příjem Orlistatu u lidí nelze vyloučit v zemích, kde je dostupný bez předpisu. V takovém případě může být i škodlivý zvýšením sérových lipidů.

## Literatura

Guercioli, R. Mode of action of orlistat. *Int. J. Obesity*, 21, S12-S23, 1997.

Kris-Etherton, P.M., Yu, S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 65 (Suppl.), 1628S-1645S, 1997.

Lim, D.W., Song, M., Park, J., Park, S.W., Kim, N.H., Gaire, B.P., Choi, H.Y., Kim, H. Anti-obesity effect of HT048, a herbal combination, in high fat diet-induced obesity rats. *Molecules* 17(1), 14765-14777, 2012.

Mahmoud, R.H., Elnour, W.A. Comparative evaluation of the efficacy of ginger and orlistat on obesity management, pancreatic lipase and liver peroxisomal catalase enzyme in male albino rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol.* 17, 75-83, 2013.

Marounek, M., Czauderna, M., Dušková, D. účinek amidovaného alginátu na fekální lipidy a homeostázi cholesterolu u potkanů: srovnání s Orlistatem. *Studie VVVZ v roce 2019*.

Marounek, M., Volek, Z., Taubner, T., Czauderna, M. Metabolic effects of hydrophobic alginate derivative and tetrahydrolipstatin in rats fed diets supplemented with palm fat and cholesterol. *Folia Biol.* 67(4), 143-149, 2021.

Marounek, M., Volek, Z., Taubner, T., Dušková, D., Čermák, L. Effect of amidated alginate on faecal lipids, serum and hepatic cholesterol in rats fed diets supplemented with fat and cholesterol. *Int. J. Biol. Macromol.* 122, 499-502, 2019.



# ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA KONOPNÉHO SEMÍNKA VŮČI BAKTERII *SALMONELLA ENTERICA* SUBSP. *ENTERICA*

prof. MVDr. Eva Skřivanová, Ph.D.<sup>1,2</sup>; Ing. Lucie Malá, Ph.D.<sup>1,2</sup>; Ing. Matěj Malík<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

<sup>2</sup>Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

<sup>3</sup>Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

## Úvod

Bakteriální rod *Salmonella* se řadí k významným alimentárním patogenům způsobujícím onemocnění lidí i zvířat po celém světě, a to jak v rozvojových, tak i hospodářsky vyspělých zemích (Ferrari a kol. 2019). V zemích Evropské unie (EU) je každý rok hlášeno přes 91 000 případů salmonelózy (EFSA 2021). Onemocnění vyvolané salmonelami se nejčastěji projevuje jako gastroenteritida vyznačující se průjmy, horečkou a bolestmi břicha (Arya a kol. 2017). U imunokompromitovaných jedinců se však lze setkat i s extraintestinálními infekcemi (Feasey a kol. 2012). Pro člověka jsou primárním zdrojem nákazy drůbeží produkty včetně masa a vajec (Gast a kol. 2019), které patří k nejdůležitějším zdrojům dietních bílkovin pro lidskou potřebu (Singh a kol. 2021).

Po zákazu používání antibiotických stimulátorů růstu ve výživě hospodářských zvířat, který nabyt platnosti v zemích EU v lednu roku 2006, představuje prevence infekce a následné kontaminace drůbežích produktů, značný problém (Skřivanová a Rada 2014). Důvodem je fakt, že maso je zpravidla kontaminováno obsahem trávicích traktů na jatkách (Schlegelova a kol. 2004). Pro snížení rizika lze využít několik strategií, včetně přidavku látek s antimikrobiálními účinky do krmiva. Mezi tyto alternativní antibiotické látky patří probiotika (Khan a Chousalkar 2020), prebiotika (Al-Khalafah 2018), organické kyseliny (včetně mastných kyselin), nebo rostlinné extrakty (Abdel-Wareth a Lohakare 2014).

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) se vyznačuje vysokým obsahem látek s mnoha terapeutickými účinky, z nichž nejvýznamnější je analgetický, antioxidační, protizánětlivý, ale i antibakteriální nebo kancerogenní (Andre a kol. 2016). Antimikrobiální aktivita extraktů této jednoleté dvouděložné byliny je úzce spjata zejména s obsahem kanabinoidů (Schofs a kol. 2021). Zkoumána byla v řadě studií, kde byl potvrzen účinek vůči grampozitivním i gramnegativním patogenům (Kabelík a kol. 1960; Kaur a kol. 2015). Lze předpokládat, že *in vitro* testováním konopných extraktů by se mohlo docílit významných antibakteriálních účinků těchto látek vůči bakteriím rodu *Salmonella* a zajistit tak snížení kontaminace drůbežích produktů, což byl cíl této práce.

## Materiál a metody

### Rostlinný materiál

Semínka *Cannabis sativa* L. odrůdy Futura 75 byla získána ve spolupráci s Ing. Marií Bjelkovou, Ph.D. (Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk).

### Příprava a analýza rostlinného extraktu

Rostlinný materiál byl zmrazen pomocí kapalného dusíku, a poté rozemlet na jemný prach v hmoždíři s tloučkem. Z takto připravené směsi bylo 0,30 g extrahováno v 10 ml 96% ethanolu s čistotou pro UV (PENTA, Praha, Česká republika) po dobu 60 minut za stálého míchání na magnetické míchačce (MULTISTIRRER Digital 15, VELP Scientifica, Itálie) při 300 otáčkách za minutu. Směsi se poté zfiltrovaly ve vakuu za použití filtračního zařízení dle Mortona (poréznost S4/P16) a filtrát se

shromáždil. Semínka byly vyjmuta z filtru a smíchána s dalšími 10 ml rozpouštědla. Tento krok byl dvakrát opakován a filtráty byly následně smíseny. Extrakty byly ještě jednou filtrovány přes nylonové injekční filtry (0,22  $\mu\text{m}$ ) do HPLC vialek. Vzorokly extraktů byly injikovány do systému vysokoúčinné kapalinové chromatografii vybaveného detekcí diodového pole (HPLC-DAD; Agilent 1260, Agilent Technologies Inc., USA) s kolonou Luna<sup>®</sup> C18 (2) 250  $\times$  3 mm, velikost částic 3  $\mu\text{m}$  (Phenomenex, USA). Izokratická mobilní fáze sestávala ze směsi acetonitril/H<sub>2</sub>O (31:9, v/v) s 0,1% HCOOH (v/v) a 0,1 mol/l NH<sub>4</sub>COOH (bez úpravy pH), průtok byl 0,55 ml/min, teplota 37 °C, objem nástřiku vzorku byl 8  $\mu\text{l}$  a UV detekce byla provedena při 275 nm (Křižman, 2020). Přístroj byl externě kalibrován pomocí standardu tetrahydrokanabinolové kyseliny (THCA) od 0,3 do 100 mg/l a dalších fyto-kanabinoidních standardů v rozmezí 0,3-10 mg/l (Sigma-Aldrich, Česká republika). Data byla analyzována pomocí softwaru OpenLAB CDS, ChemStation Edition, Rev. C.01.5. Zásobní roztok o koncentraci 10 000  $\mu\text{g/ml}$  byl skladován při teplotě -20 °C do doby použití.

### Bakteriální kmeny a kultivační podmínky

K posouzení antibakteriálních vlastností extraktů konopného semínka odrůdy Futura 75 byly testovány dva kmeny *S. enterica* subsp. *enterica*, konkrétně CCM 4420 a CCM 7933, pocházející z České sbírky mikroorganismů (Brno, Česká republika). Bakteriální kmeny byly kultivovány a udržovány v Trypton-sójovém bujonu (Oxoid Inc., Basingstoke, Hampshire, Velká Británie) při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin za aerobních podmínek.

### Stanovení minimálních inhibičních koncentrací extraktu konopného semínka

Pro určení minimálních inhibičních koncentrací (MIK) testovaného extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75 byla, na základě metodiky CLSI (2015) upravené dle poznatků Cos a kol. (2006), použita *in vitro* mikrodiluční bujonová metoda v 96-ti jamkových mikrotitračních destičkách. Počáteční koncentrace testované látky byla 2048  $\mu\text{g/ml}$ . Bakteriální inokulum *S. enterica* subsp. *enterica* bylo standardizováno na koncentraci  $5 \times 10^5$  CFU/ml měřením v nefelometru na základě McFarlandovy zákalové stupnice. Takto připravené destičky byly inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin za aerobních podmínek. Růst organismů v médiu před a po inkubaci byl hodnocen měřením zákalu v jednotlivých jamkách pomocí Infinite 200 PRO Microplate Reader (Tecan, Švýcarsko) při vlnové délce 405 nm. MIK extraktu konopného semínka byly hodnoceny jako nejnižší koncentrace omezující růst *S. enterica* subsp. *enterica* v jamkách oproti pozitivní kontrole o  $\geq 80$  %. Veškerá měření byla prováděna ve třech na sobě nezávislých experimentech. Výslednými MIK byl modus získaných hodnot.

### Výsledky a diskuze

Obsah kanabinoidních látek v ethanolovém extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75 je uveden v Tabulce 1. V semínku bylo identifikováno celkem šest látek: kanabidivarinová kyselina, kanabidiolová kyselina, kanabigerolová kyselina, kanabigerol, kannabinolová kyselina a tetrahydrokanabinolová kyselina. Nejvyšší byl obsah tetrahydrokanabinolové kyseliny (0,014 %), následovala kanabidiolová kyselina (0,008 %). Ve studii Appendino a kol. (2008) byly testovány antimikrobiální účinky jednotlivých kanabinoidních látek. Tetrahydrokanabinolová kyselina inhibovala růst kmenů *Staphylococcus aureus*, vč. kmenů multirezistentních, při MIK od 0,5 do 2  $\mu\text{g/ml}$ . Oproti tomu citlivost gramnegativních patogenů (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*) vůči tomuto typu kanabinoidních látek byla nižší, MIK > 100  $\mu\text{g/ml}$ .

Výsledná citlivost obou testovaných kmenů *Salmonella enterica* subsp. *enterica* je uvedena v Tabulce 2. Ethanolový extrakt konopného semínka inhiboval růst obou testovaných kmenů při koncentraci 512  $\mu\text{g/ml}$ . V odborné literatuře a databázích existuje nespočet studií zabývajících se extrakty z různých částí *C. sativa* L., zejména ve spojení s grampozitivními patogeny jako je *S. aureus* (Farha a kol. 2020; Frassinetti a kol. 2020). Oproti tomu o antibakteriální aktivitě extraktů z konopných semínek, především s odkazem na gramnegativní mikroorganismy, kam spadá rod *Salmonella*, je známo velmi

málo. Proto jsou výsledky této studie těžce srovnatelné se soudobou literaturou. Jedním z mála výzkumů zabývajících se podobnou problematikou je výzkum Frassinettiho a kol. (2020), kteří dospěli k závěru, že extrakt konopného semínka inhiboval růst *S. enterica* při MIK 1000 µg/ml, což je v blízké korelaci s výsledky předložené studie.

**Tabulka 1.** Obsah kanabinoidních látek v ethanolovém extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75.

Kanabinoidní látky	ppm	%
Kanabidivarinová kyselina	0,0361	0,00036
Kanabidivarin	0	0
Kanabidiolová kyselina	0,81353	0,00814
Kanabigerolová kyselina	0,11973	0,0012
Kanabigerol	0,50088	0,00501
Kanabidiol	0	0
Tetrahydrokanabivarin	0	0
Tetrahydrokanabivarinová kyselina	0	0
Kanabinolová kyselina	0,0442	0,00044
Kanabinol	0	0
Delta-9-tetrahydrokanabinol	0	0
Delta-8-tetrahydrokanabinol	0	0
Tetrahydrokanabinolová kyselina	1,41326	0,01413
Kanabichromenová kyselina	0	0
Kanabicyklol	0	0
Kanabichromen	0	0
Kanabicyklolová kyselina	0	0
<b>Celkový obsah kanabinoidů</b>	<b>2,927686261</b>	<b>0,029276</b>

Cílem kanabinoidních látek přítomných v *C. sativa* L. je cytoplazmatická membrána bakterií. Narušení cytoplazmatické membrány může vést až k samotné lýze bakteriálních buněk (Galleta a kol. 2020). Obecně je obsah kanabinoidních látek v semínkách *C. sativa* L. poměrně nízký (Hemphill a kol. 1980), což koresponduje s výsledky předložené studie (Tabulka 1). Kromě těchto látek jsou za antibakteriální účinky konopí zodpovědné také alkaloidy, glykosidy nebo flavonoidy, ale i fenylypropanoidy, mastné kyseliny a terpeny (Kamboh a kol. 2015; Gonçalves a kol. 2019). Obecně je antimikrobiální aktivita konopných extraktů vyšší vůči grampozitivním bakteriím, včetně multirezistentních kmenů (Blaskovich a kol. 2021). Účinek kanabinoidních látek proti gramnegativním patogenům může být omezen z důvodu přítomnosti vnější membrány a lipopolysacharidové vrstvy u tohoto typu bakterií (Zhang a kol. 2013).

Kromě toho, antimikrobiální aktivitu obsahových látek *C. sativa* L. ovlivňují také environmentální a klimatické podmínky růstu, nebo metoda extrakce (Khan a kol. 2014).

**Tabulka 2.** Antibakteriální aktivita extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75.

<b>MIK extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75 (µg/ml)</b>		
Mikrotitrační destička	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	
	CCM 4420	CCM 7933
1. Měření	512	512
	512	512
	512	512
2. Měření	512	512
	1024	512
	512	512
3. Měření	512	1024
	512	512
	1024	512
Modus	<b>512</b>	<b>512</b>

CCM, Česká sbírka mikroorganismů; MIK, minimální inhibiční koncentrace.

### Závěr

Tento výzkum prokázal antibakteriální účinek extraktu konopného semínka odrůdy Futura 75 vůči bakterii *S. enterica* subsp. *enterica*. Přídavek této látky do krmiva pro drůbež by potenciálně mohl zajistit snížení kontaminace drůbežích produktů.

### Poděkování

Tato práce vznikla za podpory projektu MZE-RO0718 a CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000845.

### Použité literární zdroje

- Abdel-Wareth AAA, Lohakare JD. 2014. Effect of dietary supplementation of peppermint on performance, egg quality, and serum metabolic profile of hyline brown hens during the late laying period. *Animal Feed Science and Technology* 197: 114–120.
- Al-Khalaifah HS. 2018. Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poultry Science* 97: 3807–3815.
- Andre MC, Hausman JF, Guerriero G. 2016. Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science* 19: 1-17.
- Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, Rahman MM. 2008. Antibacterial cannabinoids from Cannabis sativa: A structure-activity study. *Journal of Natural Products* 71: 1427-1430.
- Arya G, Holtslander R, Robertson J, Yoshida C, Harris J, Parmley J, Nichani A, Johnson R, Poppe C. 2017. Epidemiology, pathogenesis, genosero-typing, Antimicrobial resistance, and prevention and control of non-typhoidal Salmonella serovars. *Current Clinical Microbiology Reports* 4: 43-53.
- Blaskovich MA, Kavanagh AM, Elliott AG, Zhang B, Ramu S, Amado M, Lowe GJ, a kol. 2021. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Communications Biology* 4: 1-18.
- CLSI. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard M07-A10 – Tenth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, Maes L. 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. *Journal of Ethnopharmacology* 106: 290-302.
- EFSA. 2021. Salmonella. Dostupné online z: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella> (02-11-2022).

- Farha AK, Yang QQ, Kim G, Li HB, Zhu F, Liu HY, Gan RY, Corke H. 2020. Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience* 38: 100751.
- Feasey NA, Dougan G, Kingsley RA, Heyderman RS, Gordon MA. 2012. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *The Lancet*, 379: 2489-2499.
- Ferrari RG, Rosario DKA, Cunha-Neto A, Mano SB, Figueiredo EES, Conte-Junior CA. 2019. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: a metaanalysis. *Applied and Environmental Microbiology* 85: 1-21.
- Frassinetti S, Gabriele M, Moccia E, Longo V, Di Gioia D. 2020. Antimicrobial and antibiofilm activity of *Cannabis sativa* L. seeds extract against *Staphylococcus aureus* and growth effects on probiotic *Lactobacillus* spp. *Online Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 124: 109149.
- Galletta M, Reekie TA, Nagalingam G, Bottomley AL, Harry EJ, Kassiou M, Triccas JA. 2020. Rapid antibacterial activity of cannabichromenic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics* 9: 1-11.
- Gast RK, Regmi P, Guraya R, Jones DR, Anderson KE, Karcher DM. 2019. Contamination of eggs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens of four commercial genetic lines in conventional cages and enriched colony housing. *Poultry Science* 98: 5023-5027.
- Gonçalves J, Rosado T, Soares S, Simão AY, Caramelo D, Luís Â, Fernández N, Barroso M, Gallardo E, Duarte AP. 2019. Cannabis and its secondary metabolites: their use as therapeutic drugs, toxicological aspects, and analytical determination. *Medicines* 6: 1-47.
- Hemphill JK, Turner JC, Mahlberg PG. 1980. Cannabinoid content of individual plant organs from different geographical strains of *Cannabis sativa* L. *Journal of Natural Products* 43: 112-122.
- Kabelík J, Krejčí Z, Santavy F. 1960. Cannabis as a medicament. *Bulletion on Narcotics* 12: 5-23.
- Kamboh A, Arain MA, Mughal MJ, Zaman A, Arain ZM, Soomro AHJ. 2015. Flavonoids: Health promoting phytochemicals for animal production—a Review. *Journal of Animal Health and Production* 3: 6-13.
- Kaur S, Sharma C, Chaudhry S, Aman R. 2015. Antimicrobial potential of three common weeds of Kurukshetra: an in vitro study. *Research Journal of Microbiology* 10: 280-287.
- Khan BA, Warner P, Wang H. 2014. Antibacterial properties of hemp and other natural fibre plants: a review. *BioResources* 9: 3642-3659.
- Khan S, Chousalkar KK. 2020. Transcriptome profiling analysis of caeca in chicks challenged with *Salmonella* Typhimurium reveals differential expression of genes involved in host mucosal immune response. *Applied Microbiology Biotechnology* 104: 9327–9342.
- Križman, M. (2020). A simplified approach for isocratic HPLC analysis of cannabinoids by fine tuning chromatographic selectivity. *European Food Research and Technology* 246: 315-322.
- Schlegelova J, Nápravníková E, Dendis M, Horváth R, Benedík J, Babák V, Klímová E, Navrátilova P, Šustáčkova A. 2004. Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species. *Meat Science* 66: 557–565.
- Schofs L, Sparo MD, Sánchez Bruni SF. 2021. The antimicrobial effect behind *Cannabis sativa*. *Pharmacology Research & Perspectives* 9: 1-17.
- Singh M, Trivedi N, Enamala MK, Kuppam C, Parikh P, Nikolova MP, Chavali M. 2021. Plant-based meat analogue (PBMA) as a sustainable food: A concise review. *European Food Research and Technology* 247: 2499-2526.
- Skřivanová E, Rada V. Vliv výživy na výskyt patogenních bakterií v drůbežím mase. Praha Uhřetěves: Vědecký výbor výživy zvířat, 2014.
- Zhang GE, Meredith TC, Kahne D. 2013. On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 16: 779-785.

## Sklizeň kukuřice metodou Shredlage a její vliv na kvalitu siláže

**Ing. Filip Jančík, Ph.D., doc. Ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D., Ing. Petra Kubelková, Ph.D., Ing. Radko Loučka, CSc.**

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

### Úvod

Kukuřičná siláž je jedním z nejdůležitějších krmiv přežvýkavců, zejména dojníc, díky svému vysokému obsahu energie a výnosu krmné biomasy (Horst a kol.; 2020). Saylor a kol. (2021) uvádějí, že agresivní zpracování zrna a prodloužené skladování mají potenciál zlepšit dostupnost škrobu v kukuřičné siláži. Během posledního desetiletí bylo vyvinuto úsilí o zlepšení zpracování zrna v kukuřičných silážích pomocí sklízecích řezaček vybavených různými typy mačkáčích válců. Dojnice vyžadují krmné dávky s přiměřenou velikostí částic pro udržení zdravé funkce bachoru (Beauchemin a Yang; 2005). Kukuřičná siláž je současně zdrojem fyzikálně efektivní vlákniny a energie pro dojnice (Saylor a kol.; 2021). Distribuci velikosti částic objemných krmiv a směsných krmných dávek (TMR) lze určit pomocí separátoru částic (Penn State Particle Separator) (Kononoff a kol.; 2003). Vzhledem k tomu, že velikosti částic krmných dávek jsou pro zvíře důležitá, je pro správnou výživu nutný popis délky částic krmiva (spíše než pouze střední délka) (Mertens a Creating; 1997). Pouze 30 % kukuřičných siláží však mělo ve sledování Plaiziera a kol. (2004) rozdělení různých velikostí částic, které odpovídalo doporučením Kononoffa a Heinrichse [2003], a 30 % kukuřičných siláží mělo také průměrné délky částic, které byly nižší než tato doporučení. Prodloužení teoretické délky řezanky nad 19 mm a větší vůle při zpracování zrn může potenciálně snížit stravitelnost živin a užítkovost zvířat (Cooke a Bernard; 2005). Menší částice píče tráví méně času v bachoru a jsou méně dostupné pro mikrobiální trávení; to snižuje stravitelnost, zejména vlákniny kvůli její relativně pomalé rychlosti trávení (Udén a kol.; 1980).

V naší studii bylo porovnáno a hodnoceno konvenční zpracování a shredlage zpracování kukuřice na siláž. Konvenční zpracování je určeno pro výrobu siláže o délce řezanky od 3,5 do 22 mm, pomocí drticích válců s podélnými zuby s cílem lámání (drcení) kukuřičných zrn. Naopak zpracování shredlage je určeno pro výrobu siláže o délce řezanky od 22 do 30 mm, což by mohlo být důležité pro přípravu krmných dávek s optimální strukturou. Procesor shredlage má zároveň válce s protiběžně se otáčející spirálovou drážkou, takže při průchodu kukuřičného materiálu mezi válci dochází i k jeho odtahování bočním pohybem zubů, takže kousky klasů jsou plně rozlámané a jádro se rozdrťí a zároveň se velmi účinně drťí i materiál stébla v podélném směru a také se těmito válci odlupuje stěna stébel. Shredlage válce mají také větší rozdíl v rychlosti válců oproti běžným mačkáčím válcům.

Potenciální zlepšení stravitelnosti škrobu může být důležitým přínosem shredlage válců se spirálovou drážkou. Celková stravitelnost škrobu v kukuřičné siláži se však u laktujících dojníc krmných diet založenou na kukuřičné siláži pohybuje od 80 do 98 % (Ferraretto a Shaver; 2012). Snížení velikosti částic kukuřičných zrn pomocí mačkáčích válců zvyšuje stravitelnost škrobu v celém traktu (Bal a kol.; 2000).

Cílem této studie bylo vyhodnotit vliv konvenčního a shredlage zpracování kukuřice na zpracování zrna, fermentační profil, fyzikálně efektivní vlákninu a stravitelnost kukuřičné siláže.

### Materiál a metody

Stay-green hybrid kukuřice Agro Vitallo (FAO 280, KWS) byl pěstován v provozních podmínkách ve 2 po sobě jdoucích letech v hustotě 90 000 rostlin na hektar. Kukuřičný porost byl pro náš pokus sklizen vždy během 1 dne, a to buď na konvenční siláž (KON; teoretická délka řezanky 10 mm; konvenční válce s 30% rozdílem rychlosti válců, válce mají vodorovné zuby; mezera mezi válci 1 mm) nebo shredlage (SHR; teoretická délka řezanky 25 mm; shredlage mačkač s 50% rozdílem otáček válců, válce mají pilové zuby s protiběžnou spirálovou drážkou, s mezerou mezi válci 1 mm) řezačkami Jaguar (Claas Saugau GmbH; Bad Saugau; Harsewinkel; Německo). Siláže byly vyrobeny ručně a skladovány v experimentálních silech (objem 1 m<sup>3</sup>, 1 silo na zpracování a rok, experiment byl opakován ve 2 letech). Silo bylo vyrobeno z IBC kontejneru, kde byly vloženy dvě vrstvy silážní plachty. Po naplnění bylo silo

uzavřeno silážní plachtou a siláž byla zakryta zátěžovými vaky. Hustota siláže byla kolem 670 kg/m<sup>3</sup>. Siláže byly skladovány za stejných podmínek po dobu 2 měsíců. Poté byla sila otevřena a siláže byly analyzovány na chemické složení, hodnocení velikosti částic a zpracování zrna a stanovení stravitelnosti živin. Analýzy a vyhodnocení byly provedeny na třech opakováních z každé siláže.

Vzorky siláží byly sušeny při 50 °C po dobu 48 hodin (Jančík a kol.; 2017) a poté rozemlety (Retsch SM 100; Retsch GmbH, Haan, Německo) přes 1 mm síto. Zbytková vlhkost byla stanovena sušením v sušárně po dobu 6 hodin při 105 °C. Obsah popela byl stanoven po 6 hodinách při 550 °C. Tuk byl měřen po 6 hodinách petroletherové extrakce podle metody AOAC 2003.05 (AOAC; 2005). Dusík byl stanoven Kjeldahlovou metodou podle metody AOAC 976.05 (AOAC; 2005) a dusíkaté látky (NL) byly vypočteny jako N × 6,25. Vlákna byla stanovena podle AOAC 962.09 a je prezentována bez popela. Koncentrace aNDFom byla měřena podle metody AOAC 2002.04 (AOAC; 2005) a byla analyzována s použitím siřičitanu sodného a  $\alpha$ -amylázy a je prezentována bez popela. ADFom byla stanovena podle metody AOAC 973.18 a je uvedena bez popela. Všechny analýzy vlákniny byly uskutečněny na přístroji ANKOM220 (ANKOM Technology Corporation, Macedon NY, USA). Škrob byl analyzován podle metody AOAC 920.40 (AOAC; 2005). Vzorky čerstvé siláže byly analyzovány na kvalitu fermentace (pH, koncentrace kyseliny mléčné, octové a máselné) podle Kvasničky (Kvasnička; 2000) pomocí analyzátoru IONOSEP 2001 (RECMAN–laboratorní systémy, Ostrava, Česká republika).

Podíly velikostí částic siláží byly stanoveny pomocí Penn State Particle Separator s 19-, 8- a 4- mm síty a spodní miskou. 300 g vzorku siláže v čerstvém stavu bylo třepáno na Penn State Particle Separator 40 pohyby (5 pohybů v každém směru, dvakrát). Pef (v rozmezí od 0 do 1) se určuje jako podíl částic zadržovaných síty 19,0 a 8,0 mm (Calberry a kol.; 2003). Obsah peNDF (fyzikálně efektivní neutrální detergentní vlákna) v silážích se vypočítal vynásobením faktoru fyzikální účinnosti (pef) a obsahu NDF v siláži. Skóre zpracování jádra bylo měřeno jako procento částic škrobu procházejících sítem o velikosti 4,75 mm (Ferreira a Mertens; 2005).

Šest romanovských ovcí (skopců) s podobnou tělesnou hmotností bylo rozděleno do dvou skupin a bylo použito v opakovaném 2 × 2 faktoriálním designu (2 skupiny × 2 ošetření). V každém opakování byla zvířata krmena dietou založenou na (a) konvenční kukuřičné siláži (KON) nebo (b) shredlage siláži (SHR) po dobu 14 dnů (přípravné období) a poté byli skopci individuálně umístěni v bilančních klecích na pětidenní pokus (období odběru vzorků). Stejná metoda byla použita pro siláže z obou ročníků. Siláže byly nabízeny ve dvou stejných krmných dávkách v 7:00 a 18:00. Zvířata měla během celého 19denního experimentu volný přístup k vodě. Zbytky krmiva a výkaly byly odebírány každý den, shromážděny do plastového sáčku pro každé zvíře a uloženy v mrazáku. Vzorky krmiva a zbytků byly sušeny v sušárně při 55 °C a vzorky trusu byly lyofilizovány (lyofilizátor Alpha 1–4 LSC, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Německo) na konstantní hmotnost, poté rozemlety přes 1 mm síto (Retsch SM 100; Retsch GmbH, Haan, Německo) a analyzovány na popel, sušinu (DM), NL, frakce vlákniny, tuk a škrob. Netto energie laktace (NEL, MJ /kg sušiny) byla vypočtena na základě naměřeného chemického složení a hodnot stravitelnosti živin pomocí rovnic Vencla a kol. (1991).

Všechna data byla analyzována pomocí GLM procedury programu SAS (SAS Institute Inc., Cary, Severní Karolína, USA, 2002). Metody zpracování kukuřičné siláže, rok sklizně a jejich interakce byly použity jako fixní efekty v modelu pro hodnocení chemického složení, fermentačního profilu a rozdělení velikosti částic. Jako náhodné faktory byla v modelu použita opakování. Byla porovnána stravitelnost živin na základě způsobu zpracování siláže, roku sklizně a jejich interakcí jako fixní efekty v modelu a zvířata byla použita jako náhodný efekt. Porovnání průměrů bylo provedeno Tukey-Kramerovým testem.

## Výsledky a diskuse

Chemické složení a fermentační profil je uveden v tabulce 1. Siláže se lišily v obsahu sušiny. Siláže KON a SHR měly průměrnou sušinu 335 g/kg a 330 g/kg. Největší rozdíly byly mezi prvním a druhým rokem sklizně (349 g/kg vs. 316 g/kg). Siláže SHR měly vyšší obsah NL oproti silážím KON (83 vs. 80 g/kg sušiny). Obsah NL se lišil i mezi roky (80 vs. 84 g/kg sušiny). V této studii byly také zjištěny rozdíly v obsahu tuku mezi roky (32 vs. 22 g/kg DM). Zkoumané siláže se nelišily v ostatních chemických

parametrech. Obsah škrobu se nelišil mezi metodami zpracování, ale byl odlišný mezi 1. a 2. rokem sklizně (334 vs. 361 g/kg sušiny). Způsob zpracování neměl žádný vliv na fermentační profil siláží. Siláže vyrobené v 1. roce měly vyšší množství kyselin než siláže vyrobené ve 2. roce; mezi silážemi vyrobenými ve stejném roce však nebyly žádné rozdíly.

V předchozích studiích byly zdokumentovány nekonzistentní výsledky týkající se rozdílů ve složení živin mezi různými délkami řezanky kukuřičné siláže. Bal a kol. (2000) poznamenal, že velkou část změn v chemickém složení různě zpracovaných kukuřičných siláží (0,95; 1,45; nebo 1,9 cm teoretická délka řezanky) lze připsat jednotnějším technikám odběru vzorků těchto typů siláží. Rozdíly v chemickém složení rostlin, zejména v obsahu sušiny, se mohou vyskytnout i v rámci porostu stejného hybridu kukuřice. Výrazné rozdíly v chemickém složení našich siláží byly zjištěny zejména mezi roky, takže předpokládáme, že významným faktorem může být vliv roku sklizně.

Způsob zpracování neměl žádný vliv na fermentační profil siláží v našem experimentu; rozdíly v těchto parametrech byly pozorovány pouze mezi roky. Kung a Shaver (2000) doporučovali cílové hladiny pro pH, obsah amoniaku a obsah kyseliny mléčné v kukuřičné siláži 3,7 až 4,2, 5,0 až 7,0 % NL a 4,0 až 7,0 % v sušině, v daném pořadí. Kononoff a Heinrichs (2003) uvádějí pH, obsah amoniaku a obsah kyseliny mléčné v kukuřičné siláži 3,7, 5,4 % NL a 5,1 % sušiny. Nami zjištěné hodnoty pH byly tedy srovnatelné s předchozími studiemi; koncentrace kyseliny mléčné a amoniaku byly nižší než doporučené koncentrace v kukuřičných silážích. Zajímavé je, že ve 2. roce došlo k výraznému poklesu obsahu kyseliny mléčné, i když jsme nepozorovali pokles hodnot pH.

Někteří farmáři se obávají kvality u různě zpracované kukuřičné siláže, protože předpokládají, že materiál nařezaný na vyšší délku nebude dobře zhutněn. V našich experimentech jsme potvrdili, že metoda SHR neovlivnila kvalitu fermentace, a proto není nutné se zvýšení řezanky bát, při dodržení pečlivosti při dusání silážované hmoty.

**Tabulka 1.** Chemické složení, parametry fermentace a parametry zpracování kukuřičných siláží sklizených konvenčním nebo shredlage způsobem.

Rok Zpracování	1		2		SEM	p		
	KON <sup>1</sup>	SHR <sup>2</sup>	KON	SHR		ZP <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	ZP*R <sup>5</sup>
Sušina, g/kg	343 <sup>b</sup>	355 <sup>a</sup>	327 <sup>c</sup>	306 <sup>d</sup>	2,6	0,01	<0,01	<0,01
<b>Chemické složení, g/kg sušiny</b>								
Dusíkaté látky	77,8	82,5	83,0	84,3	1,0	0,02	0,01	0,11
Vláknina	210	200	210	211	5,8	0,50	0,33	0,38
aNDFom	438	432	443	434	11,8	0,53	0,79	0,91
ADFom	217	209	209	223	4,3	0,51	0,48	0,17
Škrob	331	337	361	361	9,7	0,76	0,02	0,81
<b>Kvalita fermentace, g/kg sušiny</b>								
pH	3,92	3,94	3,94	3,90	0,02	0,47	0,60	0,15
K. mléčná	44,7	41,2	21,2	20,1	3,5	0,48	<0,01	0,70
K. octová	16,0	14,5	7,9	9,2	1,8	0,96	0,01	0,46
Amoniak, g/kg NL	49,0	45,1	42,3	33,0	4,1	0,15	0,01	0,52
<b>Stupeň zpracování %</b>	57,7 <sup>c</sup>	66,7 <sup>b</sup>	51,6 <sup>c</sup>	67,6 <sup>a</sup>	0,45	<0,01	<0,01	<0,01
<b>Separace pomocí separátoru částic, % v čerstvém stavu</b>								
19.0 mm	2,20 <sup>b</sup>	18,8 <sup>a</sup>	0,63 <sup>c</sup>	7,74 <sup>bc</sup>	0,85	<0,01	<0,01	0,01
8.0 mm	62,5 <sup>a</sup>	53,1 <sup>b</sup>	55,4 <sup>b</sup>	60,3 <sup>a</sup>	1,50	0,16	0,95	0,01
4.0 mm	21,3 <sup>b</sup>	16,7 <sup>c</sup>	32,4 <sup>a</sup>	21,5 <sup>b</sup>	1,21	<0,01	<0,01	0,03
Dno	14,0	11,4	11,6	10,5	0,83	0,06	0,07	0,40
Částice nad 8 mm	64,7	71,9	56,1	68,1	1,21	<0,01	0,01	0,08
<b>peNDF</b>	283	311	248	295	7,5	0,01	0,01	0,22



<sup>1</sup> KON: konvenční zpracování; <sup>2</sup> SHR: zpracování shredlage. <sup>3</sup> ZP: zpracování. <sup>4</sup> R: rok. <sup>5</sup> ZP\* R: interakce mezi zpracováním a rokem. <sup>abcd</sup> Průměry v řádcích s různými horními indexy ukazují významný rozdíl při  $p < 0,05$ .

Kvalitu zpracování kukuřičné siláže lze popsat pomocí stupně zpracování zrna (procento škrobových částic procházejících sítím 4,75 mm). Tento parametr byl výrazně zvýšen metodou SHR ve srovnání s KON (67 vs. 55 %). V obou letech bylo zjištěno vyšší skóre zpracování zrna pro SHR (tab. 1). Procento částic zadržených na horním sítu separátoru bylo vyšší pro SHR než KON (13 vs. 1,4 %). Rozdíly byly zjištěny i mezi roky. Procento zadržené na dvou horních sítích bylo také vyšší pro SHR ve srovnání s KON (70 vs. 60 %). To vyústilo ve vyšší obsah peNDF v SHR než v KON (303 vs. 266 g/kg sušiny).

Skóre zpracování jádra bylo vyšší u siláží SHR oproti KON, což naznačuje, že v průměru bylo drcení zrna vyšší u SHR (rozdíl 12,6 %). Navíc Vanderwerth a kol. (2015) zjistili vyšší skóre zpracování shredlage siláže (72,4 %) ve srovnání s konvenčním (67,6 %). Tyto výrazné rozdíly byly zjištěny i u řezanky kukuřice (Jančík a kol.; 2021). To svědčí o lepším zpracování zrn a tím o vyšší dostupnosti v trávicím traktu.

Využití SHR vedlo ke zvýšení podílu delších částic v našem experimentu. Technologie shredlage má za cíl lepší zpracování zrn a zároveň dosažení vyššího podílu delších částic. To vede k vyššímu peNDF, což může snížit trávicí problémy u přežvýkavců. Heinrichs a kol. (1999) uvedli, že vzorky kukuřičné siláže obsahovaly v průměru  $8,1 \pm 6,4$  % částic větších než 19,0 mm (na bázi sušiny), ale hodnoty se pohybovaly od 1 do 81 %.

Očekával se vyšší podíl delších částic pro SHR, protože by to měl být hlavní cíl této metody. Velmi důležitým zjištěním jsou však velmi vysoké rozdíly ve skóre zpracování zrna pro SHR, což by mohlo vést k lepší stravitelnosti pro přežvýkavce.

Tabulka 2 uvádí hodnoty stravitelnosti živin pro testované kukuřičné siláže zjištěné metodou *in vivo* u ovcí. Způsob zpracování neovlivnil stravitelnost NL a tuku (54 % a 87 % vs. 53 % a 86 % pro KON vs. SHR, v tomto pořadí). Stravitelnost NL se lišila mezi ročníky s vyšší stravitelností ve druhém roce ( $p < 0,01$ ). Stravitelnost škrobu byla ovlivněna způsobem zpracování (98 pro KON vs. 99 % pro SHR) a také ročníkem (96,8 % v prvním roce vs. 99,5 % ve druhém roce). Stravitelnost ostatních živin byla ovlivněna pouze způsobem zpracování. Siláže zpracované SHR měly o 3,5 % vyšší stravitelnost sušiny a o 3,6 % vyšší stravitelnost organické hmoty ve srovnání s KON ( $p < 0,01$ ). Největší rozdíly byly zjištěny ve stravitelnosti vlákniny a NDF. Stravitelnost NDF a vlákniny byla vyšší u SHR než u KON (54 vs. 48 % a 49 vs. 43 %). Netto energie laktace (NEL), vypočtená z naměřených hodnot chemického složení a stravitelnosti, je uvedena v tabulce 2. Hodnoty NEL byly vyšší u SHR ve srovnání s KON (6,38 vs. 6,24 MJ/kg sušiny).

V literatuře jsou uváděny různé účinky zpracování na trávení vlákniny kukuřičné siláže. Johnson a kol. (2003) a Schwab a kol. (2002) uvedli sníženou stravitelnost vlákniny v důsledku zpracování, ale Bal a kol. (2000) uvedli, že zpracování zvýšilo trávení u kukuřičné siláže. Prezentován byl také pozitivní vliv SHR na úbytek NDF při *in situ* degradaci ve srovnání s KON (Jančík a kol.; 2021). Stravitelnost sušiny a NDF byla v našem případě vyšší u siláží SHR. Tuto skutečnost připisujeme podélnému nadrcení stonků kukuřice v průběhu zpracování metodou SHR a tím zvýšení plochy povrchu dostupné pro uchycení bacherových mikroorganismů a následně usnadnění trávení. Narušení zrna je nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím stravitelnost škrobu v kukuřičných silážích (Saylor a kol.; 2021) a je to vidět i na našich výsledcích. Krávy krmené lépe zpracovanou kukuřičnou siláží měly celkově vyšší trávení škrobu než ty krmené nezpracovanou siláží v experimentu Eblinga a Kunga (2004). Podobně jako u jejich výsledků byla v naší studii stravitelnost škrobu a energie, vyjádřená jako MJ NEL/kg sušiny, zvýšena u siláže SHR.

**Tabulka 2.** Vliv zpracování kukuřičné siláže na *in vivo* stravitelnost živin.

Rok Zpracování	1		2		SEM	p		
	KON <sup>1</sup>	SHR <sup>2</sup>	KON	SHR		ZP <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	ZP*R <sup>5</sup>
Stravitelnost, % přijatého								
Sušina	66.3	71.4	67.1	69.1	1.16	0.01	0.43	0.13
Organická hmota	67.8	72.9	68.3	70.3	1.19	0.01	0.28	0.12
Dusíkaté látky	48.2	48.1	59.4	58.4	1.61	0.74	<0.01	0.77
Vláknina	41.6	50.0	44.6	48.8	2.33	0.01	0.64	0.26
aNDFom	47.7	56.6	48.2	51.0	2.12	0.01	0.16	0.10
Škrob	95.8 <sup>b</sup>	97.9 <sup>a</sup>	99.4 <sup>a</sup>	99.6 <sup>a</sup>	0.44	0.02	<0.01	0.04
Tuk	87.2	87.2	86.8	85.0	1.20	0.46	0.27	0.46
Netto energie laktace, MJ sušiny/kg DM	6.17	6.37	6.31	6.39	0.06	0.02	0.11	0.24

<sup>1</sup> KON: konvenční zpracování; <sup>2</sup> SHR: zpracování shredlage. <sup>3</sup> ZP: zpracování. <sup>4</sup> R: rok. <sup>5</sup> ZP\*R: interakce mezi zpracováním a rokem. <sup>ab</sup> Průměry v rádcích s různými horními indexy ukazují významný rozdíl při  $p < 0,05$ .

## Závěr

Shredlage sklizeň kukuřice na siláž měla významný vliv na zpracování zrna a na obsah peNDF. Nejdůležitějším zjištěním je významný vliv zpracování shredlage na zvýšení *in vivo* stravitelnosti sušiny, organické hmoty, škrobu, hrubé vlákniny a NDF, což vede k vyšším hodnotám NEL a tím i ke zvýšení nutriční hodnoty pro přežvýkavce s potenciálem vyšší produkce mléka nebo masa.

## Poděkování

Tento příspěvek vznikl za podpory projektu MZE-RO0718.

## Literatura

- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 18th ed.; AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, 2005.
- Bal, M.A.; Shaver, R.D.; Jirovec, A.G.; Shinnors, K.J.; Coors, J.G. Crop processing and chop length of corn silage: Effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 1264–1273. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74993-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74993-9).
- Beauchemin, K.A.; Yang, W.Z. Effects of Physically Effective Fiber on Intake, Chewing Activity, and Ruminant Acidosis for Dairy Cows Fed Diets Based on Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2117–2129. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)72888-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)72888-5).
- Calberry, J.M.; Plaizier, J.C.; Einarson, M.S.; McBride, B.W. Effects of Replacing Chopped Alfalfa Hay with Alfalfa Silage in a Total Mixed Ration on Production and Rumen Conditions of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3611–3619. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73967-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73967-8).
- Cooke, K.M.; Bernard, J.K. Effect of length of cut and kernel processing on use of corn silage by lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 2005, 88, 310–316. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72689-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72689-8).
- Ebling, T.L.; Kung, L., Jr. A Comparison of Processed Conventional Corn Silage to Unprocessed and Processed Brown Mid-rib Corn Silage on Intake, Digestion, and Milk Production by Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 2519–2527. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73376-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73376-7).
- Ferraretto, L.F.; Shaver, R.D. Meta-analysis: Effect of corn silage harvest practices on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 2012, 28, 141–149. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30334-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30334-X).

- Ferraretto, L.F.; Crump, P.M.; Shaver, R.D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion and milk production by dairy cows through a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 533–550. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5932>.
- Ferreira, G.; Mertens, D.R. Chemical and Physical Characteristics of Corn Silages and Their Effects on In Vitro Disappearance. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 4414–4425. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73128-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73128-3).
- Heinrichs, A.J.; Buckmaster, D.R.; Lammers, B.P. Processing, mixing, and particle size reduction of forages for dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 1999, 77, 180–186. <https://doi.org/10.2527/1999.771180x>.
- Horst, E.H.; López, S.; Neumann, M.; Giráldez, F.J.; Bumbieris, V.H., Jr. Effects of Hybrid and Grain Maturity Stage on the Ruminant Degradation and the Nutritive Value of Maize Forage for Silage. *Agriculture* 2020, 10, 251. <https://doi.org/10.3390/agriculture10070251>.
- Jančík, F.; Kubelková, P.; Kubát, V.; Koukolová, M.; Homolka, P. Effects of drying procedures on chemical composition and nutritive value of alfalfa forage. *S. African J. Anim. Sci.* 2017, 47, 96–101. <https://doi.org/10.4314/sajas.v47i1.14>.
- Jančík, F.; Kubelková, P.; Kumprechtová, D.; Loučka, R.; Homolka, P.; Koukolová, V.; Tyrollová, Y.; Výborná, A. Quality of Chopped Maize Can Be Improved by Processing. *Agriculture* 2021, 11, 1226. <https://doi.org/10.3390/agriculture11121226>.
- Johnson, L.M.; Harrison, J.H.; Davidson, D.; Mahanna, W.C.; Shinnors, K. Corn silage management: Effects of hybrid, chop length, and mechanical processing on digestion and energy content. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 208–231. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73601-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73601-7).
- Kononoff, P.J.; Heinrichs, A.J.; Buckmaster, D.R. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 1858–1863. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73773-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73773-4).
- Kononoff, P.J.; Heinrichs, A.J. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2438–2451. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73838-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73838-7).
- Kung, L.; Shaver, R. Interpretation and Use of Silage Fermentation Analysis Reports. 2000. Available online: <http://www.dairylandlabs.com/pages/interpretations/vfa.php> (accessed on 15 May 2006).
- Kvasnička, F. Application of isotachopheresis in food analysis. *Electrophoresis* 2000, 21, 2780–2787. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(20000801\)21:14<2780::AID-ELPS2780>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1522-2683(20000801)21:14<2780::AID-ELPS2780>3.0.CO;2-W).
- Mertens, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 1463–1481. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(97\)76075-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(97)76075-2).
- Plaizier, J.C.; Garner, T.; Droppo, T.; Whiting, T. Nutritional practices and water quality on Manitoba dairy farms. *Can. J. Anim. Sci.* 2004, 84, 501–509. <https://doi.org/10.4141/A03-115>.
- Saylor, B.A.; McCary, C.L.; Diepersloot, E.C.; Heinzen, C., Jr.; Pupo, M.R.; Gusmão, J.O.; Ghizzi, L.G.; Sultana, H.; Ferraretto, L.F. Effect of Forage Processor Roll Gap Width and Storage Length on Fermentation Profile, Nutrient Composition, Kernel Processing Score, and Starch Disappearance of Whole-Plant Maize Silage Harvested at Three Different Maturities. *Agriculture* 2021, 11, 574. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070574>.
- Schwab, E.C.; Shaver, R.D.; Shinnors, K.J.; Lauer, J.G.; Coors, J.G. Processing and chop length effects in brown-midrib corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 613–623. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74115-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74115-5).
- Oba, M.; Allen, M.S. Effects of corn grain conservation method on feeding behaviour and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 174–183. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73598-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73598-x).

- Udén, P.; Colucci, P.E.; Van Soest, P.J. Investigation of chromium, cerium, and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agri.* 1980, 31, 625–632. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740310702>.
- Vencl, B.; Frydrych, Z.; Krása, A.; Pospíšil, R.; Pozdíšek, J.; Sommer, A.; Šimek, M.; Zeman, L. *The New Systems of Feed Evaluation for Cattle*; Czechoslovak Academy of Agriculture: Praha, Czech Republic, 1991; 134p. (In Czech)
- Vanderwerff, L.M.; Ferraretto, L.F.; Shaver, R.D. Brown midrib corn shredlage in diets for high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 5642–5652. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9543>.

# DOPLŇKOVÉ LÁTKY SNIŽUJÍCÍ PRODUKCI METANU U PŘEŽVÝKAVCŮ

Ing. Miroslav Joch, Ph.D.<sup>1,2</sup>, Ing. Václav Kudrna, CSc.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

<sup>2</sup>Česká zemědělská univerzita v Praze

## Produkce skleníkových plynů přežvýkavci

Očekává se, že kvůli rostoucí populaci i rostoucím příjmům a urbanizaci světová poptávka stoupne v roce 2050 u masa o 73 % a u mléka o 58 % v porovnání s rokem 2010 (Gerber et al., 2013). S tím spojené předpokládané rozšiřování živočišné produkce budí značné obavy, protože živočišná produkce významně přispívá k rostoucí atmosférické koncentraci skleníkových plynů a následným klimatickým změnám. Celková produkce skleníkových plynů ze živočišné produkce (od zvířat, ze statkových hnojiv, z produkce krmiv a ze změn ve využití krajiny ve prospěch živočišné výroby) představuje asi 14,5 % celkových emisí vytvořených člověkem (Gerber et al., 2013). Samotná enterická fermentace přežvýkavců produkuje okolo 6 % člověkem vytvořených emisí (Beauchemin et al., 2020).

V ČR je podíl emisí skleníkových plynů ze zemědělství na celkových emisích ČR pouhých 6 %, což je pod Evropským i Světovým průměrem. Je to dáno poměrně nízkým počtem chovaných hospodářských zvířat a také průmyslovým zaměřením ČR. Nicméně více než třetina skleníkových plynů ze zemědělství v ČR pochází z enterické fermentace přežvýkavců (ve formě metanu). Metan uvolněný v průběhu enterické fermentace je tak významným zdrojem emisí jak v ČR, tak v celosvětovém měřítku.

Produkce metanu v průběhu enterické fermentace přežvýkavců neznamena pouze zátěž pro životní prostředí, ale také energetickou neefektivitu ve využití krmné dávky. Dojnice, která denně vytvoří i přes 600 litrů metanu, touto produkcí přichází až o 12 % energie krmiva (Johnson a Johnson, 1995). To je obzvláště nevýhodné na začátku laktace, kdy má dojnice energie nedostatek. Snižování energetické ztráty využití krmiv bylo také hlavní motivací raných výzkumů, které se zabývaly snižováním produkce metanu u přežvýkavců. Po roce 2000 byla patrná jednoznačná změna v motivaci publikací, kdy začalo převažovat environmentální hledisko. V tomto období také raketově roste množství vědeckých publikací zaměřených na ovlivnění metanogeneze u přežvýkavců (Beauchemin et al. 2020).

Metan je přirozený vedlejší produkt mikrobiální fermentace sacharidů a v menší míře také aminokyselin. U přežvýkavců je většina metanu vytvořena v bacheru (~87 %), zbývající část (13 %) je produktem fermentace v tlustém střevě. Bakterie, protozoa a houby v bacheru fermentují rostlinné sacharidy na těkavé mastné kyseliny (octovou, propionovou a máselnou) a plyny (oxid uhličitý a vodík) jako hlavní fermentační produkty. Specifické mikroorganismy, archea (tzv. metanogeny), využívají vytvořený oxid uhličitý a vodík jako substráty pro tvorbu metanu. Tím v bacheru udržují nízký parciální tlak vodíku, který je nezbytný pro správný průběh fermentace (Samal a Dash, 2022).

## Strategie snižování emisí přežvýkavců

V minulých letech bylo navrženo nespočet strategií pro snižování produkce metanu u přežvýkavců, nicméně většina z těchto strategií má svá omezení: 1) je problematické je zavádět do praxe (např. defaunce bacheru), 2) mají poměrně nízký potenciál či je značná nejistota v účinnosti (např. silice, saponiny, probiotika, biochar), anebo 3) jsou ve velmi rané fázi vývoje (bakteriociny, fágy) (Beauchemin et al., 2020). V souladu s tím budou zmíněny pouze takové strategie, které mají potenciál být zavedeny do praxe v krátkém čase. Zvláštní pozornost bude věnována využití doplňkových látek.

Jedním z klíčových opatření redukce emisí je zvyšování intenzity produkce. Pokud například stejné množství mléka budeme schopni produkovat s menším počtem zvířat, emise od zvířat, z produkce

krmiv i z výkalů budou nižší. To znamená, že při zvyšující se intenzitě produkce mléka klesá intenzita produkce emisí (množství emisí na kg mléka). Intenzita produkce mléka stoupá ve všech světových regionech, s tímto nárůstem zároveň klesá intenzita emisí skleníkových plynů. Například v období mezi roky 2005 a 2015 klesla intenzita emisí skleníkových plynů z mléčné produkce o 11 % (FAO, 2019). Nicméně mezi regiony je v intenzitě emisí značný rozdíl. V nejrozvinutějších regionech jako je Evropa (včetně České republiky) a Severní Amerika je intenzita emisí až pětikrát nižší ve srovnání s méně rozvinutými regiony jako Subsaharská Afrika či Jižní Asie. Vyjádřeno konkrétně, zatímco v Evropě se při produkci jednoho kg mléka vytvoří okolo 1,3 kg CO<sub>2</sub>eq v Subsaharské Africe to je až 6,7 kg CO<sub>2</sub>eq (FAO, 2019). Strategie zvyšování intenzity produkce je tak vhodná pro méně rozvinuté regiony, protože v těch rozvinutých se intenzita produkce blíží biologickým limitům zvířat. Vedle pozitivního vlivu na uhlíkovou stopu má však intenzivní produkce živočišných potravin také své negativní stránky, ať již jde o zatížení krajiny, biodiverzitu či pohodu zvířat.

V regionech s vysokou intenzitou produkce mohou být využity jiné strategie redukce emisí jako je selekce zvířat s nízkou produkcí metanu či ovlivnění produkce metanu změnami v krmných dávkách přežvýkavců. Selekcí zvířat s nízkou produkcí metanu lze dosáhnout redukce emisí, která by byla trvalá. Jednotlivá zvířata i v rámci stáda, které má stejnou krmnou dávku, se liší ve velikosti produkce metanu. Tato produkce je částečně dána geneticky, proto je možné selekcí zvířat s nízkou produkcí metanu, tyto emise snížit. V Nizozemí předpokládají, že zařazení produkce metanu mezi šlechtitelské cíle může snížit tuto produkci o 24 % do roku 2050 (De Haas et al., 2021).

Produkcí metanu lze u přežvýkavců ovlivnit změnami ve složení krmné dávky. Za posledních 20 let bylo ověřováno množství krmných strategií, které by vedly ke snížení produkce metanu z enterické fermentace skotu. Mezi tyto strategie patří i využití doplňkových látek. Dle vědeckého konsenzu mají v současnosti největší potenciál tyto tři doplňkové látky: 3-nitrooxypropanol, řasa *Asparagopsis* a dusičnany.

### **3-nitrooxypropanol (3-NOP)**

#### **Mechanismus účinku:**

Při normální produkci metanu metanogeny (archea) se v závěrečné fázi spojuje methyl-koenzym M s enzymem methyl-koenzym M reduktázou (MCR) a vzniká metan. 3-NOP má podobnou strukturu jako metyl-koenzym M a tak v reakci zaujímá jeho místo a váže se s MCR. V této situaci však žádný metan nevzniká. Navíc 3-NOP oxiduje nikl v molekule MCR, a tím MCR ztrácí schopnost se dále vázat na methyl-koenzym M. Tato oxidace také vede k produkci dusičnanů a dusitanů a v závěru také k produkci propan-1,3-diolu z 3-NOP. Takto je 3-NOP degradován bachorovými mikroorganismy přímo v bachoru (Duin et al., 2016).

#### **Dávka:**

Ve vědeckých studiích byly ověřovány dávky v rozmezí 40–340 mg 3-NOP na kg sušiny. To při příjmu sušiny 20 kg znamená denní dávku 0,8–6,8 g. Pro praxi se zdají být vhodné dávky okolo 100 mg/kg sušiny, což odpovídá 2 g denně (tzn. asi půlka kostky cukru). Tato dávka by měla mít dostatečný potenciál snížení produkce metanu bez ovlivnění příjmu krmiva. (Hegarty et al., 2021).

#### **Účinnost:**

Ve vědecké literatuře je v současnosti konsenzus na účinnosti 3-NOP na snižování denní produkce metanu (g/d) i na snižování produkce metanu vyjádřené na množství přijatého krmiva (g metanu/kg sušiny). Konsenzus je také na silné pozitivní lineární závislosti mezi dávkami 3-NOP a úrovní dosažené redukce emisí metanu. Průměrná dávka 123 mg 3-NOP/kg přijaté sušiny snížila produkci metanu o 23 % u masného skotu a o 39 % u dojnic (Hegarty et al., 2021).

**Souhrnné hodnocení 3-nitrooxypropanolu:**

3-NOP je komerčně patentovaná syntetická doplňková látka s prokázanou schopností výrazně snižovat produkci metanu v bacheru při velmi nízkých dávkách (okolo 100 mg/kg sušiny). U 3-NOP je velmi silný konsenzus na vysoké účinnosti snižování produkce metanu (> 25 %) a také na konzistenci účinku u ovcí, mléčného i masného skotu. 3-NOP nezanechává rezidua v živočišných produktech. Účinnost a bezpečnost 3-NOP byla také potvrzena studií EFSA (2021), navíc látka již byla v EU registrována jako doplňková a bude uvedena na trh (Bovaer®, DSM). Otázkou je cena a ochota chovatelů využívat 3-NOP i v případě, že snížení produkce metanu nebude doprovázeno nárůstem užitkovosti.

**Řasa Asparagopsis****Mechanismus účinku:**

Některé mořské řasy jsou schopny ve svých buňkách syntetizovat halogenované analogy metanu (např. bromoform). U řasy Asparagopsis je právě bromoform (CHBr<sub>3</sub>) hlavní sloučenina, která je odpovědná za potlačení produkce metanu v bacheru. Bromoform a další halogenované analogy metanu (např. bromchlormetan) se váží na prostetickou skupinu enzymu methyl-koenzym M reduktázy (MCR), který se účastní posledního kroku tvorby metanu (Machado et al., 2016).

**Dávka:**

Dávky řasy Asparagopsis ve vědeckých studiích se pohybují v rozmezí 2–9 g/kg sušiny krmné dávky. Takovéto rozmezí může snížit produkci metanu a zároveň zvýšit užitkovost zvířat. Dávka by neměla překročit 10 g/kg sušiny (tzn. 1 %) krmné dávky, vyšší dávky totiž mohou snížit příjem sušiny (Roque et al., 2021). Dávkování je vždy potřeba upravit dle zjištěné koncentrace bromoformu v řase.

**Účinnost:**

Účinnost lyofilizované moučky z řasy Asparagopsis na snižování produkce metanu byla prokázána v laboratorních experimentech (in vitro; Kinley et al., 2016) i experimentech na živých přežvýkavcích (ovcích, mléčném i masném skotu; Li et al., 2018; Roque et al., 2019; Roque et al., 2021). Nicméně účinnost je velice variabilní a značně kolísá zejména v závislosti na složení krmné dávky i koncentraci bromoformu v řase. Zdá se, že účinnost je vyšší v krmných dávkách s vyšším zastoupením jaderných krmiv. Meta-analýza prokázala, že u skotu byla produkce metanu v průměru snížena o 37 % (Lean et al., 2021). Nicméně nejnovější studie prokazují, že redukce může dosáhnout až 80 % (Roque et al., 2021; Stefenoni et al., 2021).

**Souhrnné hodnocení řasy Asparagopsis:**

Krmení řasy Asparagopsis přežvýkavcům s cílem snížit produkci metanu je patentováno. Tato řasa obsahuje nejméně jednu přírodní látku (bromoform), která inhibuje tvorbu metanu. Čistý bromoform však může působit toxicky na zvířata, a navíc bromoform poškozují ozonovou vrstvu. Zda hladiny bromoformu, které jsou krmeny hospodářským zvířatům, mohou představovat zdravotní nebo environmentální ohrožení je předmětem výzkumu. Na antimetanogenním účinku řasy je vědecký konsenzus, nicméně vědeckých studií je dosud poměrně málo (< 10). I nízká dávka řasy (< 0,5 % sušiny) může výrazně snižovat produkci metanu (> 25%). Krmení řasy zvyšuje účinnost využití krmné dávky.

**Dusičnany****Mechanismus účinku:**

Mikrobiální redukce dusičnanů (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) na amoniak (NH<sub>3</sub>) je v bacheru termodynamicky příznivější cesta využití elektronů (a vodíku) ve srovnání s redukcí oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) na metan (CH<sub>4</sub>). Dusičnany proto mohou kompetitivně snižovat produkci metanu poměrně předvídatelným způsobem. Na každý mol (62 g) redukovaných dusičnanů připadá snížení produkce metanu o jeden mol (16 g).

Přestože v praxi není takto přísného vztahu dosaženo vždy, obvykle se snížení produkce metanu pohybuje nad 80 % očekávaného snížení podle zmíněného stechiometrického výpočtu (Hegarty et al., 2021).

### **Dávka:**

Dávka je obvykle limitována na 20 g/kg sušiny krmiva (tzn. 2 %). Důvodem je skutečnost, že v průběhu redukce dusičnanů mohou vznikat a hromadit se v bachoru a krvi toxické metabolity, dusitany ( $\text{NO}_2^-$ ). Dávka by mohla být případně i vyšší než zmíněná 2 %, pokud jsou bachorové mikroorganismy dobře adaptovány na vysoké koncentrace dusičnanů. Pro minimalizaci rizika je do praxe doporučována dávka okolo 1 % sušiny krmiva.

### **Účinnost:**

Meta-analýza výsledků studií provedených u skotu prokázala snížení produkce metanu o 11,4 % na každé procento dusičnanů v krmné dávce. Pokud byly z analýzy vyloučeny studie s využitím dusičnanů s pomalým uvolňováním (slow-release nitrate), bylo snížení produkce metanu výraznější, a to 13,2 % na každé procento dusičnanů (Feng et al., 2020). Dusičnany s pomalým uvolňováním jsou zařazovány pro snížení rizika tvorby dusitanů v bachoru. Pokud je krmen tento typ dusičnanů, jsou dusičnany nalézány také ve výkalech, to naznačuje, že dusičnany s pomalým uvolňováním nejsou v bachoru plně využity (Lee et al., 2017).

### **Souhrnné hodnocení dusičnanů:**

Dusičnany (sodný, draselný, vápenatý, či amonný) jsou lehce rozpustné soli, které jsou v bachoru rychle redukovány za vzniku amoniaku. Využitím vodíku při této redukci dusičnany kompetitivně snižují produkci metanu. U dusičnanů je konsenzus na účinnosti snižování produkce metanu okolo 10 % na každé procento přidaných dusičnanů. Tento konsenzus je podpořen dostatečným množstvím studií (> 25). U dusičnanů je riziko akumulace dusitanů (v závislosti na dávce) s následnou toxicitou pro zvíře, toto riziko lze snížit správným dávkováním či využitím dusičnanů s pomalým uvolňováním. Dusičnany v krmné dávce navíc mohou sloužit jako levný zdroj dusíku pro syntézu mikrobiálního proteinu podobně jako močovina.

Příspěvek vznikl za podpory projektu MZE-RO0718

## **ZÁVĚR**

Produkce metanu z trávicích soustav přežvýkavců je do značné míry nevyhnutelná, protože tato produkce je výsledkem přirozených biologických procesů. Nicméně i tyto biologické procesy lze ovlivnit a tím emise metanu a dalších skleníkových plynů snížit. Z tohoto pohledu mezi nejperspektivnější metody snižování emisí patří intenzifikace produkce živočišných potravin, selekce zvířat s nízkou produkcí metanu a krmení doplňkových látek, které snižují produkci metanu z enerické fermentace. Mezi doplňkové látky s největším potenciálem snižování produkce metanu a s největší šancí na uplatnění v praxi v současnosti patří: 3-nitrooxypropanol, řasa *Asparagopsis* a dusičnany.

### **Literatura:**

- Beauchemin, K. A., Ungerfeld, E. M., Eckard, R. J., & Wang, M. (2020). Fifty years of research on rumen methanogenesis: Lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal*, 14(S1), s2-s16.
- De Haas, Y., Veerkamp, R. F., de Jong, G., & Aldridge, M. N. (2021). Selective breeding as a mitigation tool for methane emissions from dairy cattle. *Animal*, 15, 100294.
- Duin, E. C., Wagner, T., Shima, S., Prakash, D., Cronin, B., Yáñez-Ruiz, D. R., ... & Kindermann, M. (2016). Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(22), 6172-6177.



- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. D. L., Christensen, H., Dusemund, B., ... & Pizzo, F. (2021). Safety and efficacy of a feed additive consisting of 3-nitrooxypropanol (Bovaer® 10) for ruminants for milk production and reproduction (DSM Nutritional Products Ltd). *EFSA Journal*, 19(11), e06905.
- FAO. (2019). *Climate change and the global dairy cattle sector – The role of the dairy sector in a low-carbon future*. Rome. 36 pp.
- Feng, X. Y., Dijkstra, J., Bannink, A., Van Gastelen, S., France, J., & Kebreab, E. (2020). Antimethanogenic effects of nitrate supplementation in cattle: A meta-analysis. *Journal of dairy science*, 103(12), 11375-11385.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., et al. (2013). *Tackling Climate Change Through Livestock – A Global Assessment of Emissions and Mitigation Opportunities*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Hegarty, R. S., Passetti, R. A., Dittmer, K. M., Wang, Y., Shelton, S., Emmet-Booth, J., Wollenberg, E., McAllister, T., Leahy, S., Beauchemin, K., Gurwick, N. & Gurwick, N. (2021). An evaluation of emerging feed additives to reduce methane emissions from livestock. Edition 1. A report coordinated by Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS) and the New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre (NZAGRC) initiative of the Global Research Alliance (GRA).
- Johnson, K. A., & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*, 73(8), 2483-2492.
- Kinley, R. D., de Nys, R., Vucko, M. J., Machado, L., & Tomkins, N. W. (2016). The red macroalgae *Asparagopsis taxiformis* is a potent natural antimethanogenic that reduces methane production during in vitro fermentation with rumen fluid. *Animal Production Science*, 56(3), 282-289.
- Lean, I. J., Golder, H. M., Grant, T. M., & Moate, P. J. (2021). A meta-analysis of effects of dietary seaweed on beef and dairy cattle performance and methane yield. *Plos one*, 16(7), e0249053.
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2017). Effects of encapsulated nitrate on growth performance, carcass characteristics, nitrate residues in tissues, and enteric methane emissions in beef steers: finishing phase. *Journal of Animal Science*, 95(8), 3712-3726.
- Li, X., Norman, H. C., Kinley, R. D., Laurence, M., Wilmot, M., Bender, H., ... & Tomkins, N. (2016). *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep. *Animal Production Science*, 58(4), 681-688.
- Machado, L., Magnusson, M., Paul, N. A., Kinley, R., de Nys, R., & Tomkins, N. (2016). Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 3117-3126.
- Roque, B. M., Salwen, J. K., Kinley, R., & Kebreab, E. (2019). Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. *Journal of Cleaner Production*, 234, 132-138.
- Roque, B. M., Venegas, M., Kinley, R. D., de Nys, R., Duarte, T. L., Yang, X., & Kebreab, E. (2021). Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. *PLoS One*, 16(3), e0247820.
- Samal, L., & Dash, S. K. (2022). Nutritional Interventions to Reduce Methane Emissions in Ruminants. In *Animal Feed Science and Nutrition-Production, Health and Environment*. IntechOpen.
- Stefenoni, H. A., Räisänen, S. E., Cueva, S. F., Wasson, D. E., Lage, C. F. A., Melgar, A., ... & Hristov, A. N. (2021). Effects of the macroalga *Asparagopsis taxiformis* and oregano leaves on methane emission, rumen fermentation, and lactational performance of dairy cows. *Journal of dairy science*, 104(4), 4157-4173.

## POZNÁMKY

Název: AKTUÁLNÍ POZNATKY VE VÝŽIVĚ A ZDRAVÍ ZVÍŘAT  
A BEZPEČNOSTI PRODUKTŮ 2022

Vydal: **Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.**  
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

ISBN 978-80-7403-281-3

Vydáno bez jazykové úpravy.

**Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.**  
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

[www.vuzv.cz](http://www.vuzv.cz)