

Chemická analýza krmiv

Multimediální studijní materiál

Vznik tohoto studijního materiálu finančně podpořil
Fond rozvoje vysokých škol
(projekt č. 1288/2012)

Autoři:

MVDr. Eva Štercová, Ph.D. (stercovae@vfu.cz)
Prof. Ing. Eva Straková, Ph.D. (strakovae@vfu.cz)
Mgr. Lucie Rusníková (rusnikoval@vfu.cz)
Mgr. Petra Hudečková, Ph.D. (hudeckovap@vfu.cz)

Obsah:

1. Úvod
2. Úprava vzorku krmiva
3. Stanovení obsahu vlhkosti a sušiny
4. Stanovení obsahu dusíkatých látek
5. Stanovení obsahu a kvality tuku
6. Stanovení obsahu BNLV a škrobu
7. Stanovení obsahu vlákniny
8. Stanovení obsahu a kvality popela
9. Stanovení obsahu energie

1. Úvod

Tento multimediální studijní materiál byl zpracován v rámci projektu FRVŠ č. 1288 /2012. Je určený jako pomůcka pro výuku předmětu Výživa zvířat I studentů druhého ročníku magisterského studia Fakulty veterinární hygieny a ekologie a Fakulty veterinárního lékařství Veterinární a farmaceutické univerzity Brno. Dále je určený také pro výuku předmětu Výživa hospodářských zvířat studentů prvního ročníku bakalářského studia oboru Bezpečnost a kvalita potravin a pro výuku předmětu Výživa zvířat studentů prvního ročníku bakalářského studia oboru Ochrana zvířat a welfare.

Publikace má za cíl seznámit studenty názornou formou, prostřednictvím videí a fotografií, s metodickými postupy při základní chemické analýze živin v krmivech. Videá i fotografie byly pořízeny v laboratoři Ústavu výživy zvířat Fakulty veterinární hygieny a ekologie. Jejich pořízení bylo financováno ze zdrojů získaných v rámci projektu FRVŠ č. 1288 /2012.

Živiny jsou chemicky definovatelné látky potřebné pro výživu zvířat, které jsou obsaženy v krmivech. V organismu plní funkci stavební, energetickou a podílejí se na průběhu a řízení metabolických procesů. Obsah živin v krmivech lze stanovit pomocí chemické analýzy.

Základní analýzu krmiv představuje tzv. Weendenský nebo také Weendský systém, který zahrnuje následující stanovení:

- vlhkost a sušina
- dusíkaté látky (NL)
- tuk
- hrubá vláknina
- popel
- výpočet bezdusíkatých látek výtažkových (BNLV)
- výpočet organické hmoty

V současné době již Weendenská analýza krmiv často nestačí požadavkům na optimalizaci výživy zvířat a je nutné ji doplnit podrobnější analýzou jednotlivých živin (škrobu, cukrů, aminokyselin, mastných kyselin, minerálních látek, vitamínů, apod.). K tomu slouží další, většinou složitější metody chemické analýzy, které mají i vyšší nároky na přístrojové vybavení.

2. Úprava vzorku krmiva

Úprava vzorku krmiva v laboratoři se provádí v závislosti na jeho konzistenci, struktuře, vlhkosti, obsahu tuku a v souladu s požadavky na jeho zkoušení. Vzorek se pomele, aby byl homogenní, jeho částice by měly propadnout sítím o velikosti ok 1 mm (pokud není ve vyhlášce stanoveno jinak). Pokud vlhkost vzorku neumožňuje úpravu mletím, musí se provést jeho předsušení. U suchých vzorků s vysokým obsahem tuku se provede jejich odtučnění částečnou extrakcí a analýza se provede v částečně odtučněném vzorku. Obsah živin se potom přepočítá na obsah v neodtučněném vzorku.

Uskladnění vzorků v laboratoři:

Uskladnění vzorků musí být zajištěno tak, aby během skladování nedocházelo ke změnám sledovaných znaků. Vzorky látek citlivých na světlo musí být uchovávány v tmavých skleněných obalech. Okolní teplota může dosahovat maximálně 25 °C, relativní vlhkost vzduchu maximálně 60 %. Vzorky živočišných tuků a rostlinných olejů se uchovávají v chladničce při teplotě maximálně 10 °C. Za těchto podmínek se mohou vzorky uchovávat po dobu maximálně 6 měsíců ode dne doručení do laboratoře.

3. Stanovení obsahu vlhkosti a sušiny

Sušina je pevná část krmiva bez vody, představuje zbytek krmiva po vysušení. Součet obsahu vody a sušiny u všech krmiv musí tvořit 100 % nebo 1000 g/kg. Sušina je prvotní a základní hodnota charakterizující každé krmivo. Ovlivňuje skladovatelnost krmiva i jeho příjem zvířaty, u píce je ukazatelem vegetační zralosti porostu a má vliv na průběh konzervačního procesu.

Orientační hodnoty sušiny některých krmiv:

Seno, sláma, jadrná krmiva 85 – 90 %

Suché krmné směsi 86 - 95 %

Zelená píce 15 – 30 %

Siláže 25 – 35 %

Senáže 35 - 50 %

Okopaniny kolem 20 %

V rámci základní chemické analýzy stanovíme v krmivech obsah vlhkosti (vody). Vlhkost se stanoví vážkově, jako hmotnostní úbytek po vysušení vzorku při teplotě 103 ± 2 °C. U krmiv s obsahem vody nad 17 %, u krmných směsí nad 13,5 % a u lisovaných krmiv je nutné provést předsušení při 50 – 60 °C. Vzorek krmiva se naváží do vysušené a předem zvážené hliníkové vysoušečky a nechá se vysušit v sušárně při teplotě 103 ± 2 °C. Po dokonalém odpaření vody se nechá vychladnout v exsikátoru a znovu se zváží. Na základě rozdílu v hmotnosti před a po sušení se stanoví obsah vlhkosti. Z něj pak lze jednoduchým způsobem vypočítat obsah sušiny v %, jako $100 - \text{vlhkost v \%}$ nebo v g/kg, jako $1000 - \text{vlhkost v g/kg}$.

4. Stanovení obsahu dusíkatých látek

Dusíkaté látky jsou všechny látky obsažené v krmivech, které v molekule obsahují dusík. Jejich množství se vyjadřuje jako obsah dusíku vynásobený koeficientem 6,25, který vychází ze skutečnosti, že bílkoviny obsahují 16 % dusíku. U některých krmiv se používá odlišný koeficient, např. u obilovin a mlýnských krmiv je to 5,25, u živočišných mouček 6,0. Dusíkaté látky se dělí na bílkovinné a nebílkovinné. Mezi nebílkovinné patří celá řada látek, jako volné aminokyseliny, amidy, aminy, alkaloidy, glykosidy obsahující dusík, nukleové kyseliny, purinové a pyrimidinové báze, amonné soli, amoniak, močovina, dusičnany a dusitany.

Bílkoviny jsou základními stavebními látkami živočišného organismu. V této funkci se nedají nahradit žádnými jinými živinami. Kromě toho slouží také jako zdroj energie, zejména při nedostatku sacharidů a tuků. Využití bílkovin jako zdroje energie je pro organismus méně výhodné, protože se při jejich rozštěpení uvolňuje amoniak, který musí být v játrech detoxikován přeměnou na močovinu a potom vyloučen z těla. V bílkovinách se nachází celkem 22 aminokyselin. Z nich si dokáží zvířata sama syntetizovat 12 aminokyselin, které se označují jako postradatelné (neesenciální). Zbývajících 10 aminokyselin musí být přijímáno z

krmiva a označují se proto jako esenciální (nepostradatelné). Mezi esenciální se počítají aminokyseliny valin, leucin, isoleucin, threonin, methionin, lysin, tryptofan, fenylalanin, arginin a histidin. Kvalita bílkovin závisí na jejich stravitelnosti a na obsahu a vzájemném poměru esenciálních aminokyselin. Bílkovina je tím kvalitnější, čím více se blíží složení proteinu vlastního těla zvířete, proto mají živočišné bílkoviny obvykle vyšší kvalitu než rostlinné. Kvalitu bílkovin v krmivech lze hodnotit pomocí biologických zkoušek na zvířatech nebo pomocí chemických metod, na základě obsahu esenciálních aminokyselin.

Obsah dusíkatých látek v krmivech se stanoví metodou podle Kjeldahla. Tato metoda stanoví celkový obsah dusíku v krmivu, který se pak vynásobí faktorem 6,25 nebo jiným faktorem podle druhu krmiva. Je použitelná pro všechny obsahy dusíku a všechny druhy krmiv a nerozlišuje proteinový a neproteinový dusík. Za podmínek této metody nelze stanovit dusík ve sloučeninách s oxidickými vazbami dusíku (dusičnany, dusitany, azo- nebo hydrazosloučeniny).

Obsah dusíku se zde stanoví titračně alkalimetry nebo acidimetry, po mineralizaci vzorku horkou kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátoru, kdy se přítomný dusík převede na síran amonný. Následně se z něj vytěsňuje amoniak hydroxidem sodným a předestiluje se do kyseliny sírové (alkalimetrická titrace) nebo borité (acidimetrická titrace). Potom se titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného nebo kyseliny sírové do barevné změny použitého acidobazického indikátoru. **Celý proces se skládá ze tří fází - mineralizace, destilace a titrace.**

V současné době se ke stanovení dusíkatých látek používají moderní analyzátory, které se skládají z mineralizační jednotky, kde probíhá var s kyselinou sírovou a převedení dusíku na anorganickou formu, a z destilační a titrační jednotky, kde automaticky probíhá vytěsnění amoniaku, jeho jímání do kyseliny sírové nebo borité a následná titrace. Odsávání výparů během mineralizace je zajištěno kondenzační jednotkou.

5. Stanovení obsahu a kvality tuku

Tuky jsou po stránce chemického složení heterogenní látky, jejichž společným znakem je nerozpustnost ve vodě a rozpustnost v nepolárních rozpouštědlech. V krmivech se stanoví jako zbytek získaný po vysušení dietylerového nebo petroleterového extraktu. Ten obsahuje kromě základních tuků (triacylglycerolů) také mastné kyseliny, vosky, fosfolipidy, lipoproteiny, chlorofyl, steroly aj.

Tuky slouží jako vydatný zdroj energie, mají nejvyšší obsah energie ze všech energetických živin. Obsahují 2,2x více energie než sacharidy nebo dusíkaté látky. Tuky jsou také stavebními látkami buněčných membrán a nervové tkáně. Kromě toho plní i ochrannou funkci, chrání vnitřní orgány před mechanickým poškozením a podílí se na termoregulaci. Slouží také jako rozpouštědlo liposolubilních vitamínů (A, D, E, K) a umožňují tím jejich využití. V neposlední řadě jsou tuky zdrojem esenciálních mastných kyselin, kyseliny linolové a alfa linolenové. K tukům se řadí i cholesterol, který je součástí buněčných membrán a současně prekursorem řady významných látek, jako jsou steroidní hormony, vitamín D a žlučové kyseliny. Z některých mastných kyselin se syntetizují prostaglandiny a leukotrieny, látky, které ovlivňují krevní srážlivost, propustnost kapilár a kontrakci hladkých svalů a podílí se na procesu zánětu a alergické reakce.

Tuky se vyskytují v rostlinných i živočišných organismech. Rostlinné tuky (oleje) mají převážně tekutou konzistenci, protože obsahují hodně nenasycených mastných kyselin. Živočišné tuky mají tužší konzistenci a obsahují více nasycených mastných kyselin. Výjimku představují rybí tuky, které obsahují hodně nenasycených mastných kyselin, především z řady omega 3.

Obsah tuku v krmivech se stanoví na základě jeho rozpustnosti v nepolárních rozpouštědlech, nejčastěji se používá diethylether nebo petrolether. **Metodou podle Soxhleta** se tuk stanoví vážkově, po extrakci vzorku příslušným činidlem v Soxhletově extrakčním přístroji, a po následném oddestilování extrakčního činidla a vysušení vyextrahovaného tuku. Vzorek krmiva se naváží do extrakční patrony, která se vloží do střední části přístroje. Vše se zaleje extrakčním činidlem (diethylether), které přeteče do extrakční baňky ve spodní části přístroje. Zařízení se připojí na chladič a umístí do topného hnízda, kde dochází k zahřívání extrakčního činidla a k jeho přeměně na páru. Pára stoupá vzhůru do chladiče, kde kondenzuje, kapalné činidlo stéká do střední části přístroje, promývá vzorek v patroně a rozpouští obsažený tuk. Činidlo i s rozpuštěným tukem potom přeteče do extrakční baňky, kde se opět přemění v páru. Celková délka extrakce je 6 hodin.

Rychlejší metodou je **stanovení tuku na přístroji Ankom**, kde se vzorek krmiva, umístěný ve speciálním sáčku, promývá petroletherem. Obsah tuku se pak vypočítá na základě váhového rozdílu vzorku před a po extrakci. Délka extrakce je zde 30 minut a je možné provést stanovení současně u většího počtu vzorků. Tuto metodu ale nelze použít pro hodnocení kvality tuku, protože se při ní tuk nezískává. Zde je nutné použít vždy metodu podle Soxhleta.

Pro hodnocení kvality tuku se používá několik metod, které hodnotí různé kvalitativní ukazatele. Z nich nejběžnější je číslo kyselosti tuku (ČKT) a peroxidové číslo. **Číslo kyselosti tuku hodnotí stupeň hydrolytického štěpení tuku**, tedy jeho rozklad na glycerol a volné mastné kyseliny, které zvyšují stupeň kyselosti. Stanoví se titračně alkalimetry, kdy se titruje vyextrahovaný tuk, rozpuštěný ve směsi extrakčního činidla (diethylether) a ethylalkoholu, odměrným roztokem hydroxidu draselného do růžového zabarvení, při použití fenolftaleinu jako acidobazického indikátoru. Číslo kyselosti se uvádí v mg KOH spotřebovaného na 1 g tuku. **Peroxidové číslo stanoví stupeň oxidace tuku.** Určuje se reakcí chloroformového extraktu vzorku tuku s jodidem draselným v roztoku s kyselinou octovou, a následnou titrací uvolněného jódu odměrným roztokem thiosíranu sodného (jodometrická titrace). Vyjadřuje se v mmol aktivního kyslíku na 1 kg tuku.

6. Stanovení obsahu BNLV a škrobu

Sacharidy jsou látky odvozené od vícesytných alkoholů. Podle počtu sacharidových jednotek se dělí na monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Mezi monosacharidy se řadí pentózy (arabinóza, xylóza, ribóza) a hexózy (glukóza, fruktóza, galaktóza, manóza). Mezi oligosacharidy patří disacharidy (sacharóza, maltóza, laktóza) a další se 3 - 5 sacharidovými jednotkami (rafinóza, stachyóza, verbaskóza). K polysacharidům počítáme škrob, glykogen, celulózu, hemicelulózu a pektiny. Nízkomolekulární sacharidy (cukry) jsou rozpustné ve vodě a mají většinou sladkou chuť. Makromolekulární polysacharidy jsou většinou bez chuti a jsou ve vodě jen omezeně rozpustné (škrob) nebo zcela nerozpustné (celulóza).

Sacharidy jsou základními energetickými živinami, představují nejvýznamnější zdroj energie pro hospodářská i domácí zvířata s výjimkou masožravců. Slouží v organismu zvířat v první řadě jako zdroj glukózy, která je základním zdrojem energie pro buňky. Mimo to se podílí na syntéze řady významných látek, jako jsou kyselina askorbová (vitamín C), nukleotidy, glykoproteiny, glykolipidy nebo glykosaminoglykany v pojivové tkáni.

Sacharidy pocházejí především z krmiv rostlinného původu, vznikají v rostlinách jako produkt fotosyntézy. Tvoří 60 - 85 % sušiny rostlinných krmiv. V živočišných krmivech se nachází jen minimální množství sacharidů (mléčný cukr, svalový a jaterní glykogen, glukóza v krvi). Jejich množství zde nepřevyšuje 2 % ze sušiny. Sacharidy se dělí na strukturální, které se nacházejí v buněčných stěnách rostlinných buněk a označují se jako vláknina, a nestrukturální, které se nacházejí uvnitř rostlinných buněk. Hlavním představitelem nestrukturálních sacharidů je škrob. Škrob tvoří 50 – 80 % organické hmoty semen obilovin. Kromě toho se vyskytuje i v luštěninách a v bramborových hlízách. Je tvořený dvěma složkami, amylosem a amylopektinem. Škroby obsahují podle původu asi 15 až 30 % amylose, vyšší podíl amylose snižuje stravitelnost škrobu.

Sacharidy se v krmivech stanoví jako bezdusíkaté látky výtažkové (BNLV) a vláknina. **Bezduškaté látky výtažkové zahrnují především nestrukturální sacharidy, tedy škrob a cukry. Obsah BNLV se stanoví nepřímo, výpočtem z údajů získaných chemickou analýzou.** Výpočet se provádí z výsledků stanovení základních živin, tj. dusíkatých látek, tuku, vlákniny a popela, a z obsahu vlhkosti. BNLV se vypočítávají jako zbytek do 1 000 g/kg. Je možné použít i zjednodušený výpočet, kdy se od obsahu sušiny v g/kg odečte obsah dusíkatých látek, tuku, vlákniny a popela, vše také v g/kg.

$$\text{BNLV} = 1\,000 - (A + B + C + D + E) \text{ g/kg}$$

A = vlhkost v g/kg
B = NL v g/kg
C = tuk v g/kg
D = popel v g/kg
E = vláknina v g/kg

Stanovení obsahu škrobu v krmivech nepatří mezi metody základní Weendenské analýzy. Používá se k němu nejčastěji polarimetrická metoda, která je použitelná pro všechny druhy kromě krmiv s vysokým obsahem polymerů fruktózy (řepné řízky a bulvy, skrojky, kvasnice, krmiva bohatá na inulin). V těchto krmivech se pro stanovení obsahu škrobu používá pankreatická metoda. Při polarimetrické metodě se škrob stanoví změřením optické otáčivosti na polarimetru a provedením korekce na opticky aktivní látky rozpustné ve směsi ethylalkoholu a vody, po předchozí hydrolýze vzorku kyselinou chlorovodíkovou a po odstranění bílkovin Carresovými činidly.

7. Stanovení obsahu vlákniny

Vláknina zahrnuje strukturální sacharidy, které se nacházejí v buněčných stěnách rostlinných buněk. Jedná se o směs celulózy, hemicelulózy a nestravitelných inkrustujících látek, jako je

lignin, kutin a křemičitany. Na základě poměru mezi sacharidy (celulóza, hemicelulózy) a ligninem se mění stravitelnost vlákniny. Obsah vlákniny v rostlinných krmivech se pohybuje mezi 5 – 40 % v sušině. Čím vyšší je podíl vlákniny v organické hmotě krmiva, tím nižší je její stravitelnost. Vláknina se neštěpí běžnými trávicími enzymy, tráví se pouze prostřednictvím mikrobiální fermentace. Pro přežvýkavce i pro býložravá monogastrická zvířata představuje vláknina významný zdroj energie, protože početné mikroorganismy, které se u nich nacházejí v předžaludku nebo ve slepém a tlustém střevě, dokáží složky vlákniny účinně štěpit. U všežravých a masožravých zvířat má vláknina význam pouze pro podporu činnosti trávicího traktu a formování výkalů, ale na celkové bilanci energie se nepodílí.

Funkce vlákniny:

- Zajišťuje mechanické nasycení zvířat
- Podporuje motoriku trávicího traktu
- Limituje příjem krmiva
- Limituje stravitelnost krmiva

Celulóza tvoří většinu podpůrných tkání rostlin. Skládá se z glukózových jednotek, základní stavební jednotkou je celobióza. Celulóza je tvořena pevnou vláknitou molekulou, je nerozpustná ve vodě i ve zředěných kyselinách a loužích, dá se zhydrolyzovat pouze koncentrovanými kyselinami. Hemicelulózy představují směs polysacharidů obsahujících různé pentózy a hexózy (arabinóza, xylóza, galaktóza, manóza, glukóza, fruktóza). Vytváří kratší větvené řetězce, které spojují celulózová vlákna jako tmel. Malá část je rozpustná ve vodě, štěpí se pomocí zředěných kyselin. Lignin nepatří mezi sacharidy. Je to fenylpropanový heteropolymer, který impregnuje buněčnou stěnu a zpevňuje ji. Jeho obsah se zvyšuje během stárnutí rostlin (lignifikace, dřevnatění). Je zcela nestravitelný, nerozkládá se ani koncentrovanými kyselinami, rozpouští se pouze v roztocích alkalických hydroxidů. K vláknině se řadí také pektiny a rostlinné gummy, které ale pro svoji rozpustnost nebývají zachyceny při analýze a zůstávají součástí bezdusíkatých látek výtažkových. Pektiny jsou kyselé polysacharidy, které se nachází hlavně v dužnatých plodech a v řepě. Jsou z větší části rozpustné ve vodě, snadno bobtnají, poutají vodu a tvoří gel. Rostlinné gummy mají strukturu podobnou hemicelulózám, jejich základní stavební jednotkou je kyselina galakturonová a další monosacharidy. Vyskytují se hlavně v místech poškození rostlin.

V rámci Weendenské analýzy se stanoví obsah hrubé vlákniny metodou Henneberg-Stohmannovou. Vláknina se zde stanoví vázkově, jako nezhydrolyzovatelný zbytek vzorku po třicetiminutové hydrolýze v roztoku kyseliny sírové a třicetiminutové hydrolýze roztokem hydroxidu draselného, a po odečtení obsahu popela zbytku. Vzorek krmiva se vaří 30 minut v roztoku kyseliny sírové, potom se promývá horkou vodou do neutrální reakce a znovu se vaří 30 minut v roztoku hydroxidu draselného. Po promytí horkou vodou se pevný zbytek převede na filtrační papír, promyje se acetonem, vysuší se, ochladí a zváží. Potom se spálí v muflové peci při 550 °C, získaný popel se po ochlazení zváží a odečte se od hmotnosti zbytku. Hrubá vláknina zahrnuje především celulózu a pouze část hemicelulóz a ligninu, které se částečně rozpustí při kyselé a alkalické hydrolýze.

K přesnějšímu určení skutečného obsahu vlákniny v krmivech se používá stanovení neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a acidodetergentní vlákniny (ADF), které nepatří do základní Weendenské analýzy. Neutrálně detergentní vláknina zahrnuje celkový obsah celulózy, hemicelulózy a ligninu, acidodetergentní vláknina obsahuje celulózu a lignin. V současné době se ke stanovení všech typů vlákniny používají moderní přístroje, např. přístroj Ankom.

8. Stanovení obsahu a kvality popela

Jako popel se analyticky stanoví veškeré anorganické látky obsažené v krmivu. Zahrnuje využitelné minerální látky (podíl rozpustný v kyselině chlorovodíkové) a nevyužitelné látky, tzv. písek (podíl nerozpustný v kyselině chlorovodíkové). Odečtením obsahu popela od celkového obsahu sušiny dostaneme obsah organické hmoty krmiva.

Minerální látky jsou v těle zvířat zastoupeny pouze v množství 4 - 5 %, patří však k životně důležitým látkám. Asi 17 minerálních látek je esenciálních a musí být přijímány z krmiva. Minerální látky se podílí na výstavbě tkání, jsou součástí tělesných tekutin, působí jako katalyzátory mnoha biochemických procesů. Jsou nezbytné pro udržování acidobazické rovnováhy a stálosti vnitřního prostředí. Vápník, fosfor, hořčík, sodík, draslík, chlór a síra, které se v organismu vyskytují v relativně velkém množství, se řadí mezi makroprvky. Ostatní minerální látky se v těle vyskytují pouze ve stopovém množství a patří mezi mikroprvky (stopové prvky). Minerální látky se při svém působení v organismu navzájem ovlivňují, proto je důležité sledovat nejen jejich celkový obsah v krmivech, ale i jejich vzájemný poměr. Dochází také k vzájemnému ovlivnění využitelnosti, takže přebytek jedné minerální látky může snížit využitelnost jiné.

Vápník

Vápník patří k nejvíce zastoupeným prvkům v organismu. Podílí se na tvorbě kostí a zubů, hraje významnou roli při srážení krve, snižuje nervosvalovou dráždivost a zvyšuje kontraktilitu svaloviny. Ovlivňuje propustnost membrán, aktivaci a inhibici enzymů a také metabolismus některých minerálních látek. Je nezbytný pro tvorbu mléka. 97 – 99 % vápníku v těle se nachází v kostech a zubech ve formě krystalků hydroxyapatitu. Zdrojem vápníku je zelená píce, zejména jeteloviny. Bohatým zdrojem jsou také masokostní moučky. Naproti tomu zrniny a okopaniny jsou na vápník chudé.

Fosfor

Fosfor se spolu s vápníkem podílí na tvorbě kostí a zubů. Jeho zásoby v organismu jsou oproti vápníku asi poloviční. Je součástí nukleových kyselin, fosfoproteinů, fosfolipidů a fosfátových vazeb, do kterých se ukládá energie. Je nutný pro aktivaci a inhibici enzymů a je součástí vitamínů skupiny B. Fosfátové ionty mají význam pro udržování acidobazické rovnováhy. Bohatým zdrojem fosforu jsou zrniny, kolem 70 % fosforu je v nich ale vázáno ve formě fytátů, které jsou velmi málo využitelné pro monogastriční zvířata. Využitelnost fosforu z krmiv živočišného původu je naopak vysoká.

Hořčík

Hořčík působí jako aktivátor enzymů energetického metabolismu, v metabolismu nukleových kyselin a řadě dalších. Snižuje nervosvalovou dráždivost a reguluje svalovou kontrakci, má

význam pro relaxaci svalových vláken. Jeho nedostatek se typicky projevuje svalovou křečí. Při regulaci krevní srážlivosti působí opačně než vápník, srážlivost snižuje. V organismu se nacházejí jen malé rezervy hořčíku v kostře, jeho množství je závislé především na příjmu v krmivu.

Obsah popela se v krmivech stanoví vážkově, jako **zbytek vzorku po zpopelnění v muflové peci při teplotě 550 °C** do konstantní hmotnosti za předepsaných podmínek. Vzorek krmiva se v porcelánovém spalovacím kelímku nechá nejprve zuhelnatět na topné desce a potom se vloží do muflové pece, kde probíhá spalování při 550 °C po dobu 3 hodin. Potom se dá spálený vzorek vysušit do sušárny a spaluje se další hodinu při 550 °C. Po ochlazení se získaný popel zváží.

Obsah fosforu se stanoví spektrofotometricky na Spekolu při vlnové délce 445 nm. **Obsah vápníku a hořčíku** se stanoví titračně chelatometricky.

9. Stanovení obsahu energie

Obsah energie je důležitým ukazatelem výživné hodnoty krmiva. Energie je v krmivu uložena v energetických živinách (sacharidy, tuky, dusíkaté látky). Energetické živiny z krmiva se využívají v první řadě k uspokojení energetických potřeb organismu a až poté jsou dostupné pro další metabolické funkce. Energie je potřebná pro všechny životní pochody v organismu zvířat. Zvířata musí přijímat každý den určité množství energie, které je dané jejich energetickou potřebou. Celková potřeba energie se dělí na potřebu záchovnou (základní fyziologické funkce organismu) a na potřebu produkční (růst, produkce mléka, vajec, svalová práce).

Energie přijatá z krmiva ve formě energetických živin se postupně uvolňuje během trávení a metabolismu, ukládá se v makroergických vazbách ATP a je používána pro všechny životní procesy. Využívá se pro činnost orgánů, pohyb zvířat, udržení tělesné teploty a ukládá se v rostoucích tkáních a produktech. Část energie krmiva se vylučuje nestrávená a nevyužitá ve výkalech, moči a plynech.

Energie se vyjadřuje v kilojoulech (kJ), případně v megajoulech (MJ). **Energetickou hodnotu krmiva je možné změřit v laboratoři na kalorimetru.** Zde se energie stanoví **jako spalné teplo, které se uvolní při spálení krmiva v kalorimetrické bombě.** Tato energie se označuje jako **brutto energie (BE)** a představuje celkový obsah energie v krmivu. Její hodnota je vždy vyšší, než je množství energie, které krmivo zvířatům skutečně poskytne, protože během trávení a metabolických přeměn živin dochází v organismu k energetickým ztrátám.

Energie z krmiva, která zůstane **po odečtení energie vyloučené ve výkalech**, se označuje jako **stravitelná energie** a používá se k hodnocení krmiv u koní a králíků. **Metabolizovatelná energie** je energie z krmiva, která se **nevyloučila ve výkalech, moči ani plynech** a používá se k hodnocení krmiv u prasat, drůbeže a masožravých zvířat. **Netto energie** představuje skutečně využitelnou **energii po odečtení všech metabolických ztrát, tj. výkaly, moči, plyny a ve formě tepelných ztrát** (metabolické teplo). Používá se k hodnocení krmiv u přežvýkavců.