

DETERMINATION OF DECLARED QUALITATIVE CHARACTERISTIC AND IDENTIFICATION OF ANIMAL NUCLEIC ACID IN FEEDSTUFFS

Nesvadbová M.¹, Vašítková A.², Knoll A.¹, Zeman L.²

¹Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

²Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xnesvadb@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work is part of a project “Determination of declared qualitative characteristic AND identification of animal nucleic acid in feedstuffs – seminar for students” from grant agency of Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic. The aim of this project is to acquaint the students of bachelor, master and Ph.D. degree at Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno with analysis methods of feedstuff for dog. This report summarizes workflow of arrangement of our project. We chose the various feedstuffs for dog that were currently on the market. We determined declared qualitative characteristic by the help of chemical analysis and we identified of animal DNA by polymerase chain reaction (PCR) in feedstuffs. The chemical and molecular analysis of granulated feedstuffs showed that composition is mostly corresponding with guaranteed analysis of manufacturer. But in tinned feedstuffs were found significant differences. Declared qualitative characteristic are not corresponding with guaranteed analysis of manufacturer and PCR reaction revealed that the some tins don't contain the kind of meat which are guarantee of manufacturer. The results of this project will be exploited for seminar for students and also research.

Key words: Feedstuff, Dog, Declared qualitative characteristic, Species identification, Polymerase chain reaction.

Acknowledgments: This work is supported by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic FRVŠ no. 1305/2009.

ÚVOD

Ve způsobu krmení psů došlo ve světě i v České republice v posledních letech k podstatným změnám. Stále větší oblibu u majitelů psů získávají průmyslově vyráběná krmiva na úkor tradičního způsobu krmení potravy připravené samotným chovatelem. S tímto rostoucím trendem je i stále více diskutovanou otázkou hygiena a zdravotní nezávadnost krmiv. Chov psů se u nás těší velké oblibě, a tak v oblasti výživy psů působí na našem trhu hned několik výrobců krmiv společně s mnoha zahraničními dodavateli. Český spotřebitel se, na tomto přehlceném konkurenčním poli, bez odborných znalostí dokáže jen velmi málo orientovat.

Výsledky této práce jsou součástí vzdělávacího semináře, který bude uspořádán pro studenty Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Hlavním cílem tohoto semináře je seznámit studenty jak s chemickými metodami analýzy krmiv, tak s metodami molekulárně-genetickými a dále s dietetikou granulovaných i konzervovaných krmiv, která jsou určena pro český trh. Nedílnou součástí semináře tedy tvoří vlastní srovnávací analýzy o dodržování povinně deklarovatelných jakostních znaků krmiva, určení původní živočišné DNA, pokusy věnující se stravitelnosti jednotlivých živin u vybraných krmiv a optimalizace použitých metodik pro podmínky laboratoře.

MATERIÁL A METODIKA

Krmiva

V experimentu bylo hodnoceno osm kompletních granulovaných krmiv a šest krmiv konzervovaných, které jsou určeny pro štěňata velkých plemen a jsou běžně dostupná na našem trhu. Výběrem jsme se snažili pokrýt veškeré cenové rozpětí a předpokládanou kvalitu krmiva (viz Tab. 1).

Hodnocení povinně deklarovaných jakostních znaků krmiva

Krmiva byla podrobena laboratorním analýzám na rozbor dusíkatých látek, tuku, popela, vlákniny a metabolizovatelné energie (viz Tab. 1). Výsledky analýz byly zpětně porovnávány s hodnotami, které uvádí výrobci krmných směsí na obalu a se současnou platnou legislativou České republiky (vyhláška č. 356/2008 kterou se provádí zákon o krmivech č. 91/1996 Sb. ve znění pozdějších předpisů). Z této vyhlášky byly převzaty i metodiky stanovení jednotlivých živin (viz Tab. 2) a pro konečné porovnání byly hodnoty stanoveny v 100 % sušině.

Izolace a stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivu

Vzorky krmiv byly podrobeny molekulární analýze zahrnující extrakci DNA, testování metodou multiplex PCR a hodnocení pomocí elektroforézy na agarozovém gelu. Pro izolaci DNA z krmiva bylo v první fázi vytipováno šest izolačních kitů, které jsou dostupné na našem trhu. Pro testaci byly zvoleny kity různých firem určené jak na izolaci DNA z tkání, tak z potravin. Při výběru byl kladen důraz, mimo různorodosti, také na časovou náročnost izolace a na cenu kitu. Použity byly systémy kolonkové i bezkolonkové izolace. Izolace byla prováděna dle standardního protokolu uváděného výrobcem kitu. Koncentrace a čistota izolátů byla detekována spektrofotometricky na přístroji GeneQuant (Pharmacia

Biotech). Kvalita izolace nukleových kyselin byla ověřena na 1 % agarózovém gelu a dále pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).

Stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivech bylo testováno pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Z původních publikací (Matsunaga et al. 1999; Dalmasso et al. 2003, Rodriguez et al. 2003) byly převzaty primery a podmínky reakce PCR (viz Tab. 3). Byla testována specifita primerů a možnosti jejich využití. Podmínky PCR reakce byly dále optimalizovány pro naši laboratoř.

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živiny v krmivu

Účinek krmného zásahu byl sledován na základě stravitelnosti jednotlivých živin. Modelový pokus byl proveden v souladu s metodikou dle Zákona na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb. Do pokusu byla zařazena fena neapolského mastina ve věku 4 - 5 měsíců. Pokusné sledování bylo rozděleno na přípravnou fázi (5 dní) a vlastní sledování (5 dní). Pro vyloučení stresu způsobeného změnou vnějších podmínek, bylo po dobu pokusu zajištěno konstantní prostředí. Po dobu pokusu byly sledovány základní vstupní údaje (spotřeba krmiva, množství výkalů).

Před začátkem pokusu byly odebrány vzorky vybraných krmiv a byly u nich provedeny rozborů na obsah základních organických živin (NL, vlákniny, tuku, sušiny a popela). Analýzy a chemická stanovení byla provedena podle zásad, které uvádí KACEROVSKÝ a kol. (1990) a podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 356/2008 Sb. (viz Tab. 2). Kompletní krmné směsi a zdravotně nezávadná voda byly podávány dle krmného návodu uvedeného výrobcem. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly byly odebrány, váženy a sušeny. Výkaly byly podrobeny laboratorním analýzám pro stanovení koeficientů stravitelnosti organických živin (sušiny, NL, vlákniny, tuku a popela). Zbytky krmiv byly váženy pro zjištění čistého příjmu krmných směsí. Uvedený pokus sloužil pouze jako modelový pokus pro účely výuky semináře.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hodnocení povinně deklarovaných jakostních znaků krmiva

Vyhodnocení a porovnávání skutečného obsahu živin s obsahem uvedeným na obale krmiva byl prováděn podle vyhlášky č. 356/2008 Sb. přílohy č. 8 – Tolerance pro jakostní znaky u kompletních a doplňkových krmiv pro domácí zvířata. V Tab. 4 a Tab. 5 jsou červenou barvou označeny nevyhovující zjištěné hodnoty.

Jak je z prvního pohledu patrné, s dodržování obsahu deklarovaných jakostních znaků mají problémy především výrobci konzervovaných krmiv, kde nesplněné hodnoty kolísají téměř u všech živin. Granulovaná krmiva byla poměrně vyrovnaná, ovšem ve všech jsme se setkali s nižším obsahem tuku, nezávisle na předpokládané kvalitě a ceně krmiva. Obsah detekovaného tuku může být z části závislý na použité metodě, kdy při detekci dle Twisselmana jsou zpravidla stanovené hodnoty nepatrně nižší než při stanovení kyselou hydrolyzou. Tento rozdíl je ale u krmiv obsahujících do 30 % tuku téměř zanedbatelný. Ve srovnání se sacharidy (17 kJ/g) se tuky vyznačují až dvojnásobnou energetickou

hodnotou, což znamená, že norma tuku pro rostoucího psa by se měla pohybovat od 5,9 – max. 20 % a pro dusíkaté látky do 30 %. Vzhledem k tomu, že se jedná o testovaná krmiva určená pro štěňata velkých plemen, nemělo by se stát, že budeme doporučené dávkování tuku a bílkovin přesahovat. U rostoucích psů a dvojnásobně to platí pro velká plemena je velmi důležité, aby kosterní tkáně byly plně vyvinuté dřív, než se začne rozvíjet a tvořit mohutná svalovina. Tím, že budeme psa překrmovat tukem a bílkovinami docílíme mohutného nástupu tvorby svaloviny a neúplného dovyvinutí kostry, která se pod tíhou svalů začne dříve či později bortit. Proto je velmi důležité, aby štěně přijímalo vyvážená krmiva a jejich dávkování bylo prováděno dle krmného návodu výrobce, případně dle energetické potřeby pro konkrétního jedince. Pokud dochází k překrmování tukem v pozdějších obdobích, kdy je skelet psa plně vyvinut, často se setkáváme s obezitou, pokud pes nemá možnost dostatečného výdeje energie. Jak je ze zjištěných hodnot patrné, vysoké obsahy dusíkatých látek a tuku byly stanoveny převážně v konzervovaných krmivech, proto lze konstatovat, že konzervovaná krmiva jsou pro štěňata méně vhodná.

Pokud vezmeme v potaz výrobní postup granulí a konzerv, dojdeme ke zjištění, že vlivem tepelných úprav při výrobě konzervovaných krmiv dochází k větším ztrátám vitaminů, které jsou pro štěně nezbytně důležité. Při extruzi (výroba granulí) je zde jednou z možností dodání termolabilních komponent krmné směsi nástřikem po tepelném ošetření.

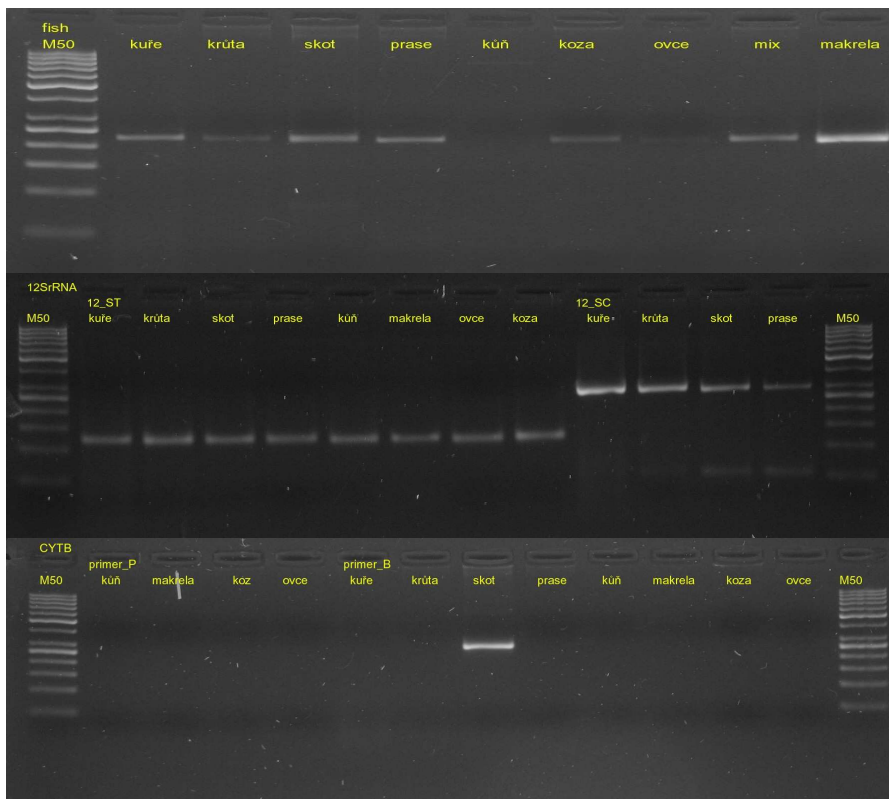
Vláknina by v krmivu pro psy neměla klesnout pod 2 %, optimum 3 - 5 %. Pokud se v krmné směsi pohybuje vláknina nad 5 %, dochází ke snížení stravitelnosti ostatních živin a ke zvýšení množství výkalů.

Isolace a stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivu

Hlavní problém analýzy a detekce DNA živočišných druhů v krmivu, je kvalita a kvantita extrahované DNA, protože molekuly DNA jsou vystaveny degradaci při tepelném ošetření krmiva. Jako nejvhodnější kit pro extrakci DNA z krmiv byl vybrán NucleoSpin Food (MARCHEREY-NEGEL), jehož nespornou výhodou mimo vysoké kvality extrahované DNA, je i velmi krátká doba inkubace krmiva s lyzačním puřem (pouze půl hodiny).

Identifikace jednotlivých živočišných druhů je založena na velikostech PCR produktů, které jsou charakteristické pro daný druh, a díky rozdílným velikostem produktů PCR lze jednotlivé druhy snadno detekovat. Proto byla ověřena specifita a vhodnost použití vybraných primerů. Všechny zvolené primery byly navrženy na stabilní úsek mitochondriální DNA v oblasti genu pro cytochrom b a 12S rRNA. Ukázalo se, že pouze primery převzaté z původní publikace Matsunaga et al. (1999) jsou vhodné pro detekci živočišných druhů, protože vytváří specifický produkt pouze s DNA druhu, pro jehož detekci jsou určeny. Primery převzaté z publikací Dalmasso et al. (2003) a Rodruguez et al. (2003) vytváří specifický produkt s DNA různých živočišných druhů, proto jsou pro druhovou identifikaci nevhodné (viz Obr. 1).

Obr. 1 Ověření specifity primerů



Pomocí metody PCR byly u testovaných krmiv identifikovány DNA živočišných druhů dle svých charakteristických velikostí PCR produktů – koza 157, kuře 227, skot 274, ovce 331, prasce 398, kůň 439 bp a výsledky byly porovnány s deklarovaným složením. Složení krmiv deklarované výrobcem a výsledky jednotlivých analýz detekce živočišných druhů v krmivech pomocí PCR reakce zobrazuje Tab. 6, 7, 8 a 9. Hlavní složkou granulovaných krmiv pro štěňata velkých plemen je kuřecí maso a kuřecí DNA byla skutečně ve všech krmivech detekována. Pouze v krmivu číslo 7, uvádí výrobce jako jednu ze složek mléko, DNA skotu však v krmivu detekována nebyla. U konzervovaného krmiva číslo 2 nebyla nalezena DNA prasete, ačkoliv výrobce uvádí ve složení výrobku pouze vepřové maso a stejně tak u konzervovaného krmiva číslo 6 nebyla detekována jehněčí DNA, přestože výrobce uvádí, že konzerva obsahuje jehněčí maso. U těchto výrobků lze tedy předpokládat porušení deklarované receptury výrobcem, a to náhradou jakostního druhu masa za maso méně hodnotné.

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živin v krmivu

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živin jsme prováděli u třech vybraných granulovaných krmiv (vzorek č. 4, 6, 8). Všechny vzorky z pohledu stravitelnosti odpovídají běžným charakteristikám.

Stravitelnosti tuku závisí především na podílu hodnotných nenasycených mastných kyselin. Dusíkaté látky jsou pro psy velice lehce stravitelné a velmi hodnotné především v podobě zpracované svaloviny. Méně stravitelné jsou pak upravované chrupavky a šlachy. Nejlepší stravitelnost dusíkatých látek, tuku a využitelnosti energie vykazoval vzorek č. 6.

ZÁVĚR

V experimentu bylo hodnoceno osm kompletních granulovaných krmiv a šest krmiv konzervovaných. Tato krmiva jsou určena pro kategorii štěňat velkých plemen a jsou běžně dostupná na našem trhu. Výběrem jsme se snažili pokrýt veškeré cenové rozpětí a předpokládanou kvalitu krmiva.

Námi provedené analýzy prokázaly, že deklarovaný obsah živin nedodrží především výrobci konzervovaných krmiv, kde deklarované hodnoty neodpovídají skutečnosti téměř u všech živin. Hodnoty živin deklarované výrobcem a námi určené hodnoty u granulovaných krmiv byly poměrně vyrovnané, pouze u všech krmiv jsme zaznamenali nižší obsah tuku, nezávisle na předpokládané kvalitě a ceně krmiva. V konzervovaných krmivech byly stanoveny vysoké obsahy dusíkatých látek a tuku a lze tedy tato krmiva pro štěňata velkých plemen označit za méně vhodná.

Hlavní složkou granulovaných krmiva pro námi zvolenou kategorii psů je kuřecí maso a kuřecí DNA byla skutečně detekována ve všech těchto výrobcích. U dvou konzervovaných krmiv bylo zjištěno porušení deklarované receptury, a to náhradou jakostního druhu masa za maso méně hodnotné.

LITERATURA

Dalmasso A., Fontanella E., Piatti P., Civera T., Rosati S., Bottero M.T. (2003): A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs. *Molecular and Cellular Probes*, 18(2): 81-87.

Kacerovský, O. et. al (1990): Zkoušení a posuzování krmiv. SNZ Praha, 216s. ISBN 80-209-0098-5.

Kopriva A., et al (2001): Technika krmení hospodářských zvířat. Vyd. MZLU v Brně, 210 s., ISBN 80-7157-557-7.

Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroya S., Shibata K., Yamada J., Shinmura Y. (1999): A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51 (2): 143-148.

Rodríguez M.A., García T., González I., Asensio L., Mayoral B., López-Calleja I., Hernández P.E., Martín R. (2003): Identification of goose, mule duck, chicken, turkey, and swine in foie gras by species-specific polymerase chain reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 51(6):1524-1529.

Zákona o ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.

Zákon o krmivech č. 91/1999 Sb.

Prováděcí vyhláška k zákonu o krmivech č. 356/2008 Sb.

Tab. 1 Sledované deklarované znaky u jednotlivých krmiv

Označení	Kompletní granulovaná krmiva (Kč/kg)	Konzervovaná krmiva (Kč/kg)	Sledované deklarované jakostní znaky
vzorek č. 1	143,2	114,6	Sušina/vlhkost (%)
vzorek č. 2	141	97,5	Popel (%)
vzorek č. 3	116,3	66,1	N-látky (%)
vzorek č. 4	80	42,5	Tuk (%)
vzorek č. 5	58,88	35	Vláknina (%)
vzorek č. 6	55,55	31,7	
vzorek č. 7	43,26		
vzorek č. 8	39,86		

Tab. 2 Sledované organické živiny krmiva

Živina	Metoda analýzy
Sušina	zbytek po odpaření vlhkosti za konstantní teploty (103 °C ± 2 °C) po dobu 4 hodin v sušárně
Popel	vážkově stanoven po zpopelnění vzorku při teplotě 550 °C v elektrické muflové peci za předepsaných podmínek
N-látky	obsah dusíku stanovený metodou Kjeldahla, vynásobený faktorem 6,25
Tuk	vážkově stanoven na extrakčním přístroji podle Twisselmana za předepsaných podmínek
Koeficient stravitelnosti	výpočet dle vzorce: $KS = [(m_{krmiva} * \check{z}_{krmiva} - m_{vykalu} * \check{z}_{vykalu}) / (m_{krmiva} * \check{z}_{krmiva})] * 100$

Tab. 3 DNA sekvence primerů

Název	Sekvence (5' - 3')	Gen	Odkazy
SIM	GACCTCCCAGCTCCATCAACATCTCATCTTGATGAAA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
G	CTCGACAAATGTGAGTTACAGAGGGA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
C	AAGATACAGATGAAGAAGAAATGAGGCG	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
B	CTAGAAAAGTGAAGACCCGTAATATAAG	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
S	CTATGAATGCTGTGGCTATTGTGCGA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
P	GCTGATAGTAGATTTGTGATGACCGTA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
H	CTCAGATTCACCTCGACGAGGGTAGTA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
Fish	TAA GAG GGC CGG TAA AAC TC	12S rRNA	Dalmasso et al. (2003)
Fish	GTG GGG TAT CTA ATC CCA G	12S rRNA	Dalmasso et al. (2003)
12SFW	CCACCTAGAGGAGCCTGTTCT(AG)TAAT	12S rRNA	Rodrguez et al. (2003)
12SC	CCGTCTAAAGTGAGCTTAGCGG	12S rRNA	Rodrguez et al. (2003)
12ST	TTGAGCTCACTATTGATCTTTTCAGTTT	12S rRNA	Rodrguez et al. (2003)
12SS	GTTACGACTTGCTCTTCGTGCA	12S rRNA	Rodrguez et al. (2003)

Tab. 4 Srovnání deklarovatelných jakostních znaků u granulovaných krmiv mezi laboratorním stanovením živin a hodnotami uvedenými výrobcem na obalu (hodnoty jsou uvedeny v 100 % sušině)

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)
vzorek č. 1	6,54 / 6,27	30,30 / 32,00	10,76 / 14,04	3,11 / 2,92
vzorek č. 2	5,58 / 6,52	27,04 / 28,26	11,96 / 15,22	2,38 / 2,72
vzorek č. 3	7,22 / 7,65	29,95 / 31,69	12,29 / 16,39	2,71 / 3,28
vzorek č. 4	8,49 / 8,70	32,38 / 32,61	17,62 / 19,57	2,59 / 2,17
vzorek č. 5	7,07 / 7,72	24,67 / 26,41	11,63 / 15,54	2,66 / 2,93
vzorek č. 6	7,57 / 7,78	27,60 / 28,89	11,09 / 15,56	2,64 / 3,89
vzorek č. 7	8,08 / 6,74	28,56 / 31,46	10,95 / 15,73	2,93 / 2,25
vzorek č. 8	7,50 / 10,00	29,08 / 28,89	12,58 / 17,78	2,59 / 3,89

*hodnota stanovená laboratorní analýzou / **hodnota uvedená výrobcem**

Tab. 5 Srovnání deklarovatelných jakostních znaků konzervovaných krmiv mezi laboratorním stanovením živin a hodnotami uvedenými výrobcem na obalu (hodnoty jsou uvedeny ve 100 % sušině)

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)
vzorek č. 1	9,88 / 11,05	41,25 / 52,63	38,27 / 21,05	2,05 / 2,11
vzorek č. 2	7,40 / 7,27	45,91 / 45,45	43,22 / 31,82	4,11 / 2,27
vzorek č. 3	5,49 / 8,41	31,90 / 55,99	23,29 / 39,74	1,87 / 2,00
vzorek č. 4	7,99 / 15,00	33,11 / 37,50	22,45 / 27,00	3,21 / 5,00
vzorek č. 5	13,55 / 15,00	31,56 / 37,50	29,29 / 27,00	2,82 / 5,00
vzorek č. 6	7,90 / 12,11	25,33 / 36,84	22,23 / 28,95	2,46 / 3,68

*hodnota stanovená laboratorní analýzou / **hodnota uvedená výrobcem**

Tab. 6 Složení granulovaných krmiv deklarované výrobcem

Označení	Složení deklarované výrobcem
vzorek č. 1	drůbeží maso a produkty drůbežního původu, drůbeží tuk, lososový olej
vzorek č. 2	kuře, rybí moučka, živočišný tuk, sušená vejce, kuřecí vnitřnosti
vzorek č. 3	maso a výrobky živočišného původu, oleje a tuky
vzorek č. 4	drůbeží maso a produkty drůbežního původu, sušená vejce, drůbeží tuk, lososový olej
vzorek č. 5	kuřecí a krůtí moučka, vnitřnosti, živočišný a rybí tuk, vaječná hmota
vzorek č. 6	kuřecí maso, živočišný tuk, vedlejší výrobky živočišného původu, rybí tuk a bílkoviny, sušené vejce
vzorek č. 7	maso a výrobky živočišného původu, kuřecí maso, mléko a mléčné deriváty
vzorek č. 8	maso a výrobky živočišného původu, drůbeží moučka, oleje a tuky, ryba a vedlejší výrobky z ryb

Tab. 7 Složení konzervovaných krmiv deklarované výrobcem

Označení	Složení deklarované výrobcem
vzorek č. 1	maso a výrobky živočišného původu, hovězí, kuřecí a králíčí maso
vzorek č. 2	vepřové maso
vzorek č. 3	maso a výrobky živočišného původu, zvěřina
vzorek č. 4	hovězí maso, drůbeží játra, vedlejší živočišného produkty
vzorek č. 5	maso a výrobky živočišného původu, kuřecí a krůtí maso
vzorek č.6	maso a výrobky živočišného původu, jehněčí maso

Tab. 8 Identifikovaná DNA živočišných druhů v granulovaných krmivech

Označení	Identifikace DNA živočišného druhu					
	koza	kuře	skot	ovce	prase	kůň
vzorek č. 1	-	+	-	-	+	-
vzorek č. 2	+	+	-	-	+	-
vzorek č. 3	+	+	-	-	+	-
vzorek č. 4	-	+	-	-	+	-
vzorek č. 5	-	+	-	-	+	-
vzorek č.6	+	+	+	+	+	-
vzorek č.7	-	+	-	-	+	-
vzorek č.8	-	+	+	-	+	-

Tab. 9 Identifikovaná DNA živočišných druhů v konzervovaných krmivech

Označení	Identifikace DNA živočišného druhu					
	koza	kuře	skot	ovce	prase	kůň
vzorek č. 1	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 2	-	+	+	-	-	-
vzorek č. 3	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 4	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 5	-	+	+	-	-	-
vzorek č.6	-	+	+	-	+	-

Tab. 10 Srovnání stravitelností jednotlivých živin ve vybraných granulovaných krmivech

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)	Energie (MJ/kg)
vzorek č. 4	40,22	80,28	91,52	45,98	85,93
vzorek č. 6	45	88,57	94,91	29,08	89,24
vzorek č. 8	41,73	87,39	91,7	40,49	86,1