Zemědělská fakulta
Faculty of Agriculture

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
University of South Bohemia in České Budějovice

VÚM

Certifikovaná metodika QJ1510336 RO1417 CM 36 - název:

Posouzení perzistence konjugované kyseliny linolové během technologie fermentace pro specifické kysané mléčné výrobky z faremní produkce

Certifikovaná uplatněná metodika a technicko-organizační doporučení, opatření a postupy v rozvoji chovu skotu s produkcí potravinových surovin s ambicí pro funkční potraviny.

I) Cíl certifikované uplatněné metodiky:

Cílem certifikované metodiky QJ1510336 RO1417 CM 36 je metodická podpora rozvoje chovu skotu, zejména pro menší (low input nebo ekologické), ale i větší farmy (selekce stád), pro zajištění podpory trhu a zaměstnanosti ve venkovském prostoru výrobou kvalitních potravinových surovin s ambicí produkce funkčních potravin, stejně jako pro podporu údržby krajiny.

Náplň certifikované uplatněné metodiky:

Náplní certifikované metodiky QJ1510336 RO1417 CM 36 je implementace dosažených výsledků a zkušeností, získaných na základě předchozího výzkumu a vývoje v rámci řešení projektu MZe NAZV KUS QJ1510336 a MZe RO1417 a v rámci koordinační a konzultační metodické činnosti referenční laboratoře pro syrové mléko (Výzkumný ústav mlékárenský Praha), do prostředí chovatelů skotu především v ekologických chovech, na farmách low input, ale i větších farmách za předpokladu selekce zvířat nebo stád pro produkci mléka ke specifickému zpracování při zachování obsahu konjugované kyseliny linolové (CLA) v produktu během fermentačního procesu.

Zdroj certifikované uplatněné metodiky:

Projekty MZe NAZV KUS QJ1510336 a MZe RO1417.

Zpracovali dne: 8. 9. 2017; Oto Hanuš[1], Eva Samková[2], Jaroslav Kopecký[1], Marcela Klimešová[1], Jiří Špička[2], Lucie Hasoňová[2], Radoslava Jedelská[1], Gabriela Mašková[2], Ludmila Nejeschlebová[1], Robert Kala[2];

[1] Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha;

[2] Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Uplatnění bylo provedeno zavedením všech principů metodiky od 22. 12. 2017.

II) Vlastní popis certifikované metodiky

Posouzení perzistence konjugované kyseliny linolové během technologie fermentace pro specifické kysané mléčné výrobky z faremní produkce

Struktura certifikované metodiky:

1) Úvod a současný stav problematiky
- *Důvody proč se problémem CLA zabývat – zdravotní přednosti mléka*
- *Shrnutí poznatků o mastných kyselinách mléčného tuku*
- *Posouzení chovatelských vlivů na profil mastných kyselin tuku kravského mléka a možností úpravy vybraných faktorů k cílené modifikaci skladby mléčného tuku s ohledem na perspektivu zvýšení zdraví prospěšných mastných kyselin ve vlastním výzkumu a vývoji*
- *Hypotetické zadání studie perzistence CLA během zpracovatelské fermentační technologie*

2) Cíl aplikace certifikované metodiky
3) Vlastní výzkum a vývoj pro certifikovanou metodiku – posouzení perzistence CLA ve fermentační technologii zpracování mléka
I) Podmínky experimentálních odběrů vzorků mléka
II) Analýzy vzorků mléka, jogurtu a statistické zpracování
III) Jakostní ukazatele mléka a perzistence CLA ve fermentovaném produktu (jogurtu)
IV) Závěry ze studia perzistence mastných kyselin v mléčném produktu během technologického zpracování
4) Závěr certifikované metodiky
5) Použité jiné literární prameny při tvorbě certifikované metodiky
6) Použité vlastní výsledky a publikace při návrhu a validaci certifikované metodiky
7) Přílohové materiály s podklady pro vývoj certifikované metodiky

Nejčastěji použité zkratky:

B = hrubé bílkoviny; BMM = bod mrznutí mléka; CF = České strakaté; CLA = konjugovaná kyselina linolová; H = Holštýn; HFA = hypercholesterolemické mastné kyseliny; L = monohydrát laktózy; LCFA = mastné kyseliny s dlouhým řetězcem; MCFA = mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem; MIR-FT = infračervená spektroskopie celého IR spektra ve středové oblasti s Michelsonovým interferometrem a Fourierovými transformacemi; MK, FA = mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny v konfiguraci *cis*; PSB = počet somatických buněk; PUFA = polynenasycené mastné kyseliny; SCFA = mastné kyseliny s krátkým řetězcem; SFA = nasycené mastné kyseliny; STP = sušina tukuprostá; T = tuk; TFA = *trans* mastné kyseliny; UFA = nenasycené mastné kyseliny; VFA = těkavé mastné kyseliny; VMK = volné mastné kyseliny;

1) Úvod a současný stav problematiky

Důvody proč se problémem CLA zabývat – zdravotní přednosti mléka

Vedle mléka jako významného zdroje minerálních nutričních látek, zejména vápníku, výzkumy naznačily (PARODI, 1997; KORHONEN, 2003) protirakovinný účinek sfingolipidových a CLA (angl. *conjugated linoleic acid*, konjugovaná kyselina linolová typická ve vyšším obsahu pouze pro mléko a maso přežvýkavců, kde představuje až 5,5 mg/g tuku mléka oproti 0,7 mg/g tuků rostlinných nebo nepřežvýkavých zvířat, CHIN et al., 1992) složek dnes ještě stále zatracovaného mléčného tuku (másla). O CLA je známo, že její obsah v mléčném tuku lze zvyšovat pomocí zvýšeného obsahu polynenasycených mastných kyselin (PUFA) v krmné dávce, stejně jako aplikací zejména travní pastvy. Pro další dietetické aplikace CLA byla popsána redukce atherogeneze (HAUMANN, 1996; NICOLOSI et al., 1997). Uvedený efekt však některé práce nepotvrdily (MUNDAY et al., 1999). Spotřeba mléčného tuku je přitom stále ještě omezována z obavy před zvýšeným přísunem cholesterolu a nasycených mastných kyselin (SFA), z obavy před výskytem kardiovaskulárních onemocnění. Cholesterol je ovšem také biologicky důležitou složkou živočišných tuků a také buněčných membrán. Z tohoto důvodu obsahuje tučné maso srovnatelné množství cholesterolu jako libové maso. Nejvíc je ho obsaženo ve vaječném žloutku. Cholesterol v mléce (0,010 až 0,015 %) je soustředěný v tukové fázi, tzn. v membránách tukových kapének a vlastním tuku kapének. Odstředěním se proto koncentruje do másla (asi 20× více než v mléce) a ubývá ho v mléce se sníženým obsahem tuku. Obsah cholesterolu v kravském mléce je poloviční v porovnání k mléku mateřskému (KAJABA, 1999).

Cholesterol v lidském organismu je jednak exogenního původu, tzn. z potravy, ale dále rovněž endogenního původu, kdy je syntetizován v játrech a kůře nadledvin. Endogenní produkce nezřídka převyšuje rozsah exogenního příjmu. Při nepříznivých stavech přebytku nemusí být cholesterol vždy nutně exogenního původu. Důležité ovšem je, v jaké ze dvou různě aktivních forem se pak cholesterol v lidském organismu nachází. Cholesterol slouží jako významný základ tvorby pohlavních hormonů a cholekalciferolu důležitého při podpoře kalcifikace kostní tkáně a má řadu dalších funkcí. V dietách je nicméně vyvíjena snaha o redukci příjmu cholesterolu z potravy.

Vedle příznivých vlivů tukové fáze mléka (tzv. ochranných faktorů) na lidské zdraví je možné z této strany skutečně očekávat i jistá alimentární rizika včetně nadváhy či obezity. Nezbývá než reagovat úpravou stravy ve vztahu k životnímu stylu. Zatímco plnotučné mléko a mléčné výrobky mohou vyhovovat stravě těžce pracujících lidí, sportovců a aktivních osob, u méně namáhané části populace je výhodné konzumovat mléko a mléčné produkty se sníženým obsahem tuku. Jak známo, i fyzická námaha je jedním z faktorů přispívajících k lepší stabilizaci příznivých forem a hladin cholesterolu v lidském organismu. V případě spotřeby zcela odtučněných mléčných potravin se pak ovšem dobrovolně zříkáme nejen protektivního účinku tukové fáze mléka na lidské zdraví, ale rovněž jejich příjemných chuťových vlastností, neboť ty jsou vázány především na mléčný tuk.

Shrnutí poznatků o mastných kyselinách mléčného tuku

Mléko má tedy svou nezastupitelnou roli ve výživě člověka, a to nejen jako zdroj dobře vstřebatelného vápníku. Je také zdrojem plnohodnotných bílkovin, řady vitamínů a minerálních látek, a také esenciálních mastných kyselin, které si lidský metabolismus sám nedokáže vytvořit. Spotřeba mléka i výrobků z mléka meziročně narůstá společně s nárůstem světové populace a to i přes to, že se stále častěji vyskytují intolerance k laktóze nebo přímo alergie na bílkoviny kravského mléka.

Mléčný tuk, jeho obsah a složení, má přímý vliv na nutriční hodnotu mléka, jeho stravitelnost a na organoleptické vlastnosti mléka. Zároveň ovlivňuje senzorické a technologické vlastnosti. Také je zdrojem několika zdravotně prospěšných mastných kyselin, především kyseliny linolové (LA), α-linolenové (ALA) a v současnosti často diskutované CLA. Obsah jednotlivých mastných kyselin je nejvíce ovlivněn způsobem chovu, tedy jsou-li dojnice trvale ustájeny nebo je-li u nich využívaná pastva. Mezi další velmi významné faktory patří sezóna, plemeno, individualita dojnic, pořadí a stadium laktace. Velice důležitá je stabilita těchto mastných kyselin v průběhu technologického zpracování, ať už jsou to fermentační procesy nebo pasterizace.

Mléko je komplexní a zcela vyvážená biologická surovina složená z vody a sušiny. Sušina se dále skládá z bílkovin, tuků, sacharidů a minerálních látek (Tab. 1). Největší zastoupení u bílkovin má kaseinová frakce (až 80 %), dále syrovátkové (sérové) bílkoviny (cca 17 %) a minoritní bílkoviny (enzymy). Mezi minerální látky patří především vápník a dále pak fosfor, hořčík, sodík, draslík a další.

Tab. 1 Složení kravského mléka (MÅNSSON, 2008).

	Obsah (%)
Voda	87,5
Bílkoviny	3,4
Mléčný tuk	4,2
Sacharidy:	5
z toho laktóza	4,6
Minerální látky	0,8

Složení mléčného tuku

Lipidy se v mléce nacházejí ve formě tukových kapének. Jedná se o emulzi typu olej ve vodě, kde vodní fáze tvoří zhruba 87,5 %. Velikost jednotlivých kapének se pohybuje od méně než 1 μm až do 10 μm, nejvíce zastoupeny jsou však kapénky o průměru 4 μm (JENSEN, 2002). Mléko obsahuje zhruba 3 až 5 % tuku a jeho množství závisí na několika různých faktorech, mezi které patří například výživa dojnic, management chovu nebo třeba stadium laktace.

Tab. 2 Složení mléčného tuku.

	Složka	***Obsah (%)*[1]**	***Obsah (%)*[2]**
Homolipidy	Triacylglyceroly	96,7	95,8
	Diacylglyceroly	0,25	2,25
	Monoacylglyceroly	0,03	0,08
Heterolipidy	Fosfolipidy, glykolipidy, cerebrosidy	0,8-1	1,1
Volné mastné kyseliny		0,1-0,4	0,28
Další doprovodné látky lipidů	Steroidy, karotenoidy, vitamíny rozpustné v tucích	0,2-0,4	0,32

[1] http://kaf.zf.jcu.cz/index.php?p=44; [2] JENSEN, 2002

Základním stavebním kamenem lipidů jako takových jsou mastné kyseliny (MK), které jsou esterovou vazbou navázány na glycerol. Podle počtu navázaných MK se lipidy dále dělí na triacylglyceroly (TAG), diacylglyceroly (DAG) a monoacylglyceroly (MAG), kdy jsou na glycerol navázány tři, dvě anebo jedna MK (Tab. 2). V mléčném tuku se nacházejí ve velmi malém množství i volné mastné kyseliny (VMK) a dále fosfolipidy, glykolipidy, lipoproteiny a další látky doprovázející mléčný tuk. Obecně tuky zaujímají ve výživě především

energetickou funkci, kdy jejich využitelná energie je až dvakrát vyšší než u bílkovin a sacharidů. Následně mají funkci stavební, enzymatickou, hormonální a termoregulační. Velice důležitou složkou mléčného tuku je steroidní lipid cholesterol, který je prekurzorem žlučových kyselin, provitaminu D_3 a steroidních hormonů. Mimořádnou roli hraje jako součást buněčných membrán, kde se podílí na jejich pružnosti (SAMKOVÁ et al., 2012).

Profil MK mléčného tuku a jejich význam v lidské výživě

Mléko obsahuje více než 400 různých MK, ale pouze několik z nich je zastoupeno ve větším množství. Zastoupení nad jedno hmotnostní procento má pouze 15 z nich (MÅNSSON, 2008). Označování vybraných MK mléčného tuku je uvedeno v Tab. 3. Obsahově nejvýznamnější (Tab. 4) jsou SFA, především myristová (C14:0) a palmitová (C16:0) a z nenasycených (UFA) je to kyselina olejová (C18:1).

Tab. 3 Označování vybraných mastných kyselin mléčného tuku (SAMKOVÁ, 2011).

Skupina	***Zkratka*[1]**	***Triviální název***	***Schématický název*[2]**
Nasycené FA	C4:0	Máselná	Butanová
	C6:0	Kapronová	Hexanová
	C8:0	Kaprylová	Oktanová
	C10:0	Kaprinová	Dekanová
	C12:0	Laurová	Dodekanová
	C14:0	Myristová	Tetradekanová
	C16:0	Palmitová	Hexadekanová
	C18:0	Stearová	Oktadekanová
Mononenasycené	C14:1*n*-5	Myristolejová	9-*cis*-tetradecenová
	C16:1*n*-7	Palmitolejová	9-*cis*-hexadecenová
	C18:1*n*-9	Olejová	9-*cis*-oktadecenová
	C18:1*n*-9	Elaidová	9-*trans*-oktadecenová
	C18:1*n*-7	Vakcenová	11-*trans*-oktadecenová
Polynenasycené	C18:2*n*-7	Rumenová (CLA)	9-*cis*-,11-*trans*-oktadekadienová
Polynenasycené – řada *n*-6	C18:2*n*-6	Linolová	9-*cis*-,12-*cis*-oktadekadienová
	C18:3*n*-6	γ-Linolenová	6,9,12-all-*cis*-oktadekatrienová
	C20:4*n*-6	Arachidonová	5,8,11,14-all-*cis*-eikosatetraenová
Polynenasycené – řada *n*-3	C18:3*n*-3	α-Linolenová	9,12,15-all-*cis*-oktadekatrienová
	C20:5*n*-3	Timnodonová (EPA)	5,8,11,14,17-all-*cis*-eikosapentaenová
	C22:6*n*-3	Cervonová (DHA)	4,7,10,13,16,19-all-*cis*-dokosahexaenová

[1] CX:YnZ, kde X = počet uhlíků; Y = počet dvojných vazeb; Z = poloha první dvojné vazby od methylového konce uhlíkového řetězce; [2] N-*cis*-/*trans*-, kde N = poloha dvojné vazby od karboxylové skupiny (COOH-), *cis*-/*trans*- = prostorová konfigurace dvojné vazby v molekule, u isomerů se většinou využívá kombinace obou způsobů značení, tedy např. pro kyselinu olejovou 9*c*-18:1

MK mléčného tuku jsou převážně se sudým počtem uhlíků (C4-C18) a pouze dvě MK s lichým počtem (C15 a C17) jsou zastoupeny ve větším množství. Nejčastěji se MK rozdělují podle nasycenosti, tedy podle počtu dvojných vazeb na nasycené SFA (angl. *saturated fatty acids*), mononenasycené MUFA (angl. *monounsaturated fatty acids*) a polynenasycené PUFA (angl. *polyunsaturated fatty acids*). V malém množství se v mléčném tuku vyskytují i MK s trojnými vazbami. Jednotlivé MK se od sebe odlišují nejen délkou řetězce, ale i polohou dvojné vazby a v případě PUFA i vzájemnou konfigurací dvojných vazeb. Tedy jestli je v uhlíkovém řetězci mezi jednotlivými dvojnými vazbami jedna nebo více jednoduchých

vazeb. Pokud je mezi dvěma dvojnými vazbami jedna jednoduchá vazba, jedná se o konjugované dvojné vazby. Další možné dělení je podle polohy dvojné vazby od koncové methylové skupiny na ω-3 a ω-6 mastné kyseliny. Často využívané je také dělení MK podle délky řetězce na kyseliny s krátkým řetězcem SCFA (angl. *short chain fatty acids*), se středně dlouhým řetězcem MCFA (angl. *middle chain fatty acids*) a kyseliny s dlouhým řetězcem LCFA (angl. *long chain fatty acids*). Jako SCFA označujeme kyseliny C4 až C13, jako MCFA kyseliny C14 až C17 a jako LCFA kyseliny, které mají v řetězci více jak 18 uhlíků. MK a jejich reologické vlastnosti ovlivňují především organoleptické vlastnosti mléka a tudíž i chuť následných produktů, jako jsou třeba sýry. Složení a struktura TAG v mléce je zodpovědná také za technologické vlastnosti, jako je bod tání a krystalizační vlastnosti (JENSEN, 2002).

Tab. 4 Složení mastných kyselin mléčného tuku.

Zkratka FA	*Triviální název*	*Obsah (%)*[1]	*Obsah (%)*[2]
C4:0	Máselná	2-5	2,8-4
C6:0	Kapronová	1-5	1,4-3
C8:0	Kaprylová	1-3	0,5-1,7
C10:0	Kaprinová	2-4	1,7-3,2
C12:0	Laurová	2-5	2,2-4,5
C14:0	Myristová	8-14	5,4-14,6
C16:0	Palmitová	22-35	26-41
C18:0	Stearová	9-14	6,1-12,1
C18:1 a její isomery	Olejová, elaidová, vakcenová	20-30	18,7-33,4
C18:2	Linolová	1-3	0,9-3,7
C18:3	Linolenová	0,5-2	0,1-1,4

[1] JENSEN, 2002; [2] VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009; % všech mastných kyselin

Obsah SFA je výhodný především ve výživě novorozenců, protože tyto kyseliny jsou lehce stravitelné a jsou zdrojem značné energie, naproti tomu u dospělých lidí tyto MK spíše podporují zvyšování hladiny LDL (angl. *low density lipoprotein*) cholesterolu. Nelze však říci, že jejich účinky jsou pouze negativní. Např. spolu s vitaminem D snižují proliferaci kolonocytů v tlustém střevě, a tím se podílí na prevenci karcinomu tlustého střeva (SAMKOVÁ et al., 2012).

Tab. 5 Složení mastných kyselin mléčného tuku po skupinách (MÅNSSON, 2008).

Skupina mastných kyselin	*Průměr (%)*	*Rozpětí (%)*
Nasycené	69,4	67,1-74,4
Mononenasycené	25	22,2-26,7
Polynenasycené	2,3	2-2,5
Trans	2,7	0,6-3,9

Nasycené mastné kyseliny (SFA)

SFA se v mléce zpravidla vyskytují v množství nad 50 – 70 % (Tab. 5). Jejich význam přímo závisí na délce řetězce jednotlivých kyselin. SCFA, tedy C4 – C10 (C13), mají vliv na chuť mléka, a tím i na chuťové vady. Další označení, které se pro tyto kyseliny používá je VFA (angl. *volatile fatty acids*), tedy těkavé mastné kyseliny. VFA jsou snadno odbouratelné a ze zdravotního hlediska nepředstavují pro lidský organismus velkou zátěž. Některé další SFA už zdravotní riziko představují tím, že zvyšují koncentraci aterogenních lipidů, cholesterolu typu LDL a volných TAG v krvi (GERMAN, 2009). Hlavními představiteli hypercholesterolemických MK (HFA; angl. *hypercholesterolemic fatty acids*) jsou podle

DROUIN-CHARTIER et al. (2016) kyselina laurová (C12:0), myristová (C14:0) a palmitová (C16:0). DROUIN-CHARTIER et al. (2016) uvedli rovněž rozsáhlý přehled dostupných údajů o mléčném tuku a jeho vlivu na vybraná kardiovaskulární onemocnění a zmínili, že neexistuje žádný důkaz, že by konzumace mléčného tuku mohla mít na jejich rozvoj přímý vliv. Za bioaktivní nasycenou kyselinu je některými autory považována kyselina stearová C18:0, která přispívá ke zvyšování hladiny HDL (angl. *high density lipoprotein*) cholesterolu v krvi, čímž omezuje usazování cholesterolu na cévních stěnách. Efekt kyseliny stearové je v každém případě příznivější než efekt *trans* isomerů nenasycených mastných kyselin (TFA) (MENSINK, 2005).

Nenasycené mastné kyseliny (UFA)

Jako UFA jsou označovány kyseliny, které obsahují jednu nebo více dvojných vazeb. Tyto kyseliny jsou v důsledku přítomnosti těchto vazeb náchylné k oxidaci a isomerizaci v průběhu zpracování či skladování. Platí zde pravidlo, že čím více dvojných vazeb, tím vyšší náchylnost. To s sebou nese řadu negativních vlivů, jako jsou zhoršené senzorické vlastnosti, zhoršená výživová hodnota a v neposlední řadě i možná tvorba aterosklerotických usazenin. (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009).

MUFA se v mléčném tuku vyskytují v množství 25 - 30 %, ale více než 80 % z tohoto množství představuje kyselina olejová (SAMKOVÁ, 2011). Další významné MUFA představují kyselina elaidová a kyselina vakcenová.

U UFA je také důležitá konfigurace, tedy jestli se jedná o *cis*-isomer nebo *trans*-isomer. Obsah TFA v mléčném tuku je sice často vyšší (2 – 9 % ze všech mastných kyselin) než obsah nutričně prospěšných PUFA řady ω-6 (1 – 5 %) a ω-3 (1 – 3 %), ale z celkového množství trans-isomerů připadá převážná část na kyselinu vakcenovou (C18:1*n*-7), z níž vzniká kyselina rumenová (SAMKOVÁ et al., 2008). Příjem tuků s vyšším obsahem TFA ve stravě se podílí na zvýšení LDL cholesterolu a poklesu HDL cholesterolu a může tak zvyšovat riziko aterosklerózy (HRONEK a BAREŠOVÁ, 2012).

PUFA jsou v mléčném tuku zastoupeny v nižším množství, zpravidla do 6 % z obsahu všech MK. Existuje velké množství polohových i prostorových isomerů PUFA a z toho vyplývají i jejich fyziologické vlastnosti (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009).

Zdravotně prospěšné MK mléčného tuku

Člověk je schopen v rámci svého metabolismu syntetizovat SFA a některé UFA. Nedovede však syntetizovat PUFA řady ω-3, konkrétně kyselinu α-linolenovou (ALA; 9c,12c,15c-18:3) a z řady ω-6 kyselinu linolovou (LA; 9c,12c-18:2), ačkoliv je nezbytně potřebuje. Tyto MK se označují jako esenciální a člověk je musí v dostatečné míře přijímat v potravě (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009). Podle výživových doporučení pro obyvatelstvo České republiky by poměr mezi ω-6 a ω-3 měl být maximálně 5:1. U kravského mléka je tento poměr dosti variabilní (Tab. 4) a můžeme spočítat, že tento poměr se pohybuje od 2:1 až po 10:1 (JENSEN, 2002; VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009).

Z LA a ALA jsou následně v lidském organismu za pomoci enzymů elongáz a desaturáz syntetizovány další důležité MK s počtem uhlíků 20 a více (SAMKOVÁ, 2011). V současnosti je hodně diskutovaná CLA, která by měla mít významné fyziologické účinky. Předpokládá se preventivní a léčebné využití u množství různých onemocnění jako je obezita, rakovina, cukrovka a kardiovaskulární onemocnění (FUKE a NORNBERG, 2017). CLA představuje skupinu pozičních a geometrických isomerů kyseliny linolové (C18:2). Tyto isomery mají dvojné vazby v konjugované poloze, což znamená, že mezi dvěma dvojnými vazbami se nachází jedna vazba jednoduchá. Dvojné vazby mohou mít konfiguraci *cis*- i *trans*-. Počet možných isomerů CLA činí několik desítek. U CLA jde především o isomer *cis*-9, *trans*-11 a isomer *trans*-10, *cis*–12 (MAROUNEK, 2007). Množství isomeru *cis*-9, *trans*-11 je od 73 % do

94 % z celkové CLA (DHIMAN et al., 2005). První isomer, tedy *cis*-9, *trans*-11, dominuje v lipidech tkání i v mléčném tuku přežvýkavců a často se vyskytuje pod triviálním názvem kyselina rumenová. Ta bývá frekventně zmiňována v souvislosti s antikarcinogenními a antiaterogenními účinky (DHIMAN et al., 2005). Isomer *trans*-10, *cis*-12 jej spíše doprovází. Obsah CLA v mléčném tuku se podle různých zdrojů pohybuje od 0,3 do 1,16 % (Tab. 6).

Tab. 6 Obsah CLA v mléčném tuku (%) – (MAROUNEK, 2007).

Zdroj	***Obsah***
Lock a Garnsworthy (2002)	0,82 – 1,1
Lock a Garnsworthy (2003)	0,6 – 1,7
Loor a Herbein (2003)	0,3 – 0,7
Abu Ghazaleh a kol. (2004)	0,33 – 1,16
Kudrna a Marounek (2005)	0,68 – 1,01

Faktory ovlivňující zastoupení MK v mléce

S rostoucím množstvím informací ohledně jednotlivých složek mléka, jejich prospěšnosti pro zdraví lidí, ale i jejich technologického zpracování, roste i zájem o možnosti modifikace složení mléka „přímo u zdroje“. Určité faktory působící na zastoupení MK sice rychle ovlivnit nelze (genetické predispozice), ale některé lze naopak ovlivnit poměrně jednoduše. Dobře ovlivnitelnou složkou mléčného tuku jsou PUFA, které mají zdravotní benefity a proto je snaha jejich zastoupení v mléčném tuku zvýšit. Mléko dále obsahuje i často diskutované TFA, které jsou, až na výjimky, z nutričního hlediska spíše nežádoucí. Jejich množství se však ukázalo být závislé na sezóně a jejich koncentrace je tedy až dvojnásobná v mléku z letního období, v případě, že se dojnice pasou (HECK et al., 2009).

Biologické (vnitřní) faktory

Jedná se o faktory těžko rychleji ovlivnitelné, protože úzce souvisí s individualitou příslušných dojnic. V podstatě jedinou možností jak pomocí těchto faktorů ovlivnit složení mléka a MK především, jsou poznatky z genetiky, tedy hlavně dědivost obsahů MK. Mezi biologické faktory (SAMKOVÁ, 2011) patří:

- plemenná příslušnost – u dojnic plemen, která mají nižší dojivost nebo tučnost mléka, byly zjišťovány převážně nižší obsahy SFA a vyšší obsahy UFA;
- individualita dojnic – rozdíly v obsazích MK mezi jednotlivými dojnicemi stejného plemene jsou často větší než rozdíly meziplemenné;
- pořadí laktace – prvotelky produkují mléko s vyšším obsahem UFA, zatímco dojnice na druhé a dalších laktacích mají mléko s vyšším obsahem SFA;
- stadium laktace – na začátku laktace je vyšší obsah UFA, který s postupující laktací klesá, zatímco obsah SFA je na začátku laktace nejnižší a poté má stoupající tendenci;
- mléčná užitkovost.

Vnější faktory

Jedná se o faktory, které můžeme ovlivnit přímo a důsledek jejich působení je prakticky okamžitý. Mezi vnější (SAMKOVÁ, 2011) faktory patří:

- složení krmné dávky – základem jsou objemná krmiva (čerstvá i konzervovaná), která doplňují jadrná krmiva. Kvalita krmiv, jejich množství, a správné sestavení krmné dávky rozhodují o změnách v zastoupení MK v mléčném tuku, které se mohou projevit již během dvou dní. To potvrzuje více prací (ELGERSMA et al., 2006; ELLIS et al., 2006);
- způsob chovu – rozdíly v profilu PUFA mezi konvenčním a ekologickým chovem. Důvodem je především fakt, že dojnice chované v ekologických chovech přijímají více pícnin a méně jadrných krmiv. Dalším významných benefitem u ekologických chovů je

předpokládaná chemická čistota krmné dávky. Pravděpodobně neobsahuje takové množství lipofilních cizorodých látek jako krmiva z konvenčního zemědělství (uvedené je ovšem převážně teoretický předpoklad). Jedná se např. o polychlorované bifenyly, chlorované pesticidy, aflatoxiny, polycyklické aromatické sloučeniny, které mohou prostupovat placentární bariérou a v době laktace do mateřského mléka (HRONEK a BAREŠOVÁ);
- sezóna – u pastevních chovů je obsah SFA nejnižší v létě, když jsou dojnice na pastvě a nejvyšší v zimním období, kdy se krmná dávka skládá většinou z konzervovaných krmiv (MÅNSSON, 2008). Lze říci, že mléko z letního období je díky vyššímu zastoupení UFA zdravotně prospěšnější, než mléko ze zimního období (FRELICH et al., 2012);
- dojení – především se jedná o četnost a pravidelnost dojení.

Technologické zpracování

V průběhu zpracování mléka dochází ke změnám v zastoupení jednotlivých MK, a také ke změně v konfiguraci molekul a tedy zastoupení různých isomerů. Mezi tyto procesy patří fermentace, tepelné zpracování (zhuštění, sušení) nebo vysokotlaká homogenizace. Tato se v současnosti využívá i jako alternativa k pasteraci, protože za vysokého tlaku dochází k ničení bakterií a zároveň má tato metoda minimální vliv na organoleptické vlastnosti mléka (PEREDA et al., 2007). Tepelné zpracování ovšem zastoupení MK ovlivňuje nejvíce. V jeho průběhu mírně narůstá obsah močoviny a zároveň se mění zastoupení různých MK. Tyto procesy ovlivňují především SCFA, jejichž množství bylo v pasterizovaném a sterilizovaném (metodou UHT, angl. *ultra high temperature*) mléku nižší oproti čerstvému mléku. Naopak množství MCFA a LCFA mírně narostlo. Jednalo se především o kyseliny C14:0, C16:0, C18:0 a kyselinu olejovou C18:1n-9. Obecně lze říci, že množství SFA pokleslo o 1,5 %, množství MUFA vzrostlo o 1 – 1,5 % a obsah PUFA zůstal v podstatě nezměněn. Při zpracování však nedochází k žádným významným změnám v kompozici mléka a z analýzy profilu MK vyplývá, že procesy pasterizace a sterilizace lze provádět bez významných změn nutriční hodnoty mléka (PESTANA et al., 2015). Při zpracování mléka UHT technologií částečně dochází ke karamelizaci sacharidů v mléce přes Millardovy reakce, což způsobuje, že se UHT mléko jeví při senzorické analýze jako sladší oproti mléku čerstvému.

Fermentované mléčné produkty a jejich význam

V průběhu fermentace mléka dojde za pomoci mlékařských kultur k přeměně části laktózy na kyselinu mléčnou a další látky, které dodávají výrobkům specifickou chuť a vůni. Benefitem fermentovaných mléčných výrobků jsou vynikající senzorické vlastnosti, delší doba trvanlivosti, velmi dobrá stravitelnost, nutriční a fyziologicky prospěšné účinky, mj. vliv na střevní mikroflóru nebo lepší resorpce vápníku (JANŠTOVÁ et al., 2012).

Fermentované mléčné výrobky jsou podle definice uvedené v národní legislativě mléčné výrobky získané fermentací mléka, smetany, podmáslí, nebo jejich směsi za použití mikroorganismů mléčného kysání, tepelně neošetřené po kysacím procesu (vyhláška č. 397/2016). Mléčné kvašení je biologický pochod probíhající anaerobně, při kterém vzniká z jednoduchých sacharidů (především laktózy) kyselina mléčná a některé další metabolity (jako je ethanol, oxid uhličitý nebo další těkavé látky). Do skupiny fermentovaných mléčných výrobků patří nejen jogurty, ale i různá kysaná, acidofilní mléka nebo kysaná smetana. Dále mezi ně patří i sýry, ale s ohledem na charakter práce je pozornost věnována zejména jogurtům.

Fermentované mléčné výrobky můžeme rozdělit podle použitých mlékařských kultur na dvě základní skupiny (JANŠTOVÁ et al., 2012):
- fermentované mléčné výrobky s mezofilními bakteriemi mléčného kvašení, kam patří zejména bakterie rodu *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Jejich produktem jsou např. fermentovaná

mléka, kysané podmáslí nebo kysaná smetana Pokud se při výrobě fermentovaných mléčných produktů použijí kromě mezofilní kultury také kvasinky, vzniká kefír nebo kefírové mléko;
- fermentované mléčné výrobky s termofilními bakteriemi mléčného kvašení. Jako termofilní se v mléčném průmyslu označují mikroorganismy nebo kultury, které vykazují vysokou aktivitu v rozmezí teplot 35 – 45 °C. Patří sem především kmeny *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Jako doplňkové kultury se mohou používat například *Lactobacillus acidophilus* nebo *Bifidobacterium bifidum.* S pomocí termofilních bakterií jsou vyráběny jogurty a jogurtová mléka.

Fermentované mléčné výrobky jsou velmi důležité, protože mohou obsahovat probiotické kultury. Jsou to bakterie mléčného kysání hlavně rodu *Lactobacillus*, a dále rody *Bifidobacterium* a *Enterococcus*. Jde o aktivní potravinu, která má pozitivní účinek na organismus konzumenta (hostitele) tím, že zlepšuje složení a pomáhá zajistit rovnováhu v jeho střevní mikroflóře. V mléce se tyto kultury rozmnožují pomalu a ve výrobku jich musí být 10^6 KTJ/ml (KTJ = kolonie tvořící jednotka), protože jen v této a vyšší koncentraci mají ve střevě požadovaný účinek (JANŠTOVÁ et al., 2012). Hlavním produktem bakterií mléčného kvašení je kyselina mléčná, která má značný fyziologický význam. Je zdrojem energie pro pochody v některých tělních orgánech, je prekursorem pro tvorbu tělní glukosy a stimuluje sekreci zažívacích šťáv (JANŠTOVÁ et al., 2012).

Stabilita zdravotně prospěšných MK v mléčných výrobcích

Z předchozích kapitol o vlivu faktorů na zastoupení MK vyplývá, že obsah zdravotně prospěšných MK v mléčném produktu lze výrazně ovlivnit už přímo v surovině, tedy v mléce. I přes to, že je obsah jednotlivých zdravotně prospěšných kyselin v mléce velice důležitý ukazatel, tak ještě důležitější je jejich stabilita v průběhu technologického zpracování a následného skladování.

Například u CLA se její obsah v rámci technologického zpracování mění pouze minimálně. Při ohřívání se její obsah nemění s výjimkou použití mikrovlnného ohřevu, kde došlo k poklesu obsahu CLA až o 53 % (BISIG et al., 2007). Je uvedena i stabilita CLA v případě výroby sýrů. Obecně z ní vyplývá, že největší obsah CLA mají tvrdé sýry s delší dobou zrání (největší hladina CLA zjištěna u sýrů typu čedar po 30 dnech zrání). Nicméně změny v obsahu nejsou výrazné. Rovněž při výrobě másla je CLA stabilní. Větší vliv na změnu obsahu CLA ve fermentovaných výrobcích má použití různých bakteriálních kultur v průběhu fermentace, ale musí být splněna podmínka, že je v jogurtu přítomna volná kyselina linolová. Dobré výsledky v konverzi LA na CLA vykazují *Lactobacillus (Lb.) plantarum* a *Lb. acidophilus* popř. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Kyselina linolová se přidává ve formě malého množství slunečnicového oleje, který obsahuje 70 % linolové kyseliny. Optimální koncentrace slunečnicového oleje je pak $0{,}1 g.l^{-1}$ (KIM a LIU, 2002).

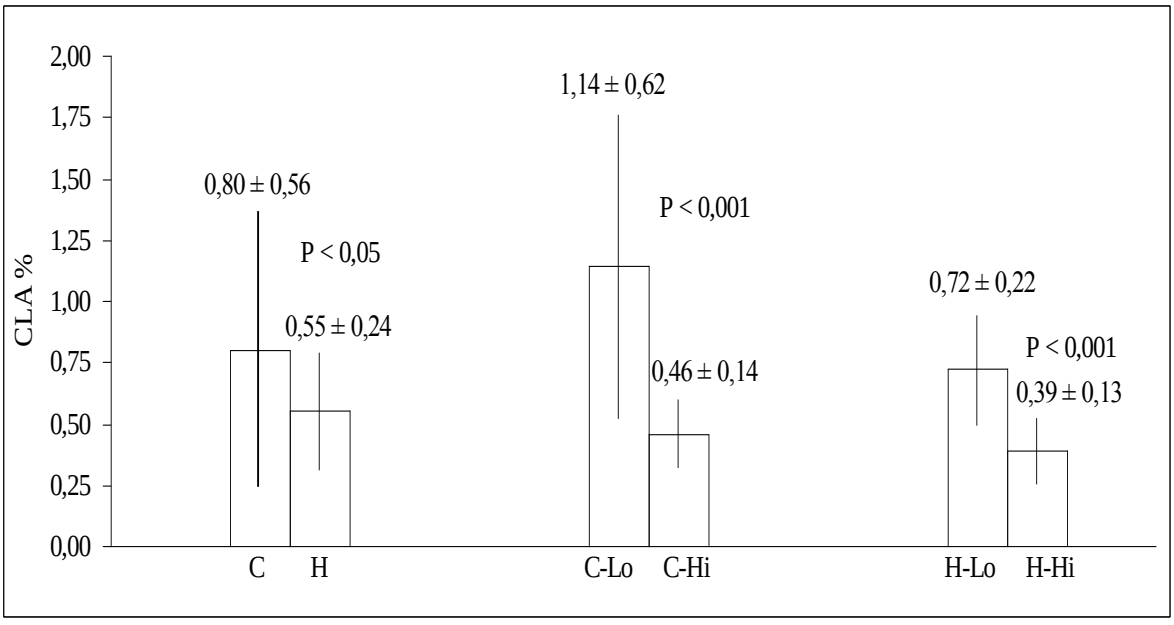
PASZCZYK et al. (2016) se zabývali změnou obsahu CLA a isomerů C18:1 a C18:2 ve fermentovaných mléčných výrobcích při různé době skladovaní (6, 13 a 21 dní) a při použití tří různých mlékařských kultur. Ze studie vyplývá, že významný nárůst obsahu CLA způsobila kultura Y508, a to z 3,6 mg/g tuku v čerstvě připraveném mléčném nápoji na 3,89 mg/g tuku v nápoji skladovaném po dobu 13 dní. Při skladování 21 dní došlo k mírnému poklesu obsahu CLA a C18:1 isomerů. U zbylých dvou použitých kultur byly nárůsty CLA a C18:1 a C18:2 isomerů při stejné době skladování nižší. Obsah CLA v mléčných výrobcích lze ovlivnit i přidáním jablečné vlákniny nebo vlákniny z banánů a mučenky. Přičemž právě použití mučenky zvýšilo obsah CLA nejvíce. Konkrétně z 0,72 g v mléce na 1,12 g ve 100g tuku v následném produktu. Tato hodnota ovšem silně závisí na použitém kmenu bakterií, kterým byl v tomto případě *Lb. acidophilus L10*. Při použití banánové vlákniny došlo k výraznému nárůstu podílu také u kyseliny α-linolenové (ESPÍRITO SANTO et al., 2012).

Posouzení chovatelských vlivů na profil MK tuku kravského mléka a možností úpravy vybraných faktorů k cílené modifikaci skladby mléčného tuku s ohledem na perspektivu zvýšení zdraví prospěšných MK ve vlastním výzkumu a vývoji

Vliv plemene skotu, sezóny a typu výživy na profil MK syrového mléka

Cílem studie bylo zjistit vliv plemene skotu, ročního období a typu výživy na profil MK tuku syrového mléka (HANUŠ et al., 2015). Dvouletá studie byla provedena na 64 bazénových vzorcích mléka odebraných od osmi stád skládajících se z českého strakatého skotu (CF, 4 stáda) a Holštýn (H, 4 stáda dojnic). Jedna polovina ze stád každého plemene se pásla (G), zatímco druhá polovina ne (N). Vzorky byly odebírány dvakrát v zimě (W) a dvakrát v letním období (S). Dojivost byla u CF (5385,50 kg) nižší než u H (7015,15 kg, P<0,05). Obsah SFA u CF měl tendenci být nižší než u H (p = 0,088). Efekt plemene byl nalezen u MK s lichým řetězcem, větveným řetězcem a u HFA (P<0,05). Obsah tuku byl nižší v létě (S) než v zimě (W), 3,71 a 3,91 g/100 g (P<0,05). Podíl SFA a PUFA byl v S nižší než v W (P<0,05). Obsah MUFA byl vyšší v S (30,69 g/100 g) než v W (27,72 g/100 g, P<0,05). Dojivost u pasoucích se stád (G, 5197,50 kg) byla nižší (P<0,05) než u nepasoucích se stád (N, 7203,75 kg). Celkový obsah SFA a HFA byl nižší a suma MUFA a MK s lichým počtem uhlíků byla vyšší u G než u N (P<0,05). Obsah CLA a C18:3n3 byl vyšší u G (0,93 a 0,64 g/100 g) než u N (0,42 a 0,39 g/100 g, P<0,001). V jiném souboru byl již dříve také popsán vztah CLA k dojivosti podle plemen v ČR (Obr. 1). Ovšem je pravděpodobné, že více než samotné plemeno a výše dojivosti tyto rozdíly v CLA ovlivňují typy výživy v praxi odlišné podle plemen (pro mléčné plemeno H intenzivnější výživa pro dojivost s vyšším podílem sušiny pocházející z jadrných krmiv z celkové sušiny krmné dávky spolu s objemnými krmivy, mezi 40 až 50 % a CF méně intenzivní (35 až 45%)).

Obr. 1 Koncentrace CLA v mléčném tuku krav plemen české strakaté (C) a holštýn (H) a uvnitř plemen pak podle dojivosti (Lo = nízká, Hi = vysoká).

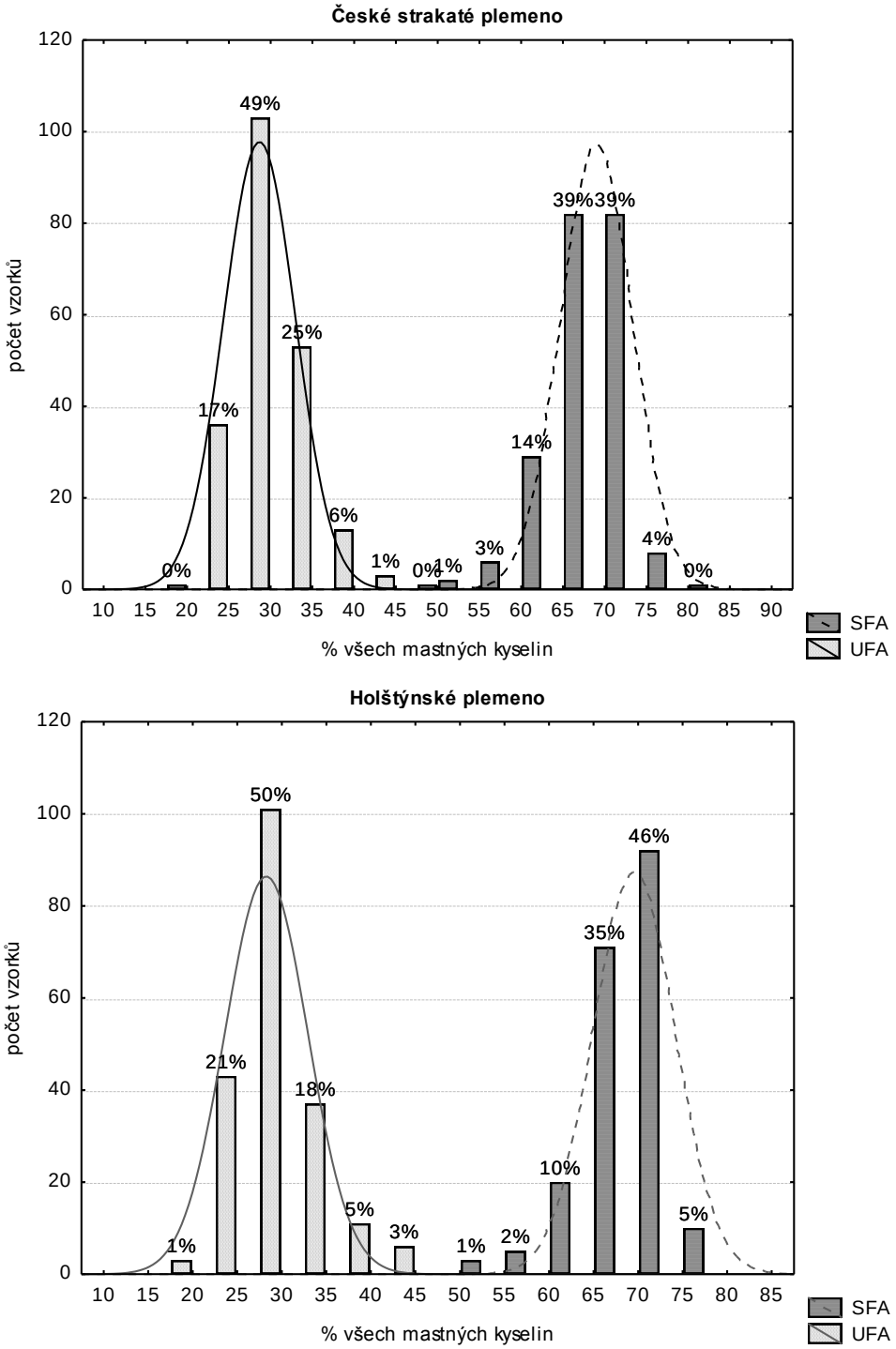


Vliv individuality v rámci plemene na složení mléčného tuku skotu

Složení mléka významným způsobem ovlivňuje jakost konečné suroviny. Mléčný tuk jako podstatná složka mléka je tvořen zhruba z 95 – 98 % triacylglyceroly, estery glycerolu a tří MK (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009). MK jsou z chemického hlediska nejčastěji rozdělovány podle přítomnosti dvojné vazby v uhlíkovém řetězci, přičemž mastné kyseliny nenasycené (monoenové = 1 dvojná vazba a polyenové = dvě a více dvojných vazeb) jsou přítomny v množství přibližně 35 – 40 % ze všech MK a z nutričního hlediska méně příznivě hodnocené SFA v množství cca 60 – 65 %. Obsahy a vzájemný poměr mezi skupinami SFA a UFA jsou důležité při hodnocení mléčného tuku jak pro zpracovatele mléka (HILLBRICK a AUGUSTIN, 2002) z hlediska z technologického (organoleptické vlastnosti vyráběných produktů, oxidační stabilita), tak pro spotřebitele z hlediska nutričního i zdravotního (GERMAN et al., 2009). Zastoupení MK a jejich skupin je ovlivněno mnoha faktory, jako je výživa (KALAČ a SAMKOVÁ, 2010) a dále faktory biologického charakteru. Zde se uplatňují genetické parametry (heritabilita, korelace) využívané ve šlechtitelských programech (GIBSON, 1991). Střední hodnoty heritability pro některé MK (STOOP et al., 2008) i variabilita v jejich obsazích mohou být základem pro výběr jedinců se specifickým složením mléčného tuku. MK v mléce jsou tedy důležité z nutričního i technologického hlediska. Zastoupení, příp. vzájemný poměr mezi skupinami SFA a UFA určují některé jakostní ukazatele mléka a mléčných výrobků. Cílem práce bylo zjistit zastoupení a variabilitu SFA a UFA u dvou nejčastěji dojených plemen v ČR (české strakaté (CF), n = 31; holštýnské (H), n = 32) a posoudit vliv plemene (Obr. 2) a individuality dojnic na tyto ukazatele (SAMKOVÁ et al., 2013). V rámci plemen byla zjištěna rozdílná zastoupení SFA (CF 68,7 %, H 69,2 %) i UFA (CF 34,1 %, H 32,8 %). Zatímco vliv plemene byl těsně nad hranicí statistické významnosti ($p = 0{,}0556$ SFA; resp. 0,0961 UFA), vliv individuality dojnic byl statisticky vysoce významný ($p<0{,}001$).

Z výsledků vyplývá, že selekcí vybraných dojnic lze dosáhnout cílených změn ve složení skupin MK mléčného tuku. Široká variabilita v zastoupení skupin SFA a UFA mezi plemeny i v rámci individuality dojnic dávají prostor možnostem, jak ovlivnit složení mléčného tuku. Je však nutné si uvědomit, že pohled na optimální složení se může lišit z pohledu technologa i z pohledu nutričního odborníka. Nicméně získané znalosti je možné využít při výrobě mléčných produktů se specifickým zastoupením MK s ohledem na konkrétní požadavky. Na menších farmách dojnic, zejména v systému low input nebo na ekologických farmách (s přímým prodejem mléka nebo mléčných produktů) tak existuje reálná možnost cílené produkce mléka s „garantovaným" pozitivně pozměněným profilem MK mléčného tuku s ohledem na spotřebitelské zdravotní benefity právě cíleným výběrem nejen plemene, ale i vhodných jedinců, samozřejmě při souběžné úpravě krmné dávky.

Obr. 2 Rozdělení četností v zastoupení skupin nasycených (SFA) a nenasycených (UFA) mastných kyselin (% ze všech mastných kyselin) v mléčném tuku dojnic českého strakatého a holštýnského skotu.



Vliv zkrmování čerstvé vojtěšky na zastoupení MK v mléčném tuku dojnic

Mléko je důležitou složkou lidské výživy. Složení mléčného tuku je předmětem výzkumu v souvislosti s jeho nutričním významem i vlivem na technologické a senzorické vlastnosti mléka a mléčných výrobků (SAMKOVÁ et al., 2012). Mléčný tuk obsahuje vysoký podíl (60 – 70 %) SFA, dále MUFA v množství 20 – 30 % a malé množství (cca 5 %) PUFA (LOCK a SHINGFIELD, 2004). Typické je rovněž zastoupení VFA – KAYLEGIAN a LINDSAY (1995) a

obsah CLA (DHIMAN, 2005). Zastoupení jednotlivých MK i jejich skupin je ovlivněno celou řadou faktorů, které jsou autory (PALMQUIST et al., 1993; JENSEN, 2002) převážně rozdělovány do dvou skupin, na faktory biologické a na faktory výživy. Z první skupiny patří mezi významné faktory např. plemeno a individualita dojnice (SAMKOVÁ et al., 2012), z druhé skupiny faktorů je důležitá zejména úroveň výživy a skladba krmné dávky, případně poměr mezi objemnými a jadrnými krmivy (DEWHURST et al., 2006).

Využívání pastvy (FRELICH et al., 2012) nebo produkce mléka v ekologickém systému hospodaření (O´DONNELL et al., 2010) výrazně pozměňují spektrum mastných kyselin ve prospěch mastných kyselin nenasycených (MUFA i PUFA). Také pouhé zkrmování čerstvé píce má za následek zvýšené zastoupení těchto nutričně příznivějších MK (LEIBER et al., 2005), neboť v průběhu procesu silážování dochází v krmivu ke snižování celkového obsahu UFA (KALAČ a SAMKOVÁ, 2010). Pozitivní vliv na zastoupení PUFA řady n-3 byl zjištěn zejména při zkrmování leguminóz (vojtěška, jetel). WIKING a kol. (2010) zjistili, že dojnice produkují také více kyselin CLA a trans vakcenové, která je jejím prekursorem. Zkrmování rané vojtěško-travní směsi doporučují i MOREL et al. (2006), kteří ji upřednostňují před zkrmováním ostatních druhů zelené píce.

Cílem práce bylo vyhodnocení zastoupení vybraných MK v mléčném tuku dojnic plemene CF a H plemene v závislosti na přídavku čerstvé vojtěšky do krmné dávky (KOUBOVÁ et al., 2014). V mléčném tuku dojnic plemene CF (n = 38) a H (n = 38) byly sledovány změny v obsahu vybraných MK. Dojnice byly krmeny nejprve krmnou dávkou (KD 1), která obsahovala objemnou píci jak konzervovanou, tak čerstvou (vojtěška setá; 11,7 % ze sušiny krmné dávky) a poté krmnou dávkou složenou pouze z objemné píce konzervované (KD 2). Na přídavek čerstvé vojtěšky zareagovaly dojnice především zvýšeným zastoupením esenciálních MK linolové (1,80 %, resp. 1,53 %; $p < 0,001$) a α-linolenové (0,52 %, resp. 0,32 %; $p < 0,001$) a PUFA (3,66 %, resp. 2,95 %; $p < 0,001$). Statisticky významně ($p < 0.05$) vyšší zastoupení bylo zjištěno i v případě CLA. U ostatních MK mléčného tuku, včetně celkového obsahu SFA a UFA byly nalezeny nevýznamné rozdíly pravděpodobně v důsledku vyššího zastoupení travní siláže ve druhé zkrmované dávce. Je však zřejmé, že zařazení čerstvé vojtěšky do krmné dávky má v důsledku zvýšení nutričně hodnotných MK příznivý vliv.

Osmnáctiuhlíkaté MK mléčného tuku krav českého strakatého a holštýnského plemene v důsledku krmení čerstvou vojtěškou (Medicago sativa L.)

Na zastoupení MK má vliv řada faktorů, mimo jiné přídavek čerstvé píce do krmné dávky. Byly zjišťovány (SAMKOVÁ et al., 2014) změny v obsahu vybraných MK v závislosti na přídavku čerstvé píce (vojtěška) do krmné dávky u dvou plemen: u plemene s kombinovanou užitkovostí (CF) a s čistě mléčnou užitkovostí (H). Vyrovnané skupině 12 dojnic CF a 12 dojnic H ve střední části laktace byly zkrmovány nejprve krmná dávka s přídavkem čerstvé vojtěšky a stejné skupině dojnic poté krmná dávka založená pouze na konzervované píci (kukuřičná a travní siláž).

Celkový obsah C18 tvořící zhruba jednu třetinu MK mléčného tuku a jsou ze zdravotního hlediska přijímány příznivě, byl vyšší u CF (34,1 %), v porovnání s H (30,5 %). Obě plemena reagovala na změnu krmné dávky mírně odlišně. Zatímco plemeno CF reagovalo v případě MK C18:0 a C18:1 méně intenzivně, v případě esenciálních MK linolové a linolenové tomu bylo naopak. Při nižší dojivosti bylo mléko plemene CF mírně dieteticky vhodnější s ohledem na zastoupení MK v porovnání k H pro vyšší zastoupení UFA. Na přídavek čerstvé vojtěšky do krmné dávky ve stejném smyslu lépe reagovalo plemeno H.

Alternativní doplňková směs pro ekologická stáda dojnic k udržení žádoucího profilu MK mléka přes stájové krmné období

Cílem studie bylo zhodnotit účinek výživy, která obsahovala doplňkové směsi s alternativními komponenty vhodnými pro stájovou krmnou periodu ekologických stád na dojivost a skladbu profilu MK mléka (KŘÍŽOVÁ et al., 2016). Faremní pokus byl proveden na 12 dojnicích v laktaci (průměr laktace 2,3 s průměrem 116 dnů laktace). Dojnice byly rozděleny do dvou skupin po šesti zvířatech s podobnou dojivostí. V průběhu celého experimentu byly dojnice krmeny základní krmnou dávkou na bázi kukuřičné siláže (30 kg/d), vojtěškovým senem (3 kg/d) a doplňkovou směsí (8 kg/d, vše jako krmný základ). Kontrolní skupina (C) byla krmena kontrolní doplňkovou směsí, zatímco pokusná skupina (E) byla krmena doplňkovou směsí, ve které byla sója nahrazena řepkovými složkami takovým způsobem, aby měly vyrovnané krmení, pokud jde o dusíkaté látky a energii. Pokus byl proveden křížovým způsobem a byl rozdělen do dvou období po 14 dnech. Každé období se skládalo ze 7 denního přípravného období a 7 denního pokusného období. Jako kritéria odezvy příjmu živin byly sledovány dojivost a složení mléka, a profil MK mléčného tuku.

Průměrný denní příjem živin byl u obou skupin podobný. Dojivost a obsah mléčného tuku, bílkovin, kaseinu a tukuprosté sušiny byl téměř stejný v obou skupinách ($P>0,05$). Obsah laktózy a močoviny byl u C nižší, než u E ($P<0,05$). Bod mrznutí mléka byl vyšší u C, než u E ($P<0,05$). Celkový obsah SFA byl vyšší u C, ve srovnání s E ($P<0,05$). Obsah C18:0 byl vyšší, a obsah C12:0, C14:0 a C16:0 byl nižší u E ve srovnání s C ($P<0,05$). Celkový obsah UFA byl vyšší u E, než u C ($P<0,05$), což odráží významné zvýšení MUFA a PUFA v E skupině ($P<0,05$). Koncentrace kyseliny olejové (C18:1n9c) byla u E podstatně vyšší než u C ($P<0,05$). Index atherogenicity (AI) a index nenasycenosti (DI) vypočtený pro E je nižší než u C, zatímco index roztíratelnosti (SI) u E byl vyšší ve srovnání s C ($P<0,05$).

Mléčná užitkovost, složení mléka, profil MK a ukazatele kvality mléčného tuku ovlivněné krmením s extrudovanými plnotučnými sojovými boby

Cílem práce bylo porovnat vliv řepkového extrahovaného šrotu a extrudované plnotučné sóji v krmné dávce dojnic na profil MK a technologické vlastnosti mléčného tuku (KŘÍŽOVÁ et al., 2017). Pokus byl proveden na čtyřech kanylovaných vysokoprodukčních laktujících holštýnských dojnicích (2. laktace 2, 22 - 26. týden laktace) s obdobnou užitkovostí (18,0 ± 1,1 kg / d), které byly rozděleny do dvou skupin. Kontrolní skupina byla krmena krmnou dávkou s doplňkem extrahovaného řepkového šrotu a řepkového oleje (R), zatímco pokusná skupina byla krmena krmnou dávkou s doplňkem extrudované plnotučné sóji (S). Pokus byl proveden ve dvou periodách, každá v délce 14 dnů, která byla tvořena přípravným (10 dní) a odběrovým (4 dny) obdobím. Dojnice byly krmeny individuálně 2x denně (6.30 a 16.30 h) *ad libitum* krmnou dávkou tvořenou kukuřičnou silážÍ, vojtěškovým senem a doplňkovou krmnou směsí. Jako kritérium odezvy byl sledován příjem živin, mléčná užitkovost a obsah základních složek mléka a profil MK a technologické vlastnosti mléčného tuku.

Příjem sušiny u R (16,8 kg/den) byl nižší než u S (17,8 kg/d; $P<0,05$). Mléčná užitkovost u R (17,6 kg/d) byla nižší než u S (19,5 kg/d, $P<0,05$). Obsah tuku nebyl pokusným zásahem ovlivněn ($P>0,05$). Obsah proteinu a kaseinu byl nižší u R než u S ($P<0,05$). Co se týče individuálních MK, rozdíly byly pozorovány zejména u LCFA nebo UFA. Obsah SFA a UFA v mléčném tuku u skupiny R byl 69,31 %, resp. 30,69 % a lišil se průkazně od skupiny S (68,36 %, resp. 31,64 %, $P<0,05$). Obsah PUFA v R (3,66 %), byl nižší než v S (4,03 %; $P<0,05$), zejména v důsledku rozdílů v C 18:2n6c, C 18:3n6 a C 18:3n3 mastných kyselinách ($P<0,05$). Podíl SCFA, MCFA a LCFA byl obdobný v obou skupinách ($P>0,05$). Index peroxidistability byl vyšší ve skupině S, než ve skupině R ($P<0,05$), zatímco indexy atherogenicity, desaturace a roztíratelnosti nebyly pokusným zásahem ovlivněny ($P>0.05$). Přímé porovnání krmných dávek s doplňkem extrudovaného řepkového šrotu nebo

extrudované plnotučné sóji provedené ve fyziologickém pokuse na dojnicích uprostřed laktace a za výše uvedených podmínek ukázalo jen malý vliv na profil MK a technologické vlastnosti mléčného tuku vyjádřené v podobě indexů peroxidisability, atherogenicity, desaturace a roztíratelnosti.

Vliv vybraných zrnin v dietě dojnic na složení MK mléka

Studie se zabývá srovnáním mléka od tří skupin dojnic, které byly krmeny třemi různými obilovinami (kukuřice, pšenice, tritikale) se zaměřením na profil MK mléčného tuku (ŠÍPALOVÁ et al., 2016). Během šesti týdnů bylo odebráno 26 vzorků mléka od dojnic plemene CF. Krmné skupiny byly co nejvíce vyvážené, pokud jde o dojivost, pořadí a stadium laktace. Analýzy byly provedeny s použitím esterifikace MK a po stanovení GC-FID ve vzorcích testovaných zrn, stejně jako v mléce.

Byly pozorovány významné rozdíly v obsahu MK: - pro C15:0, jejíž obsah byl vyšší v tuku mléka skupiny, která byla krmena kukuřicí (1,81±0,040 %) ve srovnání s mlékem skupiny, která byla krmena tritikale (1,67±0,024 %); - pro C16:1, jejíž obsah v tuku mléka byl vyšší v případě skupiny tritikale (2,18±0,026 %) v porovnání se skupinou pšenice (2,08±0,036 %). Výsledky tohoto šetření ukázaly, že kukuřice (kontrolní zrnina) byla mírně lepší než tritikale a pšenice. Současně, v souladu s našimi výsledky, pšenice a tritikale jsou srovnatelné náhrady kukuřice. Nicméně, je možné učinit závěr, že tritikale (kultivar kitaro) se zdá být vhodnou náhradou kukuřice z důvodu vyššího obsahu C16:1 ($P \leq 0,05$). Z různých úhlů pohledu je možné učinit závěr, že triticale se zdá být vhodnější variantou.

Vztah koncentrace zdravotně významných skupin MK ke složkám a technologickým vlastnostem kravského mléka

Některé skupiny MK v mléčném tuku mohou mít pozitivní a jiné i negativní vliv na zdraví spotřebitelů. Profil MK lze ovlivnit výživou dojnic, vliv má také plemeno nebo úroveň mléčné užitkovosti. Otázkou je rovněž, jaký mohou mít MK vztah ke kvalitě mléčných výrobků. Byl hodnocen vztah MK a jejich skupin k vybraným ukazatelům a technologickým vlastnostem u 64 bazénových vzorků mléka plemene CF a H během dvouletého sledování osmi stád v zimní a letní krmné sezoně (HANUŠ et al., 2010).

Vztah SFA (66,22 %) byl významný jen k obsahu laktózy (0,290; $P < 0,05$). Vztahy MUFA (29,21 %) k mléčným ukazatelům (MI) byly nevýznamné ($P > 0,05$). Vztahy PUFA, prospěšné pro zdraví konzumentů, (4,53 %) k MI byly těsnější: tuk (T, 0,321; $P < 0,05$); laktóza (L, 0,458; $P < 0,01$); alkoholová stabilita mléka (AL, 0,447; $P < 0,01$); titrační kyselost (SH, 0,342; $P < 0,01$); kvalita sýřeniny (KV, 0,427; $P < 0,01$); kysací schopnost mléka (JSH, 0,529; $P < 0,001$), počet sreptokoků v jogurtu (Strepto, 0,316; $P < 0,05$); celkový počet ušlechtilých mikroorganismů v jogurtu (CPMUK, 0,314; $P < 0,05$); poměr streptokoky/laktobacily (StreptoLacto, 0,356; $P < 0,01$). Při vyšších PUFA bylo patrno určité zhoršení některých technologických ukazatelů. U JSH lze 27,9 % variability vysvětlit variabilitou v zastoupení PUFA. Vztahy UFA (zdraví prospěšné; 33,74 %) k MI byly více podobné MUFA než PUFA. Významný vztah byl jen k laktóze (–0,252; $P < 0,05$). Vztahy HFA (pro zdraví méně výhodné; 45,96 %) k MI byly jen sporadicky významné: L (0,281; $P < 0,05$); SH (–0,319; $P < 0,05$); JSH (0,374; $P < 0,01$). Vyšší zastoupení HFA bylo spojeno s vyšší laktózou a možná vyšší dojivostí s intenzivnější výživou dojnic podle pravidel variability L. Vztahy CLA (pro zdraví výrazně prospěšná; 0,68 %) k MI byly: T (0,379; $P < 0,01$); L (–0,542; $P < 0,001$); AL (0,266; $P < 0,05$); KV (0,411; $P < 0,01$); Strepto (0,260; $P < 0,05$); StreptoLacto (0,270; $P < 0,05$). Vyšší hladiny CLA byly tak spojeny s vyšším obsahem tuku, nižším obsahem laktózy, nižší alkoholovou stabilitou, nižším počtem streptokoků v jogurtu a s nižším poměrem streptokoků k laktobacilům v jogurtu. Zejména u laktózy lze vysvětlit 29,32 % variability CLA variabilitou mléčného cukru. Zvýšení obsahu

laktózy o 0,1 % pak odpovídá poklesu v zastoupení CLA v mléčném tuku o 0,71 %. Vztahy nejvýznamnější nasycené a nenasycené MK C16:0 a C18:1 (palmitová a olejová, 31,52 a 25,32 %) k MI nebyly významné. Významné vztahy SCFA (9,16 %) k MI byly: L (0,425; $P < 0,01$); pevnost sýřeniny (PEV, 0,361; $P < 0,01$); JSH (0,460; $P < 0,01$). Významné vztahy MCFA (53,36 %) k MI byly: SH (0,426; $P < 0,01$); KV (0,271; $P < 0,05$); JSH (0,448; $P < 0,01$); Strepto (0,250; $P < 0,05$); log CPMUK (0,251; $P < 0,05$). Významné vztahy LCFA, 37,44 %) k MI byly: L (–0,280; $P < 0,05$); SH (0,410; $P < 0,01$); KV (0,266; $P < 0,05$); JSH (–0,492; $P < 0,001$); Strepto (0,257; $P < 0,05$); CPMUK (0,254; $P < 0,05$). Ukázaly se záporné korelační vztahy mezi zastoupením nenasycených MK (MUFA, ale zejména PUFA a UFA) a CLA v mléčném tuku a koncentrací laktózy. Existuje však také pozitivní korelační vztah laktózy k dojivosti a negativní k PSB.

Lze proto vyvozovat, že korelace UFA k laktóze mohou být rovněž nepřímo vztaženy k výši mléčné užitkovosti. Dříve bylo vyšší zastoupení MUFA, PUFA a CLA v mléčném tuku pozorováno souběžně s nižší dojivostí u obou dojených plemen v České republice. Nižší dojivost uvnitř plemen pak ukazovala na nižší koncentraci živin v krmné dávce. Nižší úroveň výživy stád dojnic také ukazovala na často vyšší zastoupení živin pocházejících ze sušiny objemných krmiv než koncentrátů. To je určitá cesta k žádoucímu zvýšení podílu zdravotně prospěšných MK v mléčném tuku. Uvedené pravděpodobně potvrzuje opačnou tendencí korelační index se souběžným zvýšením SFA a laktózy. Pokud jde o délku řetězce MK, jestliže uvažujeme kladnou korelaci laktózy k dojivosti, nižší laktóza a dojivost (v důsledku buď nižší genetické prošlechtěnosti zvířat nebo méně efektivní výživy nebo pro vyšší rozšíření poruch sekrece mléka) zvyšují podíl MK s dlouhým a snižují zastoupení MK s krátkým řetězcem. S růstem L klesalo zastoupení PUFA a CLA, zároveň se mírně zlepšily některé technologické vlastnosti mléka, alkoholová stabilita a jogurtová fermentace.

Případná snaha o zvýšení koncentrace zdraví prospěšných MK v mléčném tuku krav (prostřednictvím cílených chovatelských, většinou dietetických opatření) by mohla vést také k mírnému zhoršení technologických vlastností.

Porovnání metod používaných při stanovení zastoupení zdravotně významných MK mléčného tuku v bazénových vzorcích mléka dojnic

Mléčný tuk je jednou z nejvýznamnějších složek ovlivňujících technologické zpracování mléka. Složení mléčného tuku z hlediska MK přitom zajímá nejen technology v mlékárnách, např. pro stabilitu mléčného tuku nebo pro možnost ovlivnění roztíratelnosti másla, ale také odborníky pro humánní výživu.

I když celkově vyšší množství (55 – 75 %) SFA zajišťuje lepší stabilitu mléčného tuku a následně mléčných výrobků (KAYLEGIAN a LINDSAY, 1995), z hlediska výživy je méně akceptovatelné (DOSTÁLOVÁ et al., 2009). Příjem SFA z celkového energetického příjmu by měl být pod 10 % (20 g), PUFA 7 - 10 %. Příjem TFA by měl být co nejnižší a neměl by překročit 1 % (cca 2,5 g/den). V současnosti se profil MK mléčného tuku nesleduje, přestože jsou známy faktory příznivě působící na zvýšené zastoupení UFA – KALAČ a SAMKOVÁ (2010). Důvodem je mimo jiné náročnost analytického stanovení ekonomicky i časově nevýhodnou plynovou chromatografií (GC). GC je příliš nákladná při poskytnutí prakticky zbytečně detailního výsledku v daném ohledu. Tento je vhodný zejména pro vědecko-výzkumné účely.

Z literatury jsou však známy některé rychlejší a levnější způsoby stanovení MK, při nichž se uplatňuje potenciál infračervené (IR) spektroskopie ve středové oblasti vlnových délek IR záření nebo v oblasti IR blízké (SOUYERT et al., 2006; COPPA et al., 2010). Pro mléko (mléčný tuk) je v dané souvislosti výhodné určení profilu celého IR spektra prostřednictvím Michelsonova interferometru a s následným matematicko-statistickým vyhodnocením signálu Fourierovými transformacemi (MIR-FT). Tyto zvyšují analytickou efektivitu výtěžnosti

signálu. Metoda IR spektroskopie (MIR-FT) je v současnosti využívána v analytice mlékařství pro kontrolu kvality syrového mléka nebo pro stanovení některých minoritních složek mléka (volné MK, močovina, kyselina citrónová, ketony) – BIJGAART VAN DEN, 2006; HERING et al., 2008; HANUŠ et al., 2009; DRIFT VAN DER et al., 2012 aj. Je třeba zdůraznit, že věrohodnost výsledků z této rutinní analýzy bude záviset především na kvalitě kalibrací provedených podle výsledků referenční metody. Cílem práce bylo porovnání zastoupení vybraných MK a jejich skupin v mléčném tuku bazénových vzorků mléka stanovených referenční (přímou) a rutinní (nepřímou) metodou (HANUŠ et al., 2016). Ve 13 chovech holštýnského skotu v Olomouckém kraji bylo odebráno 33 bazénových vzorků mléka za účelem porovnání dvou metod stanovení MK – rutinní/nepřímá (pomocí infračervené spektroskopie – MIR-FT) a referenční/přímá (pomocí plynové chromatografie - GC). Těsnost vztahů mezi oběma metodami je silnější v případě skupiny SFA a UFA ($r = 0{,}7094$; 0,9389; $P < 0{,}001$), zatímco u skupiny TFA a PUFA jsou korelační koeficienty nižší (0,5897; 0,5931; $P < 0{,}001$). 50,3 a 88,2 % variability v hodnotách SFA a UFA podle nepřímé rutinní metody MIR-FT je vysvětlitelných variacemi v analýzách přímé referenční metody GC.

Výsledky naznačují, že řadu informací MIR-FT o výskytu MK lze využít pro rutinní stanovení těchto skupin MK a případnou praktickou selekci mléčné suroviny pro specifickou potravinářskou výrobu.

Hypotetické zadání studie perzistence CLA během zpracovatelské fermentační technologie

Při zpracování zdravotně zvýhodněné suroviny (syrové mléko se zvýšeným obsahem zdravotně prospěšných MK) na výrobky, sýry nebo fermentované produkty (jogurt, kefír, acidofilní mléko), zbývá také vyhodnotit jak studijní, tak i praktickou otázku míry persistence této nutriční výhody během technologie zpracovatelského procesu do mléčné potraviny. Uvedené je zadáním této certifikované metodiky.

2) Cíl aplikace certifikované metodiky

Cílem certifikované metodiky je metodická podpora rozvoje chovu skotu, zejména pro menší (low input nebo ekologické farmy s vlastní produkcí mléčných potravin se zvýšeným obsahem zdraví prospěšných MK v mléčném tuku), ale i větší farmy (selekce stád a suroviny pro potravinové výrobky se stejným účelem), pro zajištění podpory trhu a zaměstnanosti ve venkovském prostoru výrobou kvalitních potravinových surovin s ambicí produkce funkčních potravin, stejně jako pro podporu údržby krajiny a to cestou metodického vyhodnocení perzistence vybraných, potenciálně zdravotně benefitních MK mléčného tuku v průběhu fermentační technologie specifických, náročnějších mléčných výrobků s vyšší přidanou hodnotou.

3) Vlastní výzkum a vývoj pro certifikovanou metodiku – posouzení perzistence CLA ve fermentační technologii zpracování mléka

I) Podmínky experimentálních odběrů vzorků mléka

Mléčné farmy

Bazénové vzorky mléka byly odebrány na 16 komerčních mlékařských farmách. Na polovině farem byly dojnice trvale ustájené (dále jen stájový chov), ve druhé polovině chovů byla využívána pastva (dále jen pastevní chov). Deset farem se nachází v horské oblasti

s nadmořskou výškou od 432 do 645 m, šest v nížinné oblasti s nadmořskou výškou 267 až 364 m. Na polovině farem je chován CF, na polovině H (Tab. 7).

Tab. 7 Obecná charakteristika sledovaných chovů.

Č. chovu	*Typ chovu*	*Kraj*	*Nadmořská výška*	*Oblast*	*Plemeno*
1	pastevní	Olomoucký	432	podhorská	holštýnské
2	pastevní	Olomoucký	633	podhorská	české strakaté
3	pastevní	Pardubický	550	podhorská	české strakaté
4	pastevní	Pardubický	567	podhorská	české strakaté
5	pastevní	Pardubický	508	podhorská	české strakaté
6	pastevní	Pardubický	645	podhorská	holštýnské
7	stájový	Pardubický	364	nížinná	české strakaté
8	stájový	Olomoucký	360	nížinná	holštýnské
9	stájový	Olomoucký	299	nížinná	české strakaté
10	stájový	Olomoucký	259	nížinná	holštýnské
11	stájový	Olomoucký	267	nížinná	holštýnské
12	stájový	Olomoucký	286	nížinná	holštýnské
13	stájový	Olomoucký	268	nížinná	holštýnské
14	stájový	Moravskoslezský	555	podhorská	holštýnské
15	pastevní	Moravskoslezský	545	podhorská	české strakaté
16	pastevní	Moravskoslezský	510	podhorská	české strakaté

Charakteristika krmných dávek

Krmné dávky byly sestavené podle požadované denní potřeby živin pro dojnice (záchovná a produkční krmná dávka) a s ohledem na aktuální dojivost, produkční krmné směsi byly doplněné o vitaminové a minerální doplňky (Tab. 8). Ve stájových chovech se využívala především krmiva typická pro podmínky ČR (kukuřičná, vojtěšková, jetelová či travní siláž, seno, sláma, mláto, melasa, řepné řízky). U pastevních chovů byla hlavní složkou krmné dávky pastva využívaná v různé míře.

Tab. 8 Základní charakteristika krmných dávek ve sledovaných farmách.

Chov	*Objemná krmiva kg/dojnici/den*							*Jadrná krmiva kg/dojnici/den*
	Pastva	*Siláž/senáž*	*Seno*	*Sláma*	*Ostatní*	*Celkem*		*Celkem*
1	30	10	3		9,5	52,5		8,5
2	65		2			67		1
3	70			1		71		2
4	70			1		71		
5	60		3			63		2,5
6	35	9				44		5,5
7		31	1			32		10,5
8		25,5	2,5			28		9,8
9		28	2		12	42		8,7
10		28	0,7	0,7	8,2	37,6		8,3

pokračování Tab. 8

Chov	Objemná krmiva kg/dojnici/den							Jadrná krmiva kg/dojnici/den
	Pastva	Siláž/senáž	Seno	Sláma	Ostatní	Celkem		Celkem
11		31,1			6	37,1		11
12		35	3		15	53		10,2
13		37	0,2			37,2		8,4
14		27	0,5			27,5		10
15	70					70		5
16	40	8				48		3,2

Charakteristika mléčné užitkovosti

Údaje o základních parametrech mléčné užitkovosti a věku při prvním otelení na jednotlivých farmách jsou v Tab. 9.

Tab. 9 Základní charakteristika mléčné užitkovosti ve sledovaných farmách.

Č. chovu	Věk při 1. otelení (dny)	1. laktace						Všechny laktace				
		Počet dojnic	Počet dní	Mléko (kg)	Tuk (%)	Bílkoviny (%)		Počet dojnic	Počet dní	Mléko (kg)	Tuk (%)	Bílkoviny (%)
1	856	93	301	7081	3,78	3,18		265	301	7523	3,86	3,16
2	1092	12	295	3581	4,17	3,08		55	283	3890	4,10	3,31
3	873	22	276	4571	4,21	3,39		38	276	5177	4,34	3,47
4*	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x
5	1024	35	293	4803	4,31	3,22		109	292	5273	4,24	3,25
6	827	136	303	8731	3,65	3,28		367	300	8950	3,75	3,29
7	765	235	299	8076	3,71	3,47		596	296	8386	3,59	3,42
8	798	50	299	10218	3,64	3,27		100	300	11038	3,62	3,23
9	866	46	287	6221	3,63	3,53		108	282	6804	3,61	3,43
10	758	135	301	7762	3,66	3,42		347	300	8071	3,73	3,41
11	726	170	295	8222	3,69	3,43		471	294	9450	3,70	3,36
12	717	138	294	10140	3,57	3,19		370	295	11069	3,68	3,22
13	755	98	296	7162	3,91	3,28		247	296	7799	4,02	3,29
14	761	109	304	9183	3,70	3,13		287	302	10318	3,78	3,14
15	826	53	294	7141	3,95	3,31		157	288	7478	4,03	3,39
16	968	47	298	4669	3,97	3,19		109	296	5142	4,04	3,21

* pro chov č. 4 údaje nebyly k dispozici

Odběr vzorků mléka

Vzorky byly odebrány v pastevním období (červenec). Na každé z farem byl odebrán jeden bazénový vzorek mléka, který byl rozdělen na tři části. První část byla použita na stanovení základních jakostních ukazatelů, druhá pro stanovení mastných kyselin v mléčném tuku a třetí pro přípravu jogurtů. Celkový počet odebraných bazénových vzorků byl 16.

II) Analýzy vzorků mléka, jogurtu a statistické zpracování

Příprava jogurtů

Jogurty byly z mléka připravovány standardizovaným způsobem podle kysací normy ON 57 0534, kdy bylo do kádinky odpipetováno 50 ml zkoumaného vzorku mléka, které bylo laboratorně pasterováno na 85 ºC po dobu 5 minut. Následně bylo rychle vytemperováno na 43 ºC a byly k němu přidány 2 ml očkovací jogurtové kultury (YC-180-40-FLEX). Inkubace v termostatu při teplotě 43 °C probíhala 3 a půl hodiny.

Analýzy vzorků

Analýza jakostních ukazatelů mléka byla provedena v akreditované laboratoři Výzkumného ústavu mlékárenského Praha. Metodou MIR a MIR-FT (infračervená spektroskopie s optickými filtry a s Fourierovými transformacemi; MilkoScan 133 B (Foss Electric, Dánsko) a Lactoscope FTIR (Delta Instruments, Nizozemsko)) byly po příslušných kalibracích stanoveny: obsahy hlavních složek tuku, hrubých bílkovin, kaseinu, laktózy (monohydrát) a sušiny tukuprosté; obsahy minoritních složek jako kyseliny citronové a volných mastných kyselin. Metodou průtočné cytometrie na zařízení Somacount 300 (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA) byl stanoven počet somatických buněk (dle EN ISO 13366-2). Pomocí přístroje Cryo-Star Automatic (Funke-Gerber, Německo) byla kryoskopicky určena hodnota bodu mrznutí mléka. Množství močoviny a acetonu bylo stanoveno spektrofotometricky na přístroji Spekol 11 (Carl Zeiss Jena, Německo). Vodivost mléka byla určena konduktometricky (OK 102/1, Radelkis, Hungary) a kyselost pH potenciometricky (Cyberscan 510). Hodnota SH byla stanovena podle ČSN 57 0530. Alkoholová stabilita byla stanovena titračně v ml spotřeby alkoholu 96 % na 5 ml mléka do denaturace bílkovin (tvorby viditelných vloček). Analýzy jogurtů na obsah hlavních složek (tuk, bílkoviny, laktóza a sušina tukuprostá) byly provedeny metodou MIR (infračervená spektroskopie s optickými filtry; MilkoScan 133 B (Foss Electric, Dánsko). Hodnota pH byla stanovena pomocí přístroje pH meter Cyberscan 510. Množství močoviny a acetonu bylo stanoveno spektrofotometricky (Spekol 11).

Stanovení MK

Zastoupení MK ve vzorcích mléka a jogurtu bylo stanoveno metodou plynové chromatografie (GLC) po předchozí lyofilizaci materiálu, extrakci tuku a derivatizaci MK na Katedře aplikované chemie (Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta). Stanovení MK bylo provedeno na přístroji Varian 3800 (Varian Techtron, USA). Identifikace MK v mléčném tuku byla provedena pomocí standardů firmy Supelco. Celkem bylo v mléčném tuku zjištěno 57 a identifikováno 48 MK (Tab. 10). Zastoupení jednotlivých MK bylo určeno z poměru ploch jejich píků k celkové ploše píků všech zjištěných MK.

Statistické vyhodnocení dat

Pro statistické vyhodnocení byly využity programy Microsoft Office Excel 2010 a Statistica Cz 9.1. (StatSoft CR s.r.o.). Použité postupy hodnotily základní statistické parametry, regresní analýzu, analýzu variance a významnost průměrných rozdílů na konvenčních hladinách pravděpodobnosti.

Tab. 10 Přehled významných skupin mastných kyselin mléčného tuku.

Skupina mastných kyselin	*Počet*	*Identifikované mastné kyseliny*
SFA, z toho:	17	$C_{4:0}$; $C_{6:0}$; $C_{8:0}$; $C_{10:0}$; $C_{11:0}$; $C_{12:0}$; $C_{13:0}$; $C_{14:0}$; $C_{15:0}$; $C_{16:0}$; $C_{17:0}$; $C_{18:0}$; $C_{20:0}$; $C_{21:0}$; $C_{22:0}$; $C_{23:0}$; $C_{24:0}$;
VFA	4	$C_{4:0}$; $C_{6:0}$; $C_{8:0}$; $C_{10:0}$;
HFA	3	$C_{12:0}$; $C_{14:0}$; $C_{16:0}$;
UFA, z toho:	25	
MUFA*cis*, z toho:	12	$C_{10:1}$; $C_{12:1}$; $C_{14:1}$; $C_{15:1}$; $C_{16:1}$; $C_{16:1n7}$; $C_{17:1n7;}$ $C_{18:1n7}$; $C_{18:1n9}$; $C_{19:1}$; $C_{20:1n9}$; $C_{23:1}$;
TFA	1	$C_{18:1n7}$
PUFA, z toho:	13	
PUFA n3	4	$C_{18:3n3}$; $C_{20:4n3}$; $C_{20:5n3}$; $C_{25:5n3}$;
PUFA n6	4	$C_{18:2n6}$; $C_{20:2n6}$; $C_{20:3n6}$; $C_{20:4n6}$;
SCFA	11	$C_{4:0}$; $C_{6:0}$; $C_{8:0}$; $C_{10:0}$; $C_{11:0}$; $C_{12:0}$; $C_{13:0}$; $C_{10:1}$; $C_{12:1}$;
MCFA	16	$C_{14:0}$; $C_{15:0}$; $C_{16:0}$; $C_{17:0}$; $C_{14:1}$; $C_{15:1}$; $C_{16:1}$; $C_{16:1n7}$; $C_{17:1n7}$
LCFA	30	$C_{18:0}$; $C_{20:0}$; $C_{21:0}$; $C_{22:0}$; $C_{23:0}$; $C_{24:0}$; $C_{18:1n7}$; $C_{18:1n9}$; $C_{19:1}$; $C_{20:1n9}$; $C_{23:1}$; $C_{18:3n3}$; $C_{20:4n3}$; $C_{20:5n3}$; $C_{25:5n3}$; $C_{18:2n6}$; $C_{20:2n6}$; $C_{20:3n6}$; $C_{20:4n6}$;

SFA = nasycené mastné kyseliny, VFA = těkavé mastné kyseliny, UFA = nenasycené mastné kyseliny, TFA = trans mastné kyseliny, MUFA*cis* = monoenové nenasycené mastné kyseliny v konfiguraci *cis*, PUFA = polyenové nenasycené mastné kyseliny

III) Výsledky mléka a perzistence CLA ve fermentovaném produktu (jogurtu)

Složení a vlastnosti mléka

Základní statistika vzorků mléka je uvedena v Tab. 11. Nejstabilnější hlavní složkou mléka s průměrnou hodnotou obsahu 4,86 % byla laktóza. Hodnoty pro obsah tuku se pohybovaly v rozmezí 3,02 – 4,25 % a pro bílkoviny v rozmezí 3,09 – 3,62 %. Nejnižší variabilitu u těchto hlavních složek měla právě laktóza (1,7 %), nejvyšší variabilitu pak vykazoval obsah tuku s hodnotou 8,6 %. Fyziologický obsah močoviny je obvykle uváděn v rozpětí od 20 do 30 mg.100ml^{-1} mléka. S vyšší užitkovostí dojnic je tolerován obsah močoviny do 35 mg.100ml^{-1}. Na sledovaných farmách byl tento průměr o něco vyšší a to 38,08 mg.100ml^{-1} a vykazoval variabilitu 21,1 %. Průměrná hodnota obsahu acetonu byla 4,93 mg.l^{-1}, což je v přijatelném rozmezí, tedy 3 až 7 mg.l^{-1}. Kyselina citrónová se v mléce běžně vyskytuje v koncentracích od 8 do 10 mmol.l^{-1}. Koncentrace kyseliny citrónové v bazénových vzorcích na sledovaných farmách byla nižší, v průměru 6,1 mmol.l^{-1} a vykazovala velmi nízkou variabilitu. Hodnoty pod 6 mmol.l^{-1} mohou svědčit o určitém nedostatku energie. Dle ČSN 570529 je maximální přípustný obsah volných mastných kyselin v mléce do 1,3 mmol.100g^{-1} tuku. Tento limit byl splněn hodnotou 1,01 mmol.100g^{-1} tuku. Variační koeficient byl 36 %. Hodnota PSB byla průměrně 339 tis.ml^{-1} s poměrně vysokou variabilitou (v% = 37,2 %). Průměrná hodnota BMM -0,524 °C splňuje limit Vyhlášky 639/2004 Sb. podle které, nesmí mít mléko BMM vyšší než -0,520 °C.

Obsah bílkovin se v případě oblasti a způsobu chovu téměř nelišil (Tab. 12; Tabulková příloha CM 36). Výraznější rozdíly však byly u plemene, kdy CF mělo vyšší obsah bílkovin a zároveň i vyšší podíl tuku. Tyto údaje se shodují s informacemi o užitkovosti plemen. Podobně tak bylo u způsobu chovu a oblasti, zde je však opět třeba brát v úvahu, že v podhorských oblastech bylo převážně chováno CF pastevním způsobem. Stejně tak mohou být vysvětleny rozdíly v obsahu acetonu, kdy u pastevních a podhorských chovů je tento obsah vyšší z důvodu výživy. Velký rozdíl byl také u obsahu močoviny v případě rozdílného plemene, vzhledem k tomu, že většina holštýnských chovů byla v nížinné oblasti ve stájových chovech. Ty lze označit jako chovy intenzivní a u těchto je vyšší obsah močoviny celkem běžný.

Složení mléčného tuku

Složení MK v mléčném tuku určuje nejen, jaké bude mít mléko technologické vlastnosti, ale i jaké bude moci mít zdravotní benefity pro spotřebitele. Mléko je zdrojem dobře stravitelných SFA a zároveň je zdrojem UFA, z nichž ALA a LA jsou kyseliny esenciální, tedy pro člověka nezbytné. V Tab. 13 je zastoupení vybraných MK ve vzorcích mléka.

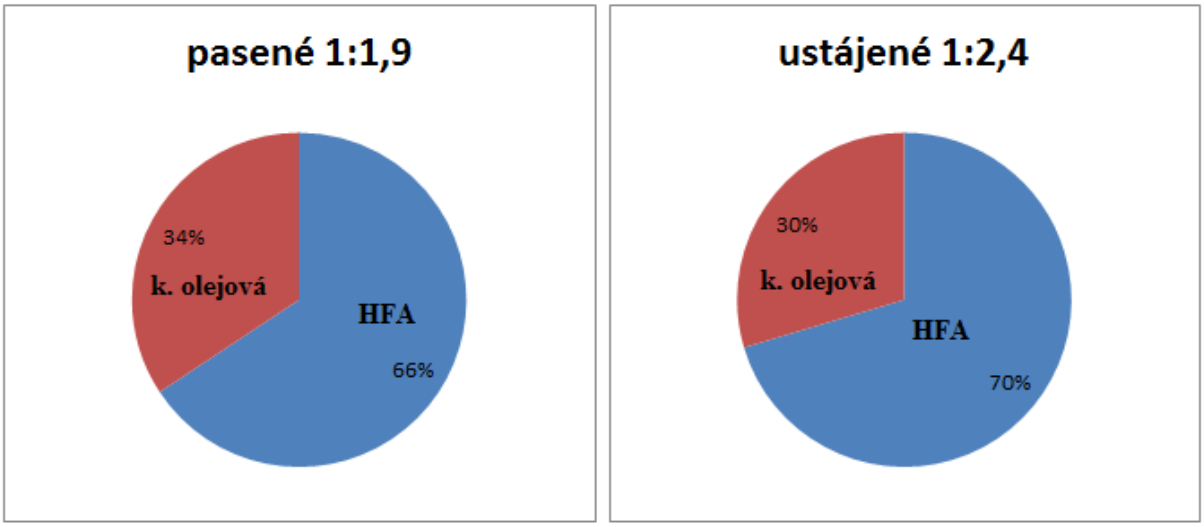
Naměřené obsahy jednotlivých kyselin se shodují s průměry, které uvádí odborná literatura (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009). Vysoká variabilita u UFA, především u kyseliny rumenové, což je jeden z isomerů CLA (61,4 %) a ALA (41,8 %) nám ukazuje, jak velký vliv má způsob chovu na profil MK mléčného tuku. Je známo, že vliv na zastoupení UFA má vliv především způsob chovu, pořadí laktace a průběh laktace (SAMKOVÁ, 2011).

Tab. 11 Základní statistické charakteristiky sledovaných ukazatelů bazénových vzorků mléka (n = 16).

Složení mléka	$\bar{x}$	s_x	***min***	***max***	***v %***
Bílkoviny (%)	3,27	0,14	3,09	3,62	4,2
Kasein (%)	2,59	0,14	2,42	2,92	5,3
Tuk (%)	3,71	0,32	3,02	4,25	8,6
Laktóza (%)	4,86	0,08	4,67	4,98	1,7
Tukuprostá sušina (%)	8,65	0,22	8,04	9,01	2,5
Močovina (mg.100ml^{-1})	38,08	8,03	27,56	52,49	21,1
Aceton (mg.l^{-1})	4,93	2,22	2,43	10,21	45,1
Kyselina citrónová (mmol.l^{-1})	6,10	0,08	5,99	6,24	1,3
VMK (mmol.100g^{-1} tuku)	1,01	0,36	0,62	1,81	36,0
Ostatní ukazatele					
PSB (tis.ml^{-1})	339	126	139	525	37,2
pH	6,67	0,04	6,55	6,73	0,6
Vodivost (mS.cm^{-1})	3,83	0,12	3,60	4,00	3,1
Bod mrznutí mléka (°C)	-0,524	0,007	-0,532	-0,507	1,3
Alkoholová stabilita (ml)	0,67	0,10	0,49	0,89	14,7
SH	7,70	0,44	6,88	8,44	5,7

VMK = volné mastné kyseliny; PSB = počet somatických buněk; SH = stupně Soxhlet Henkela; x = aritmetický průměr; s_x = směrodatná odchylka; min = minimum; max = maximum; v % = (s_x/ $\bar{x}$)*100, variační koeficient

Obr. 3 Poměr mezi kyselinou olejovou a HFA u mléka z pastevních a ustájených chovů.



Potvrzuje se vyšší variabilita u UFA. Nejvyšší variabilitu však najdeme u *trans*-FA. Opět se jedná o skupinu MK, jejíž obsah v mléčném tuku je silně ovlivnitelný vnějšími faktory. V Tab. 14 a 15 (Tabulková příloha CM 36) jsou potom shrnuty výsledky zastoupení vybraných MK a jejich skupin podle různých proměnných. Nejvýznamější rozdíly jsou u UFA v rámci způsobu chovu, především u kyseliny rumenové (CLA). Zároveň z tabulky vyplývá, že mléko od dojnic v pastevním způsobu chovu má pro spotřebitele výhodnější poměr mezi kyselinou olejovou a skupinou HFA kyselin (C12:0, C14:0 a C16:0). Tento poměr je u pastevního chovu 1:1,9 oproti ustájeným chovům, kde je tento poměr 1:2,4 (Obr. 3).

Tab. 13 Základní statistické charakteristiky obsahů vybraných mastných kyselin a skupin mastných kyselin v mléce.

Zastoupení mastných kyselin	$\bar{x}$	s_x	***min***	***max***	***v %***
Nasycené mastné kyseliny					
C4:0	1,70	0,22	1,36	2,27	12,8
C6:0	1,51	0,11	1,34	1,75	7,4
C8:0	1,14	0,13	0,88	1,35	11,0
C10:0	2,69	0,40	1,90	3,42	14,9
C12:0	3,21	0,56	2,16	4,19	17,4
C14:0	10,69	1,19	8,33	12,66	11,1
C16:0	30,17	2,85	24,54	34,76	9,5
C18:0	11,08	1,47	9,01	14,39	13,2
Nenasycené mastné kyseliny					
C18:1 *cis*-9	20,64	1,83	17,21	23,90	8,9
C18:2 *n*-6	2,29	0,33	1,62	2,92	14,5
C18:3 *n*-3	0,62	0,26	0,31	1,13	41,8
C18:2 *cis*-9, *trans*-11	0,71	0,44	0,29	1,71	61,4

pokračování Tab. 13

Zastoupení mastných kyselin	$\bar{x}$	s_x	***min***	***max***	***v %***
Skupiny mastných kyselin					
VFA	7,04	0,60	6,01	8,23	8,5
HFA	44,08	4,24	35,10	49,93	9,6
TFA	2,52	0,99	1,48	5,48	39,4
SFA	65,12	3,01	58,77	69,98	4,6
MUFA	25,98	1,89	21,32	28,43	7,3
PUFA	4,29	0,91	3,10	6,78	21,2
SCFA	10,85	1,20	8,66	13,23	11,0
MCFA	47,75	3,76	40,62	54,23	7,9
LCFA	41,40	4,69	34,76	50,71	11,3

VFA = těkavé mastné kyseliny; HFA = hypercholesterolemické mastné kyseliny; TFA = trans mastné kyseliny; SFA = nasycené mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny v konfiguraci *cis*; PUFA = polynenasycené mastné kyseliny; SCFA = mastné kyseliny s krátkým řetězcem; MCFA = mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem; LCFA = mastné kyseliny s dlouhým řetězcem

Porovnání jakostních ukazatelů, vybraných MK a jejich skupin v syrovém mléce a jogurtu

Nejvýznamnější vztah u jakostních ukazatelů mezi jogurtem a mlékem je v případě mléčného tuku, kdy ze 79,4 % bude obsah tuku stejný v jogurtu jako ve výchozím mléce. Nejnižší vztah je potom u pH a SH a to z důvodu bakteriální aktivity. Nárůst obsahu močoviny v jogurtu je následkem fermentačního procesu a je poměrně běžný. Nárůst bílkovin je důsledkem zahuštění a odparu vody.

V případě MK je vztah mezi mlékem a jogurtem (Tab. 16) velice těsný s výjimkou VFA, tedy kyselin C4:0 (R^2 = 10 %), C6:0 (R^2 = 8 %) a C8:0 (R^2 = 74 %), kde je R^2 pouze 36 %. Podobně nízkou pravděpodobnost můžeme pozorovat u SCFA kam VFA patří. Ostatní MK, především ALA a CLA jsou v rámci technologického zpracování na jogurt stabilní. Stejnou stabilitu v průběhu zpracování potvrzují například BISIG et al. (2007). Obr. 4 až 8 znázorňují regresní a korelační vztahy mezi mlékem a jogurtem u vybraných MK. Obr. 9 znázorňuje totéž pro skupinu nenasycených mastných kyselin.

Vlastnosti jogurtu

Základní statistické charakteristiky u jogurtu jsou shrnuty v Tab. 17. Složky odpovídají přibližně složení méka, logicky jsou oproti mléku výrazné posuny v kyselostech pH (snížení) a SH (zvýšení).

Tab. 17 Základní statistické charakteristiky sledovaných ukazatelů jogurtu (n = 16).

	$\bar{x}$	s_x	***min***	***max***	***v %***
Bílkoviny (%)	3,5	0,2	3,2	4,0	6,5
Kasein (%)	2,4	0,2	2,1	3,0	8,9
Tuk (%)	3,7	0,3	3,0	4,1	6,8
Laktóza (%)	4,4	0,1	4,1	4,5	2,6
Tukuprostá sušina (%)	9,3	0,3	8,6	9,9	3,5
Močovina (mg.100ml^{-1})	67,6	7,4	53,8	80,8	11,0
pH	4,4	0,0	4,4	4,5	0,9
SH	30,8	2,6	24,4	34,4	9,1

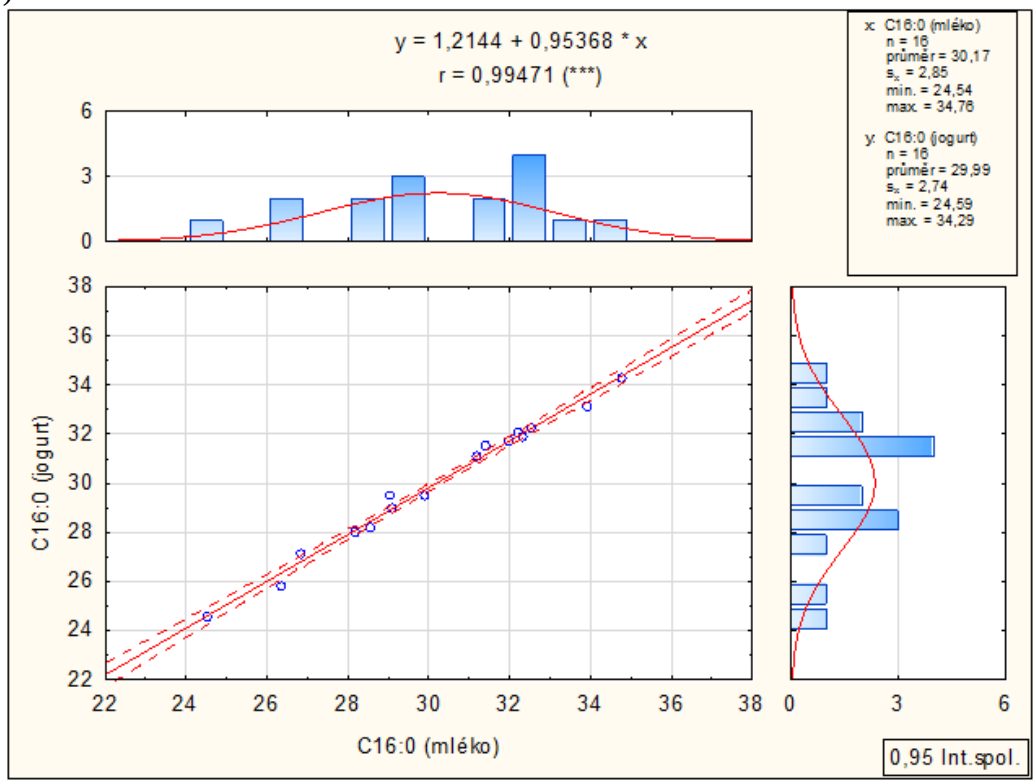
SH = stupně Soxhlet-Henkela

Tab. 16 Srovnání a vztah hlavních jakostních ukazatelů mléka a z něj vyrobeného jogurtu.

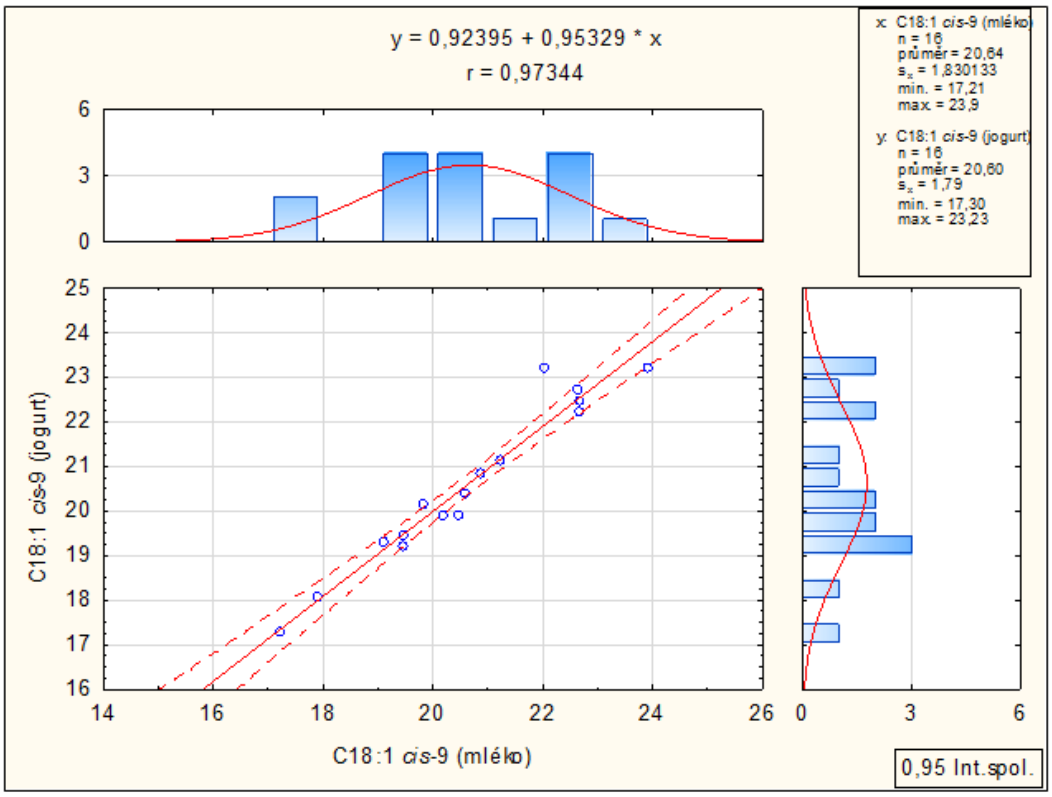
Složení mléka	***Mléko (n=16)***	***Jogurt (n =16)***	***P***	***Vztah mezi jakostními ukazateli u mléka a jogurtů***			
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$		změna (%)	r	*P* (r)	R^2 %
Bílkoviny (%)	3,27 ± 0,14	3,45 ± 0,22	<0,001	5,4	0,5963	**	36
kasein (%)	2,59 ± 0,14	2,39 ± 0,21	<0,001	-7,7	0,6372	**	41
tuk (%)	3,71 ± 0,32	3,66 ± 0,25	0,2139	-1,3	0,8911	***	79
laktóza (%)	4,86 ± 0,08	4,40 ± 0,12	<0,001	-9,4	0,6165	**	38
močovina (mg.100ml^{-1})	38,08±8,03	67,65±7,41	<0,001	77,7	0,8060	***	65
pH	6,7 ± 0,04	4,4 ± 0,04	<0,001	-33,8	0,3658	***	13
SH	7,7 ± 0,44	30,8 ± 2,6	<0,001	300,0	0,1016	***	1
Nasycené mastné kyseliny							
C4:0	1,70 ± 0,22	1,61 ± 0,22	0,2652	-5,3	0,3198		10
C6:0	1,51 ± 0,11	1,48 ± 0,11	0,5247	-2,0	0,2767		8
C8:0	1,14 ± 0,13	1,14 ± 0,12	0,9607	0,0	0,8575	***	74
C10:0	2,69 ± 0,4	2,74 ± 0,4	0,7520	1,9	0,9661	***	93
C12:0	3,21 ± 0,56	3,26 ± 0,57	0,8044	1,6	0,9838	***	97
C14:0	10,69±1,19	10,81±1,16	0,7826	1,1	0,9877	***	98
C16:0	30,17±2,85	29,99±2,74	0,8542	-0,6	0,9947	***	99
C18:0	11,08±1,47	10,80±1,35	0,5849	-2,5	0,9921	***	98
Nenasycené mastné kyseliny							
C18:1 *cis*-9	20,64±1,83	20,60±1,79	0,9506	-0,2	0,9734	***	95
C18:2 *n*-6	2,29 ± 0,33	2,30 ± 0,29	0,9151	0,4	0,9250	***	86
C18:3 *n*-3	0,62 ± 0,26	0,61 ±0,24	0,8894	-1,6	0,9984	***	100
C18:2 *cis*-9, *trans*-11	0,71 ± 0,44	0,71 ± 0,41	0,9720	0,0	0,9988	***	100
Skupina mastných kyselin							
VFA	7,04 ± 0,6	6,97 ± 0,57	0,7320	-1,0	0,6019	**	36
HFA	44,08±4,24	44,06±4,11	0,9904	0,0	0,9949	***	99
TFA	2,52 ± 0,99	2,45 ± 1,08	0,8511	-2,8	0,7867	***	62
SFA	65,12±3,01	64,83±3,01	0,7877	-0,4	0,9711	***	94
MUFA	25,98±1,89	26,17±1,65	0,7624	0,7	0,9657	***	93
PUFA	4,29 ± 0,91	4,37 ± 0,83	0,8009	1,9	0,9874	***	97
SCFA	10,85 ± 1,2	10,84±0,83	0,9819	-0,1	0,8737	***	76
MCFA	47,75±3,76	47,98±3,66	0,8665	0,5	0,9909	***	98
LCFA	41,4 ± 4,69	41,18±4,67	0,8986	-0,5	0,9895	***	98

VFA = těkavé mastné kyseliny; HFA = hypercholesterolemické mastné kyseliny; TFA = trans mastné kyseliny; SFA = nasycené mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny v konfiguraci *cis*; PUFA = polynenasycené mastné kyseliny; SCFA = mastné kyseliny s krátkým řetězcem; MCFA = mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem; LCFA = mastné kyseliny s dlouhým řetězcem

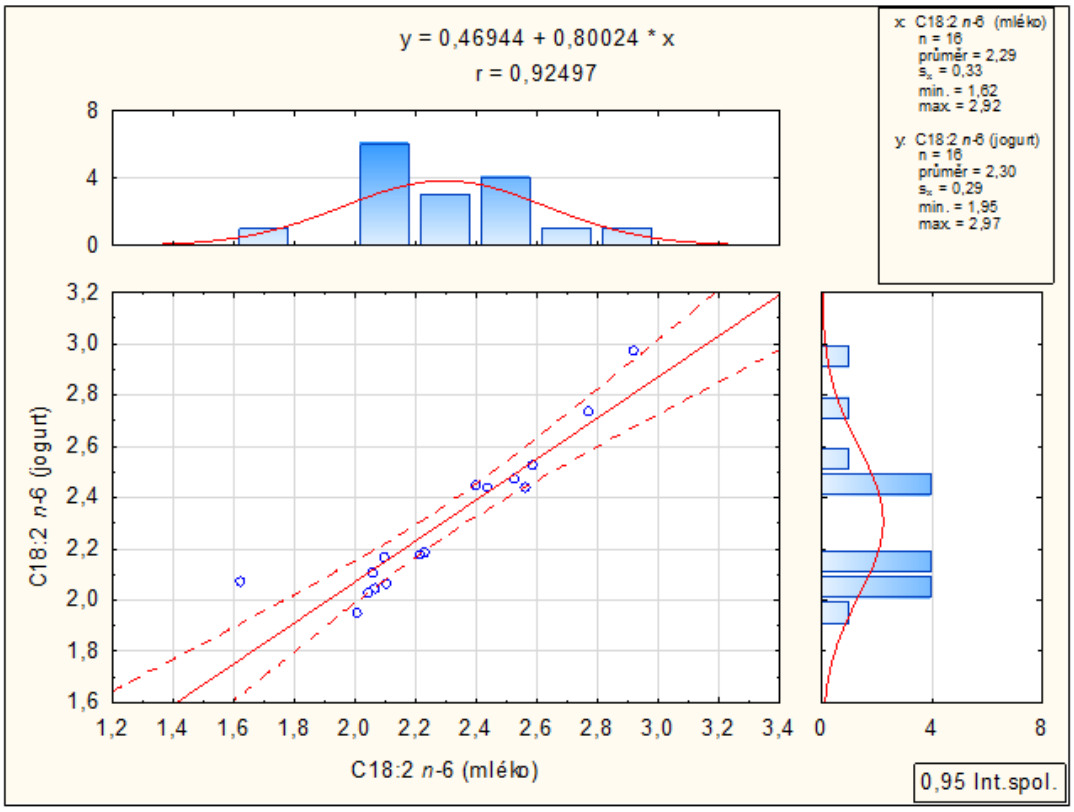
Obr. 4 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro kyselinu palmitovou (C16.0).



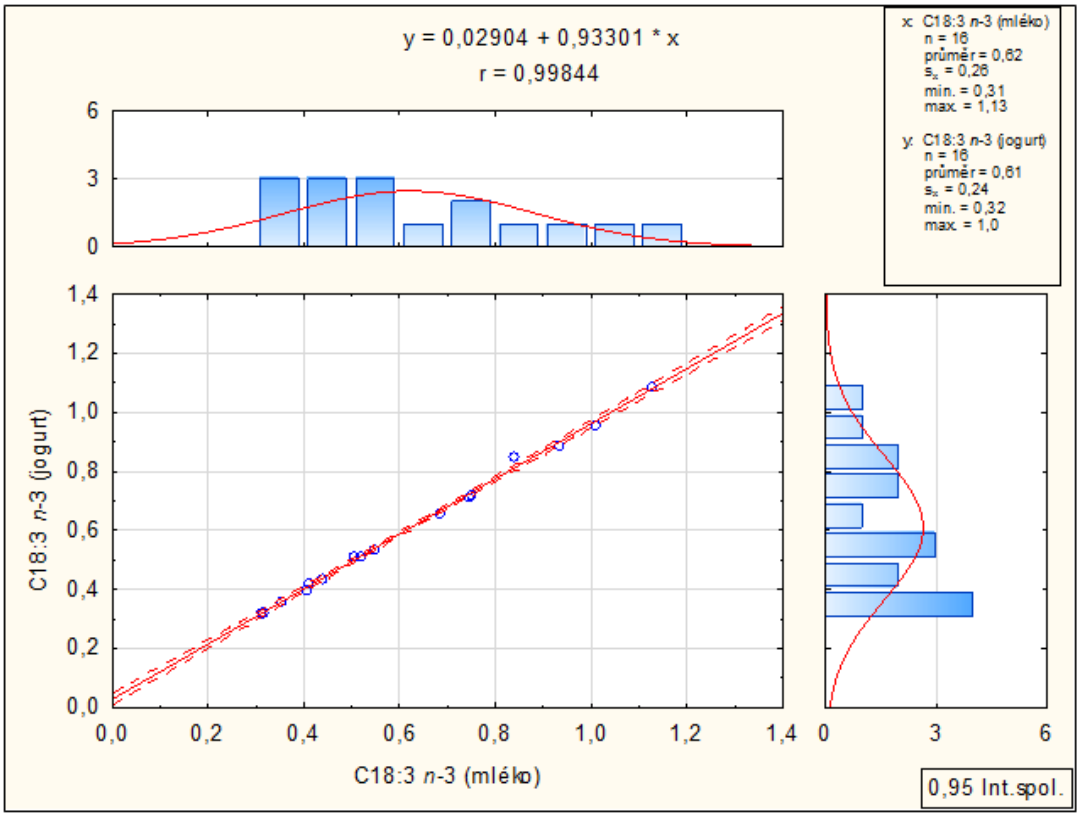
Obr. 5 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro kyselinu olejovou (C18:1 *cis*-9).



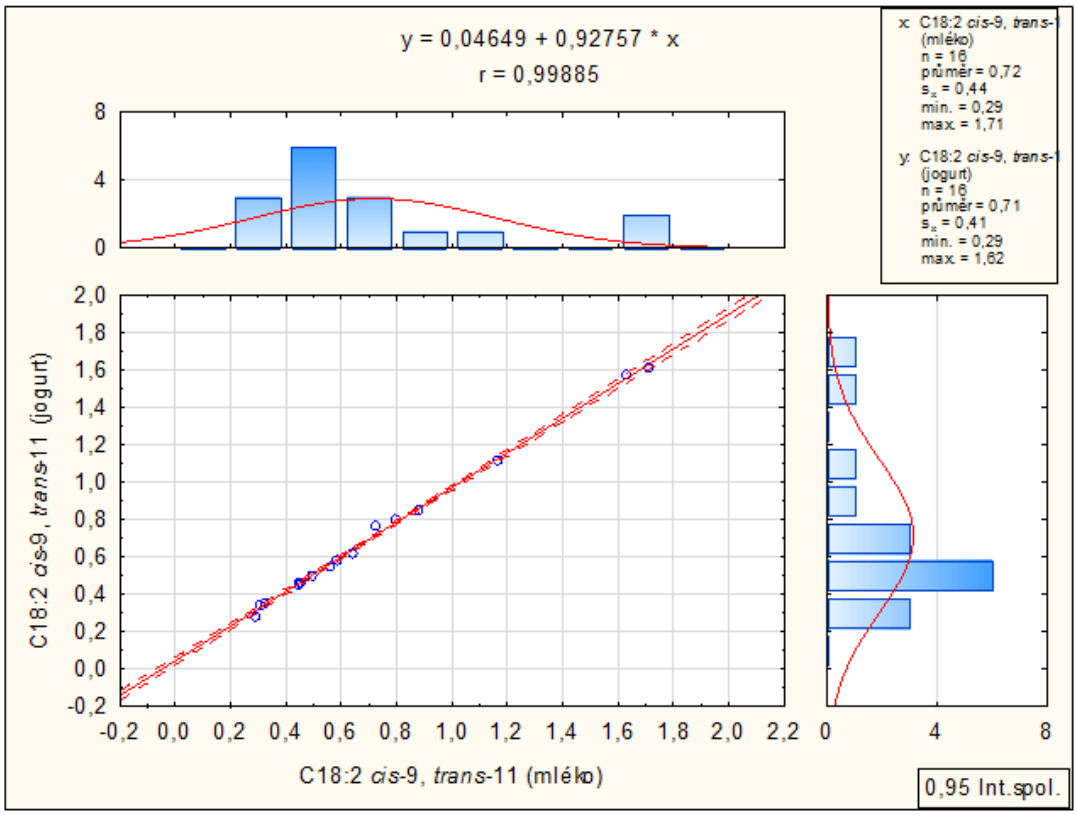
Obr. 6 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro kyselinu linolovou (C18:2 *n*-6).



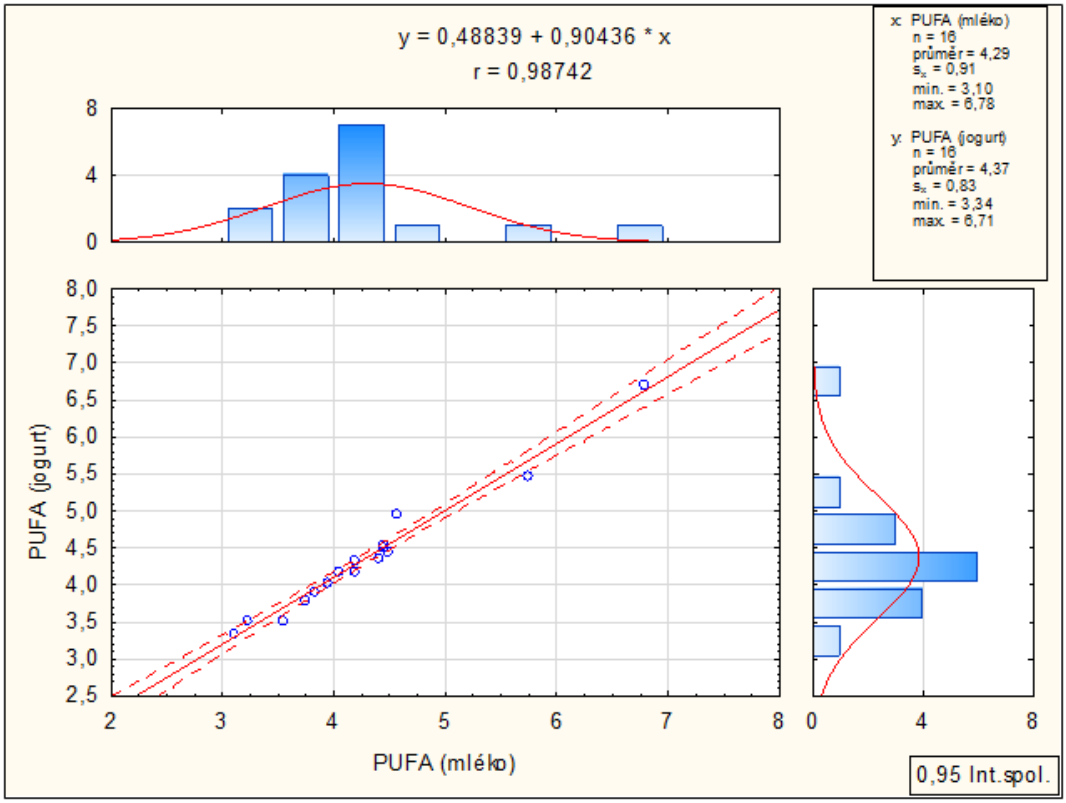
Obr. 7 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro kyselinu linolenovou (C18:3 *n*-3).



Obr. 8 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro isomer konjugované kyseliny linolové (C18:2 *cis*-9, *trans*-11).



Obr. 9 Regresní a korelační závislosti mezi mlékem a jogurtem pro PUFA.



IV) Závěry ze studia perzistence MK v mléčném produktu během technologického zpracování

Změny v CLA po fermentaci mléka jsou místy studovány po delším čase uložení produktu. Zde je studie zaměřena na kratší čas vlastní fermentace při vzniku produktu (jogurtu). Změny v CLA popisované při uložení produktu (snížená teplota, delší perioda, snížený mikrobiální metabolismus zpravidla vlivem teploty a kyselejší reakce prostředí) tak mohou být odlišné oproti změnám při fermentaci (vyšší teplota, kratší perioda, zvýšený mikrobiální metabolismus zpravidla vlivem teploty a ještě nižší kyselosti prostředí). V tomto smyslu byla daná studie pro certifikovanou metodiku potřebná pro otevření možnosti produkce mléčných výrobků s vyšší přidanou hodnotou a se zvýšeným obsahem zdravotně prospěšných MK.

Cíleným výběrem suroviny podle designu harmonogramu a plánu selekce vzorků v souladu s výsledky posouzení praktických vlivných faktorů této práce (ale i prací předchozích a poznatků literatury) lze získat surovinu s výrazně vyšším obsahem CLA. I vzorky zde vybrané pro experiment s cílem pokrýt větší škálu CLA pro hodnocení fermentačních efektů byly úspěšně získány podobným způsobem, podle předem připravené strategie selekce suroviny.

Byla prokázána vysoká persistence MK mléčného tuku při fermentaci mléka na jogurt. Mléčné potraviny s vyšším zastoupením zdravotně prospěšných MK lze připravit z vhodně vybrané nebo modifikované (výživou dojnic) suroviny. Perzistence poskytla determinace pro konjugovanou kyselinu linolovou 100 % (korelace r 0,9988, $P<0,001$), pro MUFA 93 % (r 0,9657, $P<0,001$) a pro PUFA 97 % (r 0,9874, $P<0,001$).

Vzhledem k tomu, že se obsahy jednotlivých MK v průběhu zpracování prokazatelně téměř nemění, lze obsah např. CLA v mléčném produktu ovlivnit buď obsahem v původní surovině (tedy v mléce – výběr dojnic, resp. vhodných stád dojnic po účelném monitoringu MK v mléce, nebo změnou výživy dojnic – jako přídavkem řepkových nebo lněných semen do krmné dávky, volbou pastvy nebo zeleného přikrmování s ohledem na objemnou složku krmné dávky a zvýšením % sušiny v krmné dávce původem z objemných krmiv na úkor krmiv jadrných atd.), nebo přídavkem různých doplňků do mléčných výrobků (slunečnicový olej).

Vzhledem k tomu, že spotřeba mléka je poměrně nízká, o to důležitější je stabilita zdravotně prospěšných MK v průběhu technologického zpracování na mléčné výrobky. Jejich spotřeba je oproti mléku až čtyřnásobná a jsou tedy významnějším zdrojem těchto MK než mléko.

Lze doporučit zopakování práce a při zpracování mléka na jogurt použít přídavek slunečnicového oleje. Takže z jednoho vzorku mléka budou vyrobeny dva různé jogurty, jeden s olejem a druhý bez oleje, původní.

4) Závěr certifikované metodiky

Zvýšení podílu CLA a některých dalších zdravotně prospěšných MK v mléce lze dosáhnout zvýšením podílu objemných krmiv v krmné dávce dojnic, tedy zejména pastvy a zeleného krmení.

V nejjednodušší formě, prakticky, se jeví, že garance vyššího obsahu zdraví prospěšných MK v mléčném tuku a produktech z tohoto mléka vyrobených (konzumní mléko, sýr, jogurt) lze docílit chovem dojnic, který dodrží následující faktory při dobré kvalitě komponent krmné dávky:

- krmení dojnic se zastoupením sušiny jadrné směsi v krmné dávce maximálně do 40 %, zbytek objemná krmiva s vyšším podílem travní, jetelotravní nebo jetelové siláže oproti kukuřičné;
- pastvou nebo zařazením zeleného krmení ke konzervovaným objemným krmivům v letní krmné sezóně;
- zařazením vyšší dávky sena k silážím v zimní krmné sezóně;
- zařazení šrotu z olejnatých semen (len, lnička, slunečnice, řepka) do jadrné složky krmné dávky v množství cca 0,5 kg/kus/den;
- za uvedených podmínek dojivost do 6 700 kg mléka za laktaci;
- vyšší podíl prvotelek ve stádě nebo vůbec produkce od dojnic na první laktaci může být pro daný účel výhodou.

Dalším způsobem zisku syrového mléka s vyšším podílem zdravotně prospěšných MK a CLA je selekce prostřednictvím monitoringu vzorků nepřímou analytickou metodou MIR-FT s výběrem suroviny nad 0,75 % CLA, resp 26,6 % MUFA nebo 4,7 % PUFA.

Pokud nelze provést analytickou selekci stád pro zisk mléka se zvýšeným obsahem UFA a CLA odděleným svozem, lze doporučit metodu odhadu, resp. fyziologické predikce podle podmínek, ve kterých jsou stáda chována. Tato metoda dosahuje značné pravděpodobnosti korektního výběru z hlediska požadovaného cíle. Za rozhodující výběrová kritéria do oddělené svozné linky jsou považována:

- v krmné dávce dojnic stáda lze doložit, že sušina jadrných krmiv tvoří do 40 % z celkové sušiny krmné dávky;
- preference převahy jetelotravní siláže nad siláží kukuřičnou;
- za uvedených podmínek dojivost méně než 6 700 kg mléka za laktaci;
- zařazení pastvy nebo přikrmování zeleným krmivem v letním krmném období;
- zařazení vyšší dávky sena ke krmné dávce v zimním krmném období;
- dojnice českého strakatého plemene v našich podmínkách;
- stáda s vyšší brakací a tak vyšším podílem prvotelek;
- dobré je zařazení olejnatých semen v jadrné krmné dávce (len lnička, slunečnice, řepka).

Příprava jogurtu z takto modifikací získané nebo selektované suroviny klasickým mlékařským technologickým postupem zajistí zvýšený podíl CLA a dalších zdravotně prospěšných MK (MUFA a PUFA) v následném výrobku, který může činit (podle technologie přípravy jogurtu) kolem 1 % CLA z přítomných MK, tedy cca dvojnásobek proti běžnému průměru (o 100 % více). Pro MUFA a PUFA by to mohlo být, při aplikaci předchozích doporučení metodiky (modifikace a selekce suroviny), až 27,5 a 5 % z MK v jogurtu, tj. cca o 5 a 25 % více, proti běžnému průměru za předpokladu minimální degradace nebo transformace (modifikace) během procesu fermentace.

III) Srovnání „novosti postupů" a předání certifikované metodiky: Posouzení perzistence CLA během technologie fermentace pro specifické kysané mléčné výrobky z faremní produkce:

- vyvinutá certifikovaná metodika byla předána na Zemědělské družstvo Jeseník a Svaz výrobců mléka Šumperk v elektronické i písemné formě;

- jedná se o nově sestavený materiál (navazující na předchozí certifikovanou metodiku UM QH81210 CM 23) podpořený vlastními novými výzkumnými výsledky za účelem a pro metodickou podporu rozvoje chovu dojnic s ambicí garance produkce mléka a fermentovaných mléčných výrobků se zvýšeným obsahem zdraví prospěšných MK mléčného tuku pro zlepšení zdravotních účinků mléčných potravin na spotřebitele a stejně tak pro zajištění podpory zaměstnanosti ve venkovském prostoru, produkce kvalitních potravinových surovin a údržby krajiny.

IV) Popis uplatnění certifikované metodiky - Závěr - Kontrola uplatnění certifikované metodiky:

- kontrola existence a aplikace certifikované uplatněné metodiky jako pracovního postupu pro podporu rozvoje chovu dojnic ke zvýrazněné produkci zdraví prospěšných MK mléčného tuku pro ekologické farmy a farmy low input ke zlepšení kvality potravinových surovin a kysaných mléčných výrobků a údržby krajiny je proveditelná prostřednictvím revize použití a distribuce mezi relevantní chovatele u Svazu výrobců mléka Šumperk a Zemědělského družstva Jeseník;
- certifikovaná uplatněná metodika obsahuje technicko-organizační doporučení, opatření a základní postupy chovu dojnic pro zlepšenou produkci zdraví prospěšných MK mléčného tuku ve fermentovaných produktech;
- certifikovaná uplatněná metodika byla zpracována v šesti exemplářích a předána v kroužkové vazbě na příslušná pracoviště. V případě potřeby bude proveden potřebný počet výtisků s přidělením ISBN.

V) Ekonomické aspekty

Ekonomický dopad je součástí rozvoje chovu dojnic především při faremním zpracování mléka pro podporu zaměstnanosti ve venkovských a netradičních oblastech. Zlepšení rámcových znalostí chovatelů může zvýšit provozní jistotu dotyčných chovů skotu o 20 %. Metodika může být použita odhadem ve 40 menších chovech dojnic v ČR zejména s přímou produkcí mléčných potravin. Také bude ekonomickým dopadem lokální podpora spotřeby zdravějších mléčných produktů s lepším profilem mastných kyselin mléčného tuku a tím zdravotní benefity konzumentů. Tento dopad je ekonomicky obtížně hodnotitelný.

Náklady na konkrétní zavedení postupu (metodiky) u cílové skupiny chovatelů se mohou pohybovat na úrovni desetitisíců Kč (náklady na tisk). Procento využití poznatků nelze

odhadnout exaktně. Pokud by použití poznatků vedlo ke zvýšení prodeje zdravějších potravin, vyrobených ze 4,5 mil. l mléka ročně (krát 25 Kč litr - zhodnocení) o 10 %, jednalo by se o částku 11,25 mil. Kč ročně přímého prodejního efektu podporou trhu a zaměstnanosti s opakovaným efektem po rocích. Možnost opakovaného efektu je zřejmá. Zdravotní dopad a jeho přínos je ekonomicky obtížně hodnotitelný.

VI) Seznam použité související literatury

5) Použité jiné literární prameny při tvorbě certifikované metodiky

BIJGAART VAN DEN, H.: New applications of mid-infra-red spectrometry for the analysis of milk and milk products. 2. Free fatty acids. IDF Bulletin, 2006,406, 22-28.

BISIG, W.- EBERHARD, P.- COLLOMB, M.- REHBERGER, B.: Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products - a review. INRA, EDP Sciences, 2007, DOI: 10.1051/lait:2007001.

COPPA, M.- FERLAY, A.- LEROUX, CH.- JESTIN, M.- CHILLIARD, Y.- MARTIN, B.- ANDUEZA, D.: Prediction of milk fatty acid composition by near infrared reflectance spectroscopy. International Dairy Journal, 20, 3, 2010, 182-189.

DEWHURST, R. J.- SHINGFIELD, K. J.- LEE, M. R. F.- SCOLLAN, N. D.: Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. Animal Feed Science and Technology, 131, 2006, 168-206.

DHIMAN, T. R.- NA, S. H.- UR, A. L.: Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45, 2005, 463-482.

DOSTÁLOVÁ, J.- HRUBÝ, S.- TUREK, B.: Společnost pro výživu. Konečné znění Výživových doporučení pro obyvatelstvo ČR. [online]. 2009. Dostupné na www: http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html, staženo 14.12.2009.

DRIFT VAN DER, S. G. K.- JORRITSMA, R.- SCHONEWILLE, J. T.- KNIJN, H. M.- STEGEMAN, J. A.: Routine detection of hyperketonemia in dairy cows using Fourier transform infrared spectroscopy analysis of β-hydroxybutyrate and acetone in milk in combination with test-day information. Journal of Dairy Science, 95, 9, 2012, 4886-4898.

DROUIN-CHARTIER, J. P.- BRASSARD, D.- TESSIER-GRENIER, M.- CÔTÉ, J. A.- LABONTÉ, M. E.- DESROCHES, S.- COUTURE, P.- LAMARCHE, B.: Systematic review of the association between dairy product consumption and risk of cardiovascular-related clinical outcomes, An International Review, Journal Adv. Nutr., 7, 2016, 1026-1040.

ELGERSMA, A.- TAMMINGA, S.- ELLEN, G.: Modifying milk composition through forage: review. Animal Feed Science and Technology, 131, 2006, 207-225.

ELLIS, K. A.- INNOCENT, G.- GROWE-WHITE, D.- CRIPPS, P.- MCLEAN, W. G.- HOWARD, C. W.- MIHM, M.: Comparing the Fatty Acid Composition of Organic and Conventional Milk. J. Dairy Sci. 89, 2006, 938-1950.

ESPÍRITO SANTO, A. P.- CARTOLANO, N. S.- SILVA, T. F.- SOARES, F. A. S. M.- GIOIELLI, L. A.- PEREGO, P.- CONVERTI, A.- OLIVEIRA, M. N.: Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. International Journal of Food Microbiology, 154, 2012, 135-144.

FUKE, G.- NORNBERG, J. L.: Systematic evaluation on the effectiveness of conjugated linoleic acid in human health. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 57, 1, 2017, 1-7.

GERMAN, J. B.- GIBSON, R. A.- KRAUSS, R. M.- NESTEL, P.- LAMARCHE, B.- VAN STAVEREN,

W. A.- STEIJNS, J. M.- DE GROOT, L.- LOCK, A. L.- DESTAILLATS, F.: A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. Eur. J. Nutr., 48, 2009, 191-203.

GIBSON, J. P.: The potential for genetic change in milk fat composition. J. Dairy Sci., 74, 1991, 3258-3266.

HAUMANN, B. F.: Conjugated linoleic acid. International news on fats, oils and related materials, 7, 1996, 152-159.

HECK, J. M.- VAN VALENBERG, H. J.- DIJKSTRA, J.- VAN HOOIJDONK, A. C.: Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. J. Dairy Sci., 92, 2009, 4745–4755.

HILLBRICK, G.- AUGUSTIN, M. A.: Milkfat characteristics and functionality: Opportunities for improvement. Aust. J. Dairy Technol., 2002, 57, 45-51.

HRONEK, M.- BAREŠOVÁ, H.: Strava těhotných a kojících žen. 2012. ISBN 978-80-87250-20-40.

CHIN, S. F.- LIU, W.- STORKSON, J. M.- PARIZA, M. W.: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid a newly recognised class of anticarcinogens. Journal of Food Composition and Analysis, 1992, 5, 185-197.

JANŠTOVÁ, B.- VORLOVÁ, L.- NAVRÁTILOVÁ, P.- KRÁLOVÁ, M.- NECIDOVÁ, L.- MAŘICOVÁ, E.: Technologie mléka a mléčných výrobků. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 2012, ISBN 978-80-7305-637-7, 142.

JENSEN, R. G.: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. Journal of Dairy Science, 85, 2002, 295-350.

KAJABA, I.: Význam mlieka vo výžive obyvateľstva v modernej spoločnosti. Mliekárstvo, 30, 1999, 20-23.

KAYLEGIAN, K. E.- LINDSAY, R. C.: Handbook of milk fat fractionation technology and applications. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1995, 657. ISBN 0-935315-57-8.

KIM, Y. J.- LIU, R. H.: Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria, J. Food Sci., 67, 5, 2002, 1731-1737. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08714.x

KORHONEN, F.: Funkčné mliečne výrobky – príležitosť na zlepšenie zdravia. Mliekárstvo, 34, 2003, 38-44.

LEIBER, F.- KREUZER, M.- NIGG, D.- WETTSTEIN, H. R.- RICHARD, M.- SCHEEDER, L.: A study on the causes for the elevated n-3 fatty acids in cows' milk of alpine origin. Lipids, 40, 2005, 191-202.

LOCK, A. L.- SHINGFIELD, K. J.: Optimising milk composition. In: KEBREAB E., MILLS J., BEEVER D. E. (Eds.): Dairying - Using Science to Meet Consumers' Needs. British Society of Animal Science, Nottingham University Press, Loughborough, UK, 29, 2004, 107-188.

MÅNSSON, H. L.: Fatty acids in bovine milk fat. Food Nutr. Res., 2008, 52.

MAROUNEK, M.: Konjugovaná kyselina linolová v živočišných produktech: souvislost s výživou zvířat a zdravím lidí. [online]. 2007. Dostupné na: http://www.vuzv.cz/sites/Marounek%20CLA(2).pdf, staženo 17.5.2017.

MENSINK, R. P.: Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humus. Lipids, 40, 12, 2005, 1201-1205.

MOREL, I.- WYSS, U.- COLLOMB, M.: Grünfutter-oder Silage zu semmen set zung und Milchinhaltstoffe. Agrarforschung Schweiz, 13, 2006, 228-233.

MUNDAY, J. S.- THOMPSON, K. G.- JAMES, K. A. C.: Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. British Journal of Nutrition, 81, 1999, 251-255.

NICOLOSI, R. J.- ROGERS, E. J.- KRITCHEVSKY, D.- SCIMECA, J. A.- HUTH, P. J.: Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. Artery, 22, 1997, 266-277.

O´DONNELL, A. M.- SPATNY, K. P.- VICINI, J. L.- BAUMAN, D. E.: Survey of the fatty acid composition of retail milk differing in label claims based on production management practices. Journal of Dairy Science, 93, 2010, 1918-1925.
PALMQUIST, D. L.- BEAULIEU, A. D.- BARBANO, D. M.: Feed and animal factors influencing milk fat composition. Journal of Dairy Science, 76, 1993, 1753-1771.
PASZCZYK, B.- BRANDT, W.- LUCZYNSKA, J.: Content of conjugated linoleic acid (CLA) and transIsomers of C18:1 and C18:2 acids in fresh and stored fermented milks produced with selected starter cultures. Czech J. Food Sci., 34, 2016, 391-396.
PARODI, P. W.: Cow´s milk fat components as potential anticarcinogenic agents. Journal of Nutrition, 127, 1997, 1055-1060.
PEREDA, J.- FERRAGUT, V.- QUEVEDO, J. M.- GUAMIS, B.- TRUJILLO, A. J.: Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. J. Dairy Sci., 90, 3, 2007, 1081-1093.
PESTANA, J. M.- GENNARI, A.- MONTEIRO, B. W.- LEHN, D. N.- DE SOUZA C. F. V.: Effects of pasteurization and ultra-high temperature processes on proximate composition and fatty acid profile in bovine milk. American Journal of Food Technology, 10, 2015, 265-272.
SOYEURT, H.- DARDENNE, P.- DEHARENG, F.- LOGNAY, G.- VESELKO, D.- MARLIER, M.- BERTOZZI, C.- MAYERES, P.- GENGLER, N.: Estimating fatty acid content in cow milk using mid-infrared spectrometry. Journal of Dairy Science, 89, 9, 2006, 3690-3695.
STOOP, W. M.- VAN ARENDONK, J. A. M.- HECK, J. M. L.- VAN VALENBERG, H. J. F.- BOVENHUIS, H.: Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of Dutch Holstein-Friesians. J. Dairy Sci., 2008, 91, 385-394.
VELÍŠEK, J.- HAJŠLOVÁ, J.: Chemie potravin 1. 1 ed. Tábor: OSSIS, 2009, 580. ISNN 978-80-86659-15-2.
WIKING, L.- THEIL, P. K.- NIELSEN, J. H.- SØRENSEN, T.: Effect of grazing fresh legumes or feeding silage on fatty acids and enzymes involved in the synthesis of milk fat in dairy cows. Journal of Dairy Research, 77, 2010, 337-342.

VII) Seznam publikací, které předcházely metodice

6) Použité vlastní výsledky a publikace při návrhu a validaci certifikované metodiky

Publikace:

FRELICH, J.- ŠLACHTA, M.- HANUŠ, O.- ŠPIČKA, J.- SAMKOVÁ, E.: Fatty acid composition of cow milk fat produced on low-input mountain farms. Czech Journal of Animal Science, 54, 12, ISSN 1212-1819, 2009, 532-539.
FRELICH, J.- ŠLACHTA, M.- HANUŠ, O.- ŠPIČKA, J.- SAMKOVÁ, E.- WEGLARZ, A.- ZAPLETAL, P.: Seasonal variation in fatty acid composition of cow milk in relation to the feeding system. Animal Science Papers and Reports, 30, 3, ISSN 0860-4037, 2012, 219-229.
HANUŠ, O.- KŘÍŽOVÁ, L.- SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- KUČERA, J.- KLIMEŠOVÁ, M.- ROUBAL, P.- JEDELSKÁ, R.: The effect of cattle breed, season and type of diet on the fatty acids profile of raw milk. Vliv plemene skotu, sezóny a typu výživy na profil mastných kyselin syrového mléka. Archiv Tierzucht / Archives Animal Breeding, 59, 3, 2015, ISSN 003-9438, 373-380.
HANUŠ, O.- SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- HASOŇOVÁ, L.- KALA, R.- KLÍMOVÁ, Z.- KOPUNECZ, P.- KOPECKÝ, J.: Porovnání metod používaných při stanovení zastoupení zdravotně významných mastných kyselin mléčného tuku v bazénových vzorcích mléka dojnic.

Comparison of methods used for the determination of the healthy important fatty acids of milk fat in bulk milk samples of dairy cows. Mlékařské listy - zpravodaj, 151, ISSN 1212-950X, 2015, XII-XV.

HANUŠ, O.- SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- SOJKOVÁ, K.- HANUŠOVÁ, K.- KOPEC, T.- VYLETĚLOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.: Vztah koncentrace zdravotně významných skupin mastných kyselin ke složkám a technologickým vlastnostem kravského mléka. Relationship between concentration of health important groups of fatty acids and components and technological properties in cow milk. (In Czech) Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., ISSN 1211-8516, LVIII, 5, 2010, 137-154.

JANŮ, L.- HANUŠ, O.- MACEK, A.- ZAJÍČKOVÁ, I.- GENČUROVÁ, V.- KOPECKÝ, J.: Fatty acids and mineral elements in bulk milk of Holstein and Czech Spotted cattle according to feeding season. Folia Veterinaria, 51, ISSN 0015-5748, 1, 2007, 19-25.

KALAČ, P.- SAMKOVÁ, E.: The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. Czech J. Anim. Sci., 55, 2010, 521-537.

KOUBOVÁ, J.- SAMKOVÁ, E.- HASOŇOVÁ, L.- KALA, R.- ŠPIČKA, J.- KVÁČ, M.- HANUŠ, O.: Vliv zkrmování čerstvé vojtěšky na zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku dojnic. The effects of feeding fresh lucerne on fatty acid composition in bovine milk fat. Mlékařské listy - zpravodaj, 147, ISSN 1212-950X, 2014, XLI-XLIV.

KŘÍŽOVÁ, L.- HANUŠ, O.- ŠPIČKA, J.- SAMKOVÁ, E.- FRELICH, J.- RICHTER, M.- VESELÝ, A.- ROUBAL, P.: Alternative supplemental mixture for organic dairy herds to maintain desirable milk fatty acid profile throughout the indoor feeding period. Alternativní doplňková směs pro ekologická stáda dojnic k udržení žádoucího profilu mastných kyselin mléka přes stájové krmné období. Animal Science Papers and Reports, 34, 1, 2016, ISSN 0860-4037, 25-40.

KŘÍŽOVÁ, L.- RYŠAVÝ, J.- RICHTER, M.- VESELÝ, A.- HANUŠ, O.- JANŠTOVÁ, B.- VORLOVÁ, L.- SAMKOVÁ, E.: Milk yield, milk composition, fatty acid profile and indices of milk fat quality as affected by feeding with extruded full-fat soybean. Mléčná užitkovost, složení mléka, profil mastných kyselin a ukazatele kvality mléčného tuku ovlivněné krmením s extrudovanými plnotučnými sojovými boby. Mljekarstvo / Journal for Dairy Production and Processing Improvement, 67, 1, ISSN 0026-704X, 2017, 49-57.

SAMKOVÁ, E.: Faktory ovlivňující zastoupení mastných kyselin mléčného tuku skotu. Habilitační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2011, 60.

SAMKOVÁ, E. et al. (CEMPÍRKOVÁ, R., HANUŠ, O., HASOŇOVÁ, L., HLAVÁČEK, J., JELEN, P., JEŘÁBKOVÁ, J., KOPÁČEK, J., LUŽOVÁ, T., NAVRÁTILOVÁ, P., SEYDLOVÁ, R., ŠUSTOVÁ, K., ŠPIČKA, J., VORLOVÁ, L., VYLETĚLOVÁ, M.): Mléko: produkce a kvalita. Milk: production and quality. Vědecká monografie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Tři kapitoly: SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- HANUŠ, O.: 5. Jakostní ukazatele mléka. 5.1. Mléčný tuk. 5. Milk quality indicators. 5.1. Milk fat. 61-76; HANUŠ, O.- VYLETĚLOVÁ, M.: 5. Jakostní ukazatele mléka. 5.11. Technologické vlastnosti mléka. 5. Milk quality indicators. 5.11. Milk technological properties. 168-177; HANUŠ, O.- VYLETĚLOVÁ, M.- JEŘÁBKOVÁ, J.: 6. Kontrola jakosti mléka. 6. Milk quality control. 178-203; ISBN: 978-80-7394-383-7, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2012, 240.

SAMKOVÁ, E.- ČERTÍKOVÁ, J.- HASOŇOVÁ, L.- SMETANA, P.- ŠPIČKA, J.- HANUŠ, O.: Vliv individuality v rámci plemene na složení mléčného tuku skotu. Effect of individuality within a breed on bovine milk fat composition. Mlékařské listy - zpravodaj, 141, ISSN 1212-950X, 2013, XXXV-XXXVIII.

SAMKOVÁ, E.- ČERTÍKOVÁ, J.- ŠPIČKA, J.- HANUŠ, O.- PELIKÁNOVÁ, T.- KVÁČ, M.: Eighteen-carbon fatty acids in milk fat of Czech Fleckvieh and Holstein cows following feeding with fresh lucerne (Medicago sativa L.). Osmnáctiuhlíkaté mastné kyseliny mléčného tuku krav

českého strakatého a holštýnského plemene v důsledku krmení čerstvou vojtěškou (Medicago sativa L.). Animal Science Papers and Reports, 32, 3, ISSN 0860-4037, 2014, 209-218.

SAMKOVÁ, E.- HANUŠ, O.- PEŠEK, M.- ŠPIČKA, J.- ŠLACHTA, M.- FRELICH, J.- JEDELSKÁ, R.- PELIKÁNOVÁ, T.: Změny v zastoupení CLA a významných skupin mastných kyselin v mléčném tuku pasených dojnic. The proportions of CLA and important groups of fatty acids in milk fat of grazing cows. (In Czech) Výzkum v chovu skotu / Cattle Research, LIII, 195, 3, ISSN 0139-7265, 2011, 56-63.

SAMKOVÁ, E.- PEŠEK, M.- HANUŠ, O.- ŠLACHTA, M.- ŠPIČKA, J.- FRELICH, J.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.: Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku pasených dojnic. The proportions of fatty acids in milk fat of grazed dairy cows. (In Czech) Náš chov, LXXI, 11, ISSN 0027-8068, 2011, 68-70.

SAMKOVÁ, E.- PEŠEK, M.- ŠPIČKA, J.- PELIKÁNOVÁ, T.- HANUŠ, O.: The effect of feeding diets markedly differing in the proportion of grass and maize silages on bovine milk fat composition. Czech Journal of Animal Science, 54, 3, ISSN 1212-1819, 2009, 93-100.

SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- HANUŠ, O.: Vliv plemene a individuality na složení mléčného tuku skotu. Effect of breed and individuality on milk fat composition. In Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků IX. Den s mlékem na MENDELU. Brno: MENDELU 2012, 102-105. ISBN 978-80-7375-613-0.

SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- PEŠEK, M.- PELIKÁNOVÁ, T.- HANUŠ, O.: Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. South African Journal of Animal Science, 42, 2, 2012, 83-100.

SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- ŠLACHTA, M.- PEŠEK, M.- FRELICH, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.: Variabilita v zastoupení významných mastných kyselin a jejich skupin v individuálních a bazénových vzorcích syrového kravského mléka. Variability of important fatty acids and their groups in individual and bulk milk samples. (In Czech) Mlékařské listy - zpravodaj, 119, ISSN 1212-950X, 2010, 18-21.

ŠÍPALOVÁ, M.- HANUŠ, O.- VÍCHA, R.- PHAN, T. D.- POZDÍŠEK, J.- KRÁČMAR, S.- ROUBAL, P.: Influence of selected cereals in diets of dairy cows on the fatty acid composition of milk. Vliv vybraných zrnin v dietě dojnic na složení mastných kyselin mléka. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22, 2, 2016, ISSN 1310-0351, 286-292.

Předchozí tématicky relevantní certifikovaná metodika k problematice možnosti modifikace profilu mastných kyselin mléčného tuku pro mléčné potraviny:

HANUŠ, O.- SAMKOVÁ, E.- ŠPIČKA, J.- ROUBAL, P.- FRELICH, J.- ŠLACHTA, M.- KŘÍŽOVÁ, L.- PELIKÁNOVÁ, T.- VYLETĚLOVÁ, M.- SEYDLOVÁ, R.: Certifikovaná metodika QH 81210 CM 23: Doporučené postupy pro rozvoj chovu dojnic s cílem produkovat mléko jako potravinovou surovinu s vyšším zastoupením zdravotně prospěšných mastných kyselin mléčného tuku. Datum certifikace 28. 12. 2012. ISBN: 978-80-904348-1-3.

Ne všechny práce ze seznamu literatury (5, 6), jejichž studium a poznatky byly využity při vývoji metodiky, jsou citovány explicitně v textu vlastní metodiky pro praxi. Jsou však pro úplnost uvedeny v seznamu výše.

Většina vlastních prací, použitá při tvorbě této certifikované metodiky, byla předtím již samostatně odborně oponována, jak plyne ze seznamu výše.

Afilace QJ1510336 RO1417 CM36

Projekty a podpory rozvoje instituce (podíly): MZe NAZV KUS QJ1510336 (71 %), MZe RO1417 (29 %).

Oponenti CM: Ing. Václava Genčurová, Ph.D. (v oboru laktologie), Vápenka Vitošov, analytik specialista; MVDr. Jiří Hlaváček, Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, odbor veterinární hygieny.

Autorský kolektiv (podíly): Oto Hanuš (15 %), Eva Samková (15 %), Jaroslav Kopecký (14 %), Marcela Klimešová (8 %), Jiří Špička (8 %), Lucie Hasoňová (8 %), Radoslava Jedelská (8 %), Gabriela Mašková (8 %), Ludmila Nejeschlebová (8 %), Robert Kala (8 %).

Přílohy, dokumenty a doklady:

technická řešení a postupy této certifikované metodiky byly zejména podpořeny výsledky vlastního výzkumu, vývoje a empirických poznatků, které byly publikovány.

Datum: 8. 9. 2017

Za zhotovitele:

prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.

.....

Certifikovaná metodika pro praxi byla podporována řešením projektů MZe NAZV KUS QJ1510336 a MZe RO1417.

7) Přílohové materiály s podklady pro vývoj certifikované metodiky

Příloha této certifikované uplatněné metodiky (Posouzení perzistence konjugované kyseliny linolové během technologie fermentace pro specifické kysané mléčné výrobky z faremní produkce) tvoří vlastní výsledky vývoje a metodického testování, tzn. tabulkové zpracování informací a statistických dat.

Příloha:
- CM36TabulkováPříloha

CM 36 Tabulková příloha

Tab. 12 Základní statistické charakteristiky sledovaných ukazatelů bazénových vzorků mléka mléka v závislosti na vybraných faktorech.

Proměnná	Způsob chovu		Oblast		Plemeno	
	pastevní (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	stájové (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	podhorská (n = 9), $\overline{x} \pm s_x$	nížinná (n = 7), $\overline{x} \pm s_x$	holštýnské (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	české strakaté (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$
Bílkoviny (%)	3,29 ± 0,14	3,26 ± 0,14	3,26 ± 0,15	3,29 ± 0,14	3,23 ± 0,13	3,31 ± 0,14
Kasein (%)	2,59 ± 0,14	2,58 ± 0,14	2,57 ± 0,14	2,61 ± 0,14	2,55 ± 0,13	2,62 ± 0,14
Tuk (%)	3,72 ± 0,37	3,69 ± 0,28	3,72 ± 0,35	3,69 ± 0,3	3,61 ± 0,36	3,80 ± 0,26
Laktóza (%)	4,85 ± 0,09	4,88 ± 0,08	4,83 ± 0,09	4,90 ± 0,06	4,86 ± 0,07	4,86 ± 0,1
TPS (%)	8,58 ± 0,24	8,71 ± 0,19	8,56 ± 0,23	8,76 ± 0,15	8,67 ± 0,15	8,63 ± 0,28
Močovina (mg.100ml^{-1})	36,69 ± 9,03	39,47 ± 7,22	37,78 ± 9,06	38,47 ± 7,17	**42,88^{a} ± 7,23**	**33,28^{b} ± 5,76**
Aceton (mg.l^{-1})	5,19 ± 2,7	4,68 ± 1,7	5,26 ± 2,54	4,51 ± 1,85	5,09 ± 2,13	4,77 ± 2,44
Kys.citrónová (mmol.l^{-1})	**6,13^{a} ± 0,07**	**6,06^{b} ± 0,7**	6,12 ± 0,08	6,06 ± 0,07	6,08 ± 0,07	6,11 ± 0,08
VMK (mmol.100g^{-1} tuku)	1,03 ± 0,46	0,98 ± 0,26	1,04 ± 0,43	0,96 ± 0,27	0,96 ± 0,24	1,05 ± 0,47
PSB (tis.ml^{-1})	329 ± 140	349 ± 119	316 ± 136	368 ± 115	339 ± 112	339 ± 146
pH	6,7 ± 0,05	6,7 ± 0,03	6,7 ± 0,04	6,7 ± 0,03	6,7 ± 0,06	6,7 ± 0,01
Vodivost (mS.cm^{-1})	3,79 ± 0,14	3,88 ± 0,09	3,79 ± 0,13	3,89 ± 0,09	3,89 ± 0,08	3,78 ± 0,13
Bod mrznutí mléka (°C)	-0,523±0,006	-0,524±0,008	-0,522±0,008	-0,526±0,004	-0,524±0,008	-0,523±0,006
Alkoholová stabilita (ml)	**0,7^{a} ± 0,07**	**0,6^{b} ± 0,06**	**0,7^{a} ± 0,11**	**0,6^{b} ± 0,04**	0,6 ± 0,09	0,7 ± 0,09
SH	7,7 ± 0,45	7,7 ± 0,46	7,7 ± 0,43	7,7 ± 0,48	7,5 ± 0,45	7,9 ± 0,38

VMK = volné mastné kyseliny; PSB = počet somatických buněk; SH = stupně podle Soxhlet-Henkela; $^{a, b}$ průměry s odlišnými indexy v řádcích se statisticky významně liší na hladině $p < 0,05$

Tab. 14 Základní statistické charakteristiky obsahů vybraných mastných kyselin v mléce podle různých proměnných.

Proměnná	Způsob chovu		Oblast		Plemeno		Celkem (n = 16) $\overline{x} \pm s_x$
	pastevní (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	stájové (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	podhorská (n = 9), $\overline{x} \pm s_x$	nížinná (n = 7), $\overline{x} \pm s_x$	holštýnské (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	české strakaté (n = 8), $\overline{x} \pm s_x$	
Nasycené mastné kyseliny							
C4:0	1,75 ± 0,15	1,65 ± 0,27	1,74 ± 0,14	1,64 ± 0,29	1,76 ± 0,26	1,64 ± 0,16	1,70 ± 0,22
C6:0	1,50 ± 0,12	1,51 ± 0,12	1,51 ± 0,11	1,50 ± 0,12	1,52 ± 0,11	1,49 ± 0,12	1,51 ± 0,11
C8:0	1,11 ± 0,17	1,17 ± 0,06	1,13 ± 0,16	1,15 ± 0,06	1,15 ± 0,12	1,13 ± 0,14	1,14 ± 0,13
C10:0	2,55 ± 0,5	2,83 ± 0,22	2,61 ± 0,5	2,80 ± 0,21	2,70 ± 0,37	2,68 ± 0,45	2,69 ± 0,4
C12:0	3,00 ± 0,66	3,43 ± 0,35	3,08 ± 0,67	3,39 ± 0,35	3,21 ± 0,53	3,21 ± 0,62	3,21 ± 0,56
C14:0	10,24 ± 1,43	11,14 ± 0,7	10,39 ± 1,41	11,08 ± 0,73	10,71 ± 1,11	10,68 ± 1,33	10,69 ± 1,19
C16:0	**28,07^{b} ± 2,23**	**32,27^{a} ± 1,54**	**28,56^{b} ± 2,56**	**32,24^{a} ± 1,66**	31,56a ± 2,71	28,78b ± 2,38	30,17 ± 2,85
C18:0	**11,87^{a} ± 1,54**	**10,29^{b} ± 0,89**	11,67 ± 1,56	10,31 ± 0,95	11,07 ± 1,69	11,08 ± 1,31	11,08 ± 1,47
Nenasycené mastné kyseliny							
C18:1 *cis*-9	**21,56^{a} ± 2,08**	**19,71^{b} ± 0,95**	21,33 ± 2,06	19,74 ± 1,02	20,36 ± 1,97	20,91 ± 1,77	20,64 ± 1,83
C18:2 *n*-6	2,24 ± 0,39	2,34 ± 0,27	2,24 ± 0,37	2,36 ± 0,29	2,34 ± 0,28	2,24 ± 0,39	2,29 ± 0,33
C18:3 *n*-3	**0,83^{a} ± 0,19**	**0,41^{b} ± 0,08**	**0,79^{a} ± 0,2**	**0,39^{b} ± 0,07**	0,46b ± 0,13	0,78a ± 0,26	0,62 ± 0,26
C18:2 *cis*-9, *trans*-11	**1,02^{a} ± 0,44**	**0,41^{b} ± 0,1**	**0,95^{a} ± 0,46**	**0,41^{b} ± 0,1**	0,56 ± 0,44	0,87 ± 0,4	0,71 ± 0,44

[a, b] průměry s odlišnými indexy v řádcích se statisticky významně liší na hladině $p < 0,05$

Tab. 15 Základní statistické charakteristiky obsahů vybraných skupin mastných kyselin v mléce podle různých proměnných.

Proměnná	Způsob chovu		Oblast		Plemeno		Celkem (n = 16) $\bar{x} \pm s_x$
	pastevní (n = 8), $\bar{x} \pm s_x$	stájové (n = 8), $\bar{x} \pm s_x$	podhorská (n = 9), $\bar{x} \pm s_x$	nížinná (n = 7), $\bar{x} \pm s_x$	holštýnské (n = 8), $\bar{x} \pm s_x$	české strakaté (n = 8), $\bar{x} \pm s_x$	
Skupina mastných kyselin							
VFA	6,92 ± 0,73	7,15 ± 0,44	6,99 ± 0,72	7,10 ± 0,44	7,12 ± 0,53	6,95 ± 0,68	7,04 ± 0,6
HFA	**41,31^{b} ± 4,18**	**46,85^{a} ± 1,85**	**42,04^{b} ± 4,48**	**46,70^{a} ± 1,94**	45,48 ± 4,12	42,67 ± 4,11	44,08 ± 1,94
TFA	**3,16^{a} ± 1,0**	**1,88^{b} ± 0,4**	**2,97^{a} ± 1,09**	**1,93^{b} ± 0,4**	**1,95^{b} ± 0,53**	**3,08^{a} ± 1,05**	2,52 ± 0,99
SFA	**63,37^{b} ± 3,23**	**66,87^{a} ± 1,42**	63,88 ± 3,38	66,71 ± 1,46	66,31 ± 2,45	63,93 ± 3,19	65,12 ± 3,01
MUFA_cis	26,62 ± 2,39	25,35 ± 0,98	26,43 ± 2,31	25,41 ± 1,04	25,74 ± 1,61	26,22 ± 2,21	25,98 ± 1,89
PUFA	**4,83^{a} ± 0,94**	**3,75^{b} ± 0,46**	**4,71^{a} ± 0,95**	**3,75^{b} ± 0,49**	3,96 ± 0,84	4,62 ± 0,9	4,29 ± 0,91
SCFA	10,46 ± 1,51	11,24 ± 0,67	10,63 ± 1,5	11,13 ± 0,64	10,95 ± 1,04	10,75 ± 1,4	10,85 ± 1,2
MCFA	45,25 ± 3,39	50,25 ± 2,12	**45,87^{b} ± 3,68**	**50,17^{a} ± 2,28**	48,93 ± 4,1	46,57 ±3,21	47,75 ± 3,76
LCFA	44,29 ± 4,8	38,50 ± 2,23	**43,50^{a} ± 5,08**	**38,70^{b} ± 2,34**	40,12 ± 4,86	42,67 ± 4,44	41,40 ± 4,69

[a, b] průměry s odlišnými indexy v řádcích se statisticky významně liší na hladině $p < 0,05$

VFA = těkavé mastné kyseliny; HFA = hypercholesterolemické mastné kyseliny; TFA = trans mastné kyseliny; SFA = nasycené mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny v konfiguraci *cis*; PUFA = polynenasycené mastné kyseliny; SCFA = mastné kyseliny s krátkým řetězcem; MCFA = mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem; LCFA = mastné kyseliny s dlouhým řetězcem