

1. Identifikační údaje

1.0. Evidenční číslo projektu:	QJ1510339	
1.1. Podací označení projektu:	TechKval	
1.2. Název projektu:	Komplexní systém zvýšení kvality mléka, mléčných produktů a monitoring zdravotního stavu krav s cílem zvýšit přidanou hodnotu zemědělské produkce v ČR	
1.3. Veřejná soutěž:	Jednostupňová soutěž ve výzkumu a vývoji v rámci programu Komplexní udržitelné systémy zemědělství 2012-2018 "KUS" s počátkem řešení projektu v roce 2015	
1.4. Program:	1 Komplexní udržitelné systémy v zemědělství 2012-2018 "KUS"	
1.5. Podprogram:	Udržitelné zemědělské systémy	
1.5.1. Zvláštní pravidla pro zemědělství a rybolov:	Ano	
	1. Pravidlo Mléko a mléčné výrobky, ptačí vejce, přírodní med	2. Pravidlo
1.6. Cíl podprogramu:	Zvýšit a stabilizovat biologický a produkční potenciál zemědělských plodin a hospodářských zvířat s cílem zajištění potravinové bezpečnosti České republiky a kvalitních a bezpečných potravin domácího původu pro zdravou výživu obyvatel.	
1.7. Obory řešení podle CEP:		
Hlavní obor Výživa hospodářských zvířat	Vedlejší obor Šlechtění a plemenářství hospodářských zvířat	Další vedlejší obor Potravinářství
1.8. Obory řešení dle Infobanky:	K1.1.2 Technologie (oblast podoboru) K1.3 Živočišná výroba (podobor) K1.3.1 Komodity živočišné výroby (oblast podoboru)	
1.9. Národní priority orientovaného výzkumu, experimentálního vývoje a inovací		
1.9.1. Prioritní oblast:	Konkurenceschopná ekonomika založená na znalostech	
1.9.2. Oblast:	Posílení bezpečnosti a spolehlivosti	
1.9.3. Podoblast:	Bezpečnost a spolehlivost produktů a služeb	
1.9.4. Cíle VaVal:	Zavést komplexní přístup k bezpečnosti a spolehlivosti výrobků	
1.10. Převažující typ činnosti	Aplikovaný výzkum	

2. Představení projektu

2.1. Představení projektu a jeho vlastního řešení

Úvod

Po vstupu do Evropské unie se české zemědělství ocitlo v tvrdém konkurenčním prostředí. Nejdramatičtější vývoj byl u živočišné výroby, kde u některých komodit, např. vepřového masa, došlo během několika let k poklesu soběstačnosti i 50%. Podobně stoupá dovoz mléčných výrobků.

Zastavit tento nepříznivý trend, resp. jej obrátit, není možné bez nových vědecko-technických poznatků. Pouze aplikace nových postupů v managementu, šlechtění, výživě, ekonomice atd. umožní zvýšit konkurenceschopnost českých potravinářských a potravinářských podniků. Vzhledem k intenzivnímu výzkumu v rozvinutých zemích EU a rychlému přenosu nových poznatků do praxe by další otálení mohlo mít ještě tvrdší dopady, než tomu bylo v posledních letech.

Cílem výzkumu v oblasti produkce živočišných potravin v příštích letech proto musí být konkurenceschopnost, bezpečnost potravin, zdravé zvíře ve zdravém prostředí. Předkládaný projekt se zabývá kvalitou mléka, zejména novými postupy kontroly jeho kvality. Významnou součástí projektu je analýza mléka odebíraného při kontrole užitkovosti k posouzení metabolického a zdravotního stavu dojnic. Cílem projektu je zlepšit složení produkovaného mléka, inovovat metody kontroly jeho kvality, zlepšit zdravotní stav dojnic. Očekávaným přínosem je zvýšení kvality produkovaného mléka, což umožní zvýšit kvalitu vyráběných potravin. Navazujícím přínosem je vyšší konkurenceschopnost zemědělských a potravinářských podniků.

A) Nezbytnost zvýšení přidané hodnoty v produktech technologickým řešením pro stabilizaci konkurenceschopnosti v mlékařství

Zemědělství a potravinářství v České republice je dlouhodobě v obtížné ekonomické situaci, která byla v posledním období komplikována hospodářskou recesí i řady vyspělých zemí v euroatlantickém prostoru. Nejinak je tomu v českém mlékařství. Např. v souvislosti s prvovýrobou mléka se od roku 1990 v ČR snížily stavy přežvýkavců o 60 %, výměra trvalých luk a pastvin se zvýšila o cca 20 % a počet všech chovaných přežvýkavců na hektar trvalých travních porostů snížil na 35 %.

V souvislosti s hospodářským hodnocením a dynamikou ekonomiky členských zemí uvedla organizace OECD některá doporučení českému hospodářství. Především jde o potřebu zvýšení poměru inovací pro změnu ekonomického modelu. Ángel Gurría (jako generální tajemník) řekl, že průmysl musí více podporovat inovace a vláda pak zajistit, aby absolventi odcházeli ze škol lépe připravení na praxi. Doporučil soustředit se na přidanou hodnotu, neboť ČR už nemá tak zřejmou výhodu levné práce.

Je proto nutné hledat racionální cesty z této komplikované situace. Řešením se ukazuje rozvoj technologií a zvýšení sofistikovanosti v procesu kontroly a řízení hospodářství (mlékařství). Projekt si v daném ohledu klade za cíl rozvíjet a uvádět do nových sofistikovaných souvislostí interpretační a analytické metody používané v mlékařství ke kontrole zdraví zvířat, jejich genetického potenciálu a kvality mléka, zejména technologické a vytvořit nové efektivní postupy s potenciálem komercializace jak těchto vlastních vyvinutých metod, tak formou služeb také jejich výsledků a umožnit p těchto metod a technologií ke zvýšení mlékařské produkce s vyšší přidanou hodnotou.

B) Kvalita mléka ovlivňuje kvalitu mléčných výrobků, přičemž obojí je primárně ovlivňováno zdravím hospodářských zvířat

1) Produkční poruchy dojnic a dojivost a kvalita mléka

Zvýšit přidanou hodnotu v mlékařství znamená zvyšovat podíl výroby náročnějších mlékárenských výrobků (sýry, fermentované mléčné výrobky, zdravotně specifické produkty jako funkční potraviny) a tyto uvádět na trh. Aby mohly spolehlivě a efektivně vyráběny, je nutné věnovat zvýšenou pozornost zdraví dojnic, neboť tento faktor ovlivňuje výrazně ztráty na dojivosti a kvalitě syrového mléka, a tím i na produkci náročnějších mléčných výrobků. Zejména výskyt produkčních poruch, plynoucích z neadekvátních podmínek chovu dojnic je významným faktorem. V této souvislosti je klíčovým činitelem prevence produkčních poruch dojnic. Důležité jsou pak v daném kontextu metody, jak tuto prevenci

Jedna nedávná významná studie typu metaanalýzy konstatovala (Kvapilík, 2014), že ztráta na dojivosti, například v souvislosti s jedním případem onemocnění mastitidou dosahuje je až 565 kg mléka. Negativní dopad zánětů mléčné žlázy

obsah kvalitativních složek mléka vyjadřují korelační koeficienty počtu somatických buněk (PSB) k obsahům tuku, bílk celkovému počtu mikroorganismů: $-0,54$ a $-0,51$, $-0,44$ a $-0,47$ a $+0,51$ a $+0,63$ ($P < 0,01$). Podle naší dřívější studie zhoršoval rostoucí PSB významně syřitelnost a kysací schopnost mléka (Hanus et al., 1995). Uvedené výsledky prokazi horší technologickou kvalitu mléka v souvislosti s rozvojem produkčních poruch typu mastitid, a tím i riziko dalšího roz mlékárenské produkce směrem k výrobkům s vyšší přidanou hodnotou. U mastitid ovšem existuje možnost abnormáln mléko (vyšší vodivost nebo PSB) vyřazovat z dodávky ke zpracování přímo v prvovýrobě na základě výsledků dostupn monitorovacích systémů (Schalmův test viskozity mléka ve stájích, měření PSB v kontrole užítkovosti nebo real time analýzy složek mléka a PSB v moderních sofistikovaných dojírnách, resp. automatických dojících systémech (AMS, doji roboti)). Vyřazením mléka z dodávky sice vznikne na dané lokalitě ekonomická ztráta, není ale obecně narušena mlékárenská fermentační nebo sýrařská technologie zpracovatele.

Komplikovanější situace je v případě výskytu ketóz a jiných metabolických dysbalancí u dojníc, kdy subklinický stav onemocnění (ve svém důsledku pro technologickou kvalitu mléka srovnatelně škodlivý jako mastitidy) je v porovnání s mastitidami (PSB) obtížněji identifikovatelný. Takové mléko se pak dostává k mlékárenskému zpracování, ve kterém r být zdrojem technologických problémů a může negativně ovlivnit zpracování mléčné suroviny na produkty s vyšší přide hodnotou. Podle dřívějších výsledků (Hanus et al., 1993 a, b) se pohybovaly korelace hodnot močoviny a acetonu v ml (vyšší hodnoty těchto nežádoucích metabolitů v mléce souvisí s výskytem metabolických problémů, energetických dysbalancí a ketóz) ke kysací schopnosti mléka od $-0,21$ do $-0,23$ a byly statisticky významné ($P < 0,05$).

Z pohledu uvedeného rizika je proto velmi významné zlepšit postupy identifikace zejména u subklinických ketóz a na základě toho i metody prevence. V této souvislosti se otevírají možnosti vývoje měření složení mléka infračervenou spektroskopií v mlékařství, případně i další metody, které jsou aplikovány v systémech real time analyses v moderních dojírnách a AMS. Uvedené ovšem vyžaduje vývoj analytických a interpretačních programů (pravděpodobnostní predikč modely) podle struktury stáda dojníc, fyziologických a lokálních chovatelských faktorů a dynamiky dojivosti a mléčných ukazatelů v závislosti na sezóně, v závislosti na individuální úrovni nebo na úrovni stáda, popř. ve vzájemných kombin:

2) Interpretace výsledků mléčných ukazatelů pro podporu prevence výskytu subklinické ketózy a zlepšení technologick kvality mléka

Ketóza je akutně nebo chronicky probíhající porucha energetického metabolismu snižující dojivost (Gustafsson a Emanuelson, 1996; Duffield, 2000; Duffield, et al., 2009), která u vysokoužitkových dojníc může mít i fatální důsledky (Duffield, 2000; Gasteiner, 2000; Duffield, et al., 2009). Ketóza může negativně ovlivnit i kvalitu mléka a ohrozit tak je zpracování (Hanus et al., 1993 a, b). Příčinou ketózy je nevyrovnanost mezi příjmem živin a jejich vyšším odvodem do mléka v časně fázi laktace, kdy dojnice nejsou schopny vzhledem k vysokému nádoji přijmout potřebné množství sušir krmné dávce (Wood et al., 2004; Manzenreiter et al., 2013). To je i zdůvodnění vysoké prevalence ketóz, zejména u vysokoužitkových krav (Januš a Borkowska, 2013).

Výskyt onemocnění je spojen s vyššími hladinami ketolátek v tělních tekutinách, které jsou produkty katabolismu tělní tuku v době energetické malnutrice v časně fázi laktace. Miettinen (1994) našel mezi obsahem ketolátek v mléce (mlé acetonem) a dojivostí korelaci $r = -0,47$ ($P < 0,001$). Proto je na ketony nahlíženo jako na nežádoucí metabolity. Někter nich jsou metabolizovány a další (např. aceton) odcházejí z krve a těla zpravidla močí, vydechovaným vzduchem, pote mlékem (Enjalbert et al., 2001). To je důvodem, proč existují vysoce pozitivní korelace mezi obsahem acetonu v krvi a mléce: $r = 0,96$ (Andersson, 1984); $0,98$ (Gravert et al., 1986) a $0,96$ (Enjalbert et al., 2001), ve všech případech $P < 0,001$. Tento fenomén destrukce tělesného tuku může vést k redukci metabolických funkcí jater.

Z hypotetického pohledu a uvedených důvodů je možné zahrnout ketózu (subklinickou a klinickou) do časové řady výsk produkčních poruch v časně laktaci jako důsledek případného výskytu poporodní parézy (ovšem v souvislosti s výživov energetickým deficitem) a možnou příčinu posunutí slezu (Geishauser et al., 1997 a, b), mastitidy a zadržetí placenty s s ostatními reprodukčními poruchami (Duffield, 2000; Duffield, et al., 2009). Některé z těchto negativních zdravotních konsekvencí jsou zapříčiněny v důsledku ketózy imunosupresí (Duffield, 2000; Gasteiner, 2000).

Zejména v případě obtížně klinicky rozpoznatelné subklinické formy je nezbytný rozvoj metod ke zlepšení jejich identifi a tím včasnému a efektivnímu zásahu (Duffield, 2000; Gasteiner, 2000). Preventivně je pro zlepšení zdraví krav možnc

využít hormonální ošetření inzulinem (Gasteiner, 2000). Také například včasné podání glukoplastických a hepatoprotektivních látek jako propylenglykolu, niacinu, karnitinu, lecitinu, monensinu a sylimarinu (Jagoš et al., 1991; Vojtíšek et al., 1991; Miettinen, 1995; Green et al., 1999; Gasteiner, 2000, 2003; Tedesco et al., 2004; Coskun et al., 2007) může zlepšit prevenci. Proto jsou tyto metody významné pro zlepšení technologické kvality mléka, zdraví zvířat a jejich reprodukce a mají tak efektivní potenciál umožnit využití vyšší míry přidané hodnoty následně ve zpracování mléka.

Vzorky mléka k posouzení vybraných parametrů jsou oproti krvi a moči velmi jednoduše dostupné (individuální nebo bazénové – vzorky rutinně v systému kontroly užitkovosti a kontroly kvality mléka – laboratoře Českomoravské společnosti chovatelů, ČMSCH). Ketonové látky v mléce (aceton a beta-hydroxybutyrát) jsou vhodné pro bezpečný neinvazivní monitoring a kontrolu výživy dojníc a jejich zdravotního stavu. Během ketózy (nedostatek energie znamená krevní deficit glukózy) vzrůstá obsah mléčného tuku v důsledku rozkladu tělesného tuku k pokrytí nedostatku a současně ze stejného důvodu klesá obsah energeticky náročných bílkovin v mléce (Geishauser a Ziebell, 1995; Steen et al., 1996; Hansen, 1999; Gasteiner, 2000; Hana et al., 2007; Siebert a Pallauf, 2010; van Kneegsel et al., 2010; van der Drift et al., 2012).

Identifikace subklinických forem ketózy je klíčová a lze konstatovat, že přístupy a metody jsou v trvalém procesu zlepšování. Infračervená spektroskopie s Fourierovými transformacemi (MIR-FT), která se rozšiřuje v mlékařské laboratorní praxi umožňuje, ovšem po relevantní kalibraci (což je důležité), pravidelné určení acetonu nebo beta-hydroxybutyrátu v individuálních vzorcích mléka v kontrole užitkovosti (Hansen, 1999; Heuer et al., 2000; de Roos et al., 2007; van Kneegsel et al., 2010; Hanuš et al., 2011 a; van der Drift et al., 2012). Další možností ve vyšetřování mléčných ketonů jsou stáje testy (Geishauser et al., 1997 a; Hanuš et al., 1999; Carrier et al., 2004). Také změny v poměrech hlavních mléčných složek jsou vhodné v monitoringu subklinické ketózy prostřednictvím kalkulace mléčných ketonových koeficientů (tuk/hrubé bílk. a tuk/laktóza; Geishauser a Ziebell, 1995; Duffield et al., 1997; Steen et al., 1996; Gasteiner, 2000; Reist et al., 2002; Kneegsel et al., 2010; Siebert a Pallauf, 2010; Hanuš et al., 2011 b; Manzenreiter et al., 2013). Tyto složky jsou pravidelně měsíčně individuálně vyšetřovány během kontroly užitkovosti v laboratořích s technologií infračervené spektroskopie MIR-FT (ve světě i v ČR - ČMSCH – laboratoře kontroly užitkovosti). Dále jsou zde možnosti real time analyse (infračervená spektroskopie NIR, near infra red) přímo v moderních sofistikovaných dojárnách (AfiLab; Katz, 2007; Kawasaki et al., 2007).

C) Koagulace mléčných bílkovin a její význam v efektivitě mlékařské produkce

1) Význam syřitelnosti pro zpracování mléka

Koagulace mléčných bílkovin a tvorba viskózní hmoty, resp. gelu, je důležitou technologickou vlastností v procesu zpracování jak fermentovaných mléčných produktů, tak zejména v sýrařství. Rozhoduje o výtěžnosti mléka v sýrařství kvalitě a průběhu zrání sýrů. Tedy v konečném důsledku o komerčním úspěchu sýrařství. V procesu synergeze za podání syřidla, v závislosti na jeho původu, mechanismu účinku, koncentraci, teplotě a stavu mléka (např. zdravotní stav dojníc tím související kvalita bílkovin nebo koncentrace anorganických iontů vápníku) dojde k tvorbě gelu.

Při posuzování syřitelnosti se často měří čas počátku koagulace, pak její rychlost a pevnost sýřeniny. Existovaly názory vztah lepší koagulace k některým variantám laktoproteinů v jejich genetickém polymorfismu (např. k alele B a genotypu kappa-kaseinu) platí jen pro sýry zpracovávané ze syrového mléka, bez tepelného ošetření, v tradičních sýrařských zemích (Švýcarsko, Francie, Itálie). Nicméně, dřívější prací (Hanus et al., 1995) bylo prokázáno, že pasterace (v ČR až na výjimku povinná) sice zhoršuje všeobecně sýrařské ukazatele, přesto přednosti alely B kappa-kaseinu a její případné homozygotní dozace, oproti jiným variantám (alela A) a heterozygotní dozaci, i tak zůstávají zachovány. Pro výrobky s vyšší přidanou hodnotou tak může dávat smysl nějaký způsob výběru suroviny podle genetických variant laktoproteinů (plemeno, otcové plemnitbě atp.).

Jak vyplývá rovněž z předchozího, syřitelnost je vedle genetického polymorfismu laktoproteinů ovlivňována také kvalitou mléka ve smyslu sezóny roku (Falta et al., 2014) a výskytu produkčních poruch u dojníc, zejména mastitid a ketóz. Pro řešení identifikace subklinických ketóz (část B představení projektu) také může posunout sýrařství ve smyslu vzniku potenciálu a možnosti tvorby vyšší přidané hodnoty v mlékařství. Metody posuzování syřitelnosti tedy mohou mít v sýrařství velký praktický význam.

2) Možnost intervence do portfolia analytických metod stanovení syřitelnosti jako důležité technologické vlastnosti mléka

Syřitelnost se zjišťuje při temperování definovaného objemu mléka po přidavku vybraného syřidla, zpravidla měřením do vytvoření prvních vloček laktoproteinů (počátku koagulace). Je tak důležitou vlastností v syřařství, tedy procesu tvč vyšší přidanou hodnotu v mlékařství. V klasickém provedení se jedná o určení charakteristického kvalitativního momentu procesu aspekci. Palpací pak lze klasifikovat po času inkubace pevnost sýřeniny. Uvedené metody jsou však zatíženy r výraznou mírou subjektivit a následně je obtížné provést porovnání mezi zdroji výsledků, mezi mlékárnami, pracovišti atd.. Z těchto důvodů se tedy provádějí pokusy o objektivizaci metod.

Jedním sofistikovaným výstupem bylo poměrně nákladné (mechanicky náročné a drahé) laktodynamografické měření Electric), kde se stanovil čas koagulace a následně pevnost sýřeniny za definované, fyziologicky relevantní teploty v přítomnosti syřidla podle tvaru a amplitudy tzv. zvonové křivky (obrácené Y; pramen Itálie, Ermacora, 2014; FWW, 201 Metoda vznikla mechanickým řešením zápisu pozice kývání kyvadla v sýřenině. Metoda byla později elektronizována, a mechanické aspekty ji činí náročnější pro praktické použití. Byla využívána především výzkumně. Tyto metody, práce a výsledky přinesly značný pokrok ve studiu sýření mléka, resp. koagulace laktoproteinů.

Dalším známým přístupem bylo využití nefelometrie (turbidimetrie – měření zákalu) v posuzování koagulace mléka. Je se o využití optické metody při vyhodnocení chování intenzity tzv. difúzně rozptýleného Tyndalova světla na dispergová částicích (koagulujících vločkách laktoproteinů). Uvedený analyzátor (ML - 2) s grafickým zápisem času a křivky koagul (Ing. J. Přibyla) byl testován s dobrými výsledky korelace na klasické provedení syřitelnosti kravského mléka (Sojková al., 2011; $r = 0,85$ $P < 0,001$). Přístroj tak vykázal potenciál využitelnosti v praxi.

Nyní se však, po prvních nepublikovaných testech na pracovišti, jako perspektivní jeví také možnost zkoumat, vyvíjet a zlepšit metody stanovení koagulace laktoproteinů na bázi elektrochemických měření se specifickým softwarovým vyhodnocením výsledku. Jedná se o posouzení technologické kvality mléka při možnosti jeho zefektivnění, tj. zjednodu zrychlení, zpřesnění, snížení pracovní náročnosti a nákladů, při zavedení vyššího stupně standardizace. Projekt má cíl zlepšit tyto postupy vývojem nové elektrochemické metody determinace syřitelnosti, která tak bude mít patentový a komerční potenciál: - prodej samotného měřicího zařízení (hardware a software – smluvní výrobce zařízení); - prodej výsledků formou služby pro mlékárenský průmysl (centrální laboratoře kontroly kvality mléka). Zajímavým mlékařsk analytickým potenciálem je také možnost odvození dalších ukazatelů koagulace laktoproteinů pro praxi syřařství vyhodnocením tvaru a statistickým vyhodnocením nově definovaných parametrů grafických záznamů elektrochemické průběhu koagulace. Tento postup vývoje sleduje důsledně zvýšení přidané hodnoty v celém vertikálním profilu mlékař (prvovýroba mléka, služby chovatelům, zpracování mléka - výroba mléčných výrobků).

D) Polymorfismus laktoproteinů a dalších lokusů a jeho genetický a technologický význam v mlékařství

Vliv polymorfních variant mléčných proteinů na kvantitativní a kvalitativní aspekty produkce kravského mléka je zkoum již dlouhou dobu. Zejména vliv na kvalitu mléka je zřejmý a spolehlivě prokázáný. Předkládaný projekt se proto zabývá možnostmi praktického využití polymorfismu proteinů kaseinové a syrovátkové frakce kravského mléka k produkci kvalitnějších mléčných výrobků.

Za prokazatelný lze považovat zejména vliv kappa-kaseinového lokusu na technologické vlastnosti mléka (Gustavsson al., 2014). Mléko s obsahem varianty B má vyšší obsah proteinů a zejména lepší technologickou jakost při sýření. Spot mléka s variantou B na výrobu sýra je menší, stejně jako ztráty syrového prachu v syrovátce, kvalita sýřeniny, zvláště konzistence je lepší. Polymorfní varianty A a E jsou technologicky méně vhodné. Z uvedeného vyplývá, že šlechtitelsko prací je možno koagulační vlastnosti mléka vylepšit (Vallas et al., 2012, Poulsen et al., 2013, Bonfatti et al., 2014). V projektu jsou tedy plánovány detailní analýzy koagulačních vlastností mléka ve vztahu k polymorfním variantám kappa kaseinu.

V některých zemích, např. Velké Británii, Austrálii, na Novém Zélandu, je v posledních letech velmi populární tzv. A2 m Je to mléko, obsahující A2 variantu beta-kaseinu, která je ze zdravotního hlediska příznivější, i když podle některých a dosud nebyly rozdíly mezi A1 a A2 variantou spolehlivě prokázány. Jsou však porovnávány rozdíly v technologických vlastnostech mléka s různými variantami (Gustavsson et al., 2014). Vzhledem ke skutečnosti, že systematická studie r v České republice dosud provedena, bude součástí projektu stanovení frekvence polymorfních variant u našich plemen

dojeného skotu. Rovněž bude provedena analýza rozdílů v technologické jakosti mléka s obsahem různých variant beta-kaseinu.

Ze syrovátkové frakce je nejvýznamnějším proteinem beta-laktoglobulin. Kromě nutričního a technologického významu rovněž bohužel negativní roli, významnou měrou se totiž podílí na alergických vlastnostech mléka. Polymorfismy v tom lokusu jsou však spojovány s různými ukazateli mléčné produkce (Mancini et al., 2013). V projektu bude provedena analýza rozdílů v technologické jakosti mléka s obsahem různých variant beta-laktoglobulinu.

Tým spolunavrhovatelů na Jihočeské univerzitě se uvedenými lokusy výzkumně zabýval (Čítek et al., 1996, 1997, 1998, 2001, Panicke et al., 2001), metodiky pro genotypizaci jsou na pracovišti zavedeny, potřebné přístrojové vybavení je k dispozici.

Důležitým ukazatelem ovlivňujícím technologickou jakost mléka a jeho následné zpracování je také obsah tuku v mléce a jeho složení (Walstra et al., 1999; Guinee et al., 2000). S ohledem na významnou korelaci mezi obsahem bílkovin a tuků v mléce či další vzájemné vztahy mezi kvalitativními parametry v mléce (Othmane et al., 2002; Ikonen et al., 2004) je tato problematika často sledována v souvislosti s genetickým polymorfismem. Opakovaně byl potvrzen statisticky významný vliv na obsah tuku v kravském mléce u polymorfismu lokusu DGAT1 (diacylglycerol acyltransferáza) (Grisar et al., 2002; Weller et al., 2003; Sanders et al., 2006, Fontanesi et al., 2014). Studie provedené na pracovišti spolunavrhovatele, Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity, prokázaly signifikantní vztah jak u českého strakatého, tak holštýnského plemene (Čítek et al., 2007; Hradecká et al., 2008; Hanusová et al., 2014). Podobně je předmětem zájmu i FASN (fatty acid synthase) (Fontanesi et al., 2014). Poměrně málo je dosud známo o vlivu polymorfismu těchto lokusů na spektrum mastných kyselin v mléce (Conte et al., 2010). Studie z poslední doby však ukázaly, že v genech pro DGAT1 a FASN nebo v jejich okolí je několik SNP (single nucleotide polymorphism, jednoduchý nukleotidový polymorfismus), spojených se syntézou mastných kyselin (Li et al., 2014). Gen FASN ovlivňuje množství polynenasycených mastných kyselin (PUFA) v mléce (Marchitelli et al., 2013), které jsou přínosné pro zdraví spotřebitele (Jensen, 2002). Z tohoto pohledu je studium vztahu vlivu polymorfních variant genů DGAT1 a FASN na spektrum mastných kyselin v kravském mléce významnou součástí projektu.

Výsledkem uvedených studií a analýz bude zejména doporučení pro chovatele a zpracovatelský průmysl (mlékárny) k preferenci mléka se specifickými polymorfními variantami výše uvedených analyzovaných lokusů.

E) Potenciál infračervené spektroskopie v mlékařství pro zvýšení přidané hodnoty v mléčných výrobcích

1) Vývoj aplikací IR spektroskopie

Infračervená (IR) spektroskopie (měření rozdílů ve vibracích a oscilacích organických molekul v důsledku specifických energetických vlivů vlnových délek IR) ovlivňuje analytiku v biologii, organické chemii, biochemii, fyziologii, lékařství a potravinářství, zejména mlékařství, od 50. let minulého století. Přinesla velký pokrok, řadu výsledků, rozšíření znalostí, převratné zefektivnění technologie, především v genetickém zlepšování populací dojnic a také v mlékárenské technologii. Konstruktivně se IR spektroskopie bouřlivě vyvíjela. Zpočátku hardware, dnes zejména software. V mlékařské analytice došlo postupně: - ke zkracování délky IR paprsků v měřicím boxu přístrojů pro snížení vlivu vzdušné vlhkosti na výsledek měření; - k redukci počtu kyvet a paprsků pro snížení náročnosti konstrukce, výrobních nákladů a ovlivnění výsledku; - k optimalizaci výběru specifických vzorkových a referenčních vlnových délek IR záření, které jsou relevantní hledané mléčné složce, pro zvýšení věrohodnosti výsledků měření; - k automatizaci celého měřicího procesu pro zvýšení výkonu na sto analýz vzorků za hodinu v průtočném systému; - k zavedení Michelsonova interferometru k proměňování celého mléčného IR spektra pro rozšíření portfolia analýz z hlavních složek také na minoritní složky mléka. Vedle hlavních jmenovaných vývojových modifikací byla řada dalších méně revolučních, ale přesto významných. Ty byly realizovány na zařízeních: 1) Foss Electric, Multispec, Delta, Bentley. Zejména poslední modifikace hardware si vyžádala vývoj sofistikovaného softwaru pro statistické vyhodnocení IR spektrogramů vzorků mléka a mléčných výrobků s použitím Fourierových transformací (F

Zatímco dřívější filtrová technologie IR analýzy umožňovala zejména rozbor hlavních složek a vlastností mléka (tuk, bílkovina, laktóza, sušina, sušina tukuprostá, ekvivalent deprese bodu mrznutí mléka – hlavní složky v kombinaci s měrnou vodivostí mléka), MIR-FT technologie otevřela úspěšně dveře k analýze minoritních složek mléka, která v komplikované

simultánní multikomponentní IR analýze mléka, ztížené tak řadou mezisložkových (mléčná matrice) interferenčních efektů reprezentuje problém příslovečného "hledání jehly v kupce sena". Zde se jedná o stanovení: volných mastných kyselin mléčného tuku; mléčné močoviny; mléčných ketonů (aceton a betahydroxybutyrát); kyseliny citrónové.

Je třeba zdůraznit, že věrohodnost výsledků a tedy kontrolní potenciál IR spektroskopie tak závisí na kvalitě kalibrace referenční metody. To je vysoce odborná činnost, pro kterou jsou akreditované referenční a rutinní mléčné laboratoře (kontrola užitkovosti a kontrola kvality mléka – ČMSCH) organizovány do pracovních sítí i internacionálních k zajištění analytické způsobilosti (proficiency testing, PT).

Je třeba uvést, že pracoviště řešitele (VÚM Praha) disponuje značnými zkušenostmi v uvedeném oboru včetně vývoje postupů kalibrací minoritních složek mléka, které byly také publikovány ve vědeckých časopisech, což lze ověřit v publikačních výpisech databází Web of Science a Scopus u řešitelů projektu, neboť v uvedených životopisech a použitých referencích nejsou tyto práce zahrnuty.

2) Současná představa zvýšení kontrolního potenciálu IR spektroskopie pro zlepšení efektivity produkce v mlékařství

Protože výsledky IR spektroskopie, zejména archivované IR spektrogramy (MIR-FT), lze vztahovat teoreticky i prakticky k řadě dalších mlékařských výsledků (ukazatelů), chemických, fyzikálních i technologických (zde v projektu: - zdravotní dojníc z pohledu ketóz a monitoringu jejich subklinických forem; - výsledky a dynamika koagulace mléčných proteinů (procesu) a technologická kvalita mléka; - konkrétní predikce vlastního genetického základu polymorfismu laktoproteinu jedince; - predikce základního utváření profilu mléčného tuku u stáda nebo jedince), vykazují výsledky MIR-FT po jejich sofistikovaném zpracování (vývoj vícefaktorových interpretačních a predikčních software) velký potenciál pro kontrolní řídicí a popřípadě preventivní procesy v celé vertikále mlékařství od prvovýroby po mlékárny (- chovy dojnic a jejich genetika a zdraví s ohledem na výskyt produkčních poruch; - kontrola užitkovosti; - kvalita syrového mléka; - kvalita mléčných produktů). Metoda MIR-FT tak sehrává v projektu ústřední (tmelící, propojující pro studované okruhy) roli pro možnost nejen analýzy, ale zejména syntézy výsledků s praktickými technologickými konsekvencemi.

Lze proto obhajovat hypotézu, že další vývoj těchto kontrolních, predikčních a interpretačních metod (autorizovaných software a certifikovaných metodik) na bázi výsledků MIR-FT v mlékařství může sehrát unikátní roli v možnosti vnosu přidané hodnoty do mlékárenské produkce pro lepší kvalitu, vyšší konkurenceschopnost oboru a lepší ochranu spotřebitelů mléčných výrobků.

F) Cíle projektu v širším kontextu a synergické efekty výhod řešitelů a uživatelů ze spolupráce

Na základě dosud uvedeného a ve smyslu úsilí o posun technologické kvality mléka a možností zvýšení přidané hodnoty mlékárenské výrobě si ve výčtu projekt klade následující cíle: 1 - zkoumat a vyvinout pravděpodobnostní modely a interpretační a predikční software k identifikaci a prevenci subklinických ketóz na bázi četných a pravidelných výsledků mléčných ukazatelů v mléčných stádech podle MIR-FT (na úrovni individuálních a bazénových vzorků mléka – uživatel ČMSCH a jejím prostřednictvím praktičtí chovatelé) pro zlepšování technologické kvality mléka – vědecké publikace, autorizované software, certifikované metodiky; 2 - zkoumat a vyvinout novou metodu elektrochemické determinace, stanovení dynamiky a interpretace koagulace laktoproteinů pro zlepšování mlékárenské technologie – patent, autorizované software; 3 - studovat a analyzovat vztah polymorfismu laktoproteinů a dalších kandidátních lokusů k technologické kvalitě mléka a skladbě mléčného tuku pro možnost zlepšovat postupy ve zpracování mléka a produkovat specifické nebo náročnější mléčné produkty – vědecké publikace; 4 - studovat a analyzovat vztah uchopitelných změn v IR spektrech k třem předchozím okruhům výzkumu a vývoje (zpětná, resp. predikční vazba řešených profesních okruhů přes MIR-FT) možnost vyvíjet nové interpretační přístupy k podpoře zdraví dojnic, technologické kvality mléka a metod jejího objektivního stanovení, tedy metod využitelných v mlékařské praxi (uživatel ČMSCH a jejím prostřednictvím praktičtí chovatelé a mlékárny) – vědecké publikace, autorizované software a certifikované metodiky.

G) Originalita projektu

Na základě znalosti vývoje v oboru a související odborné literatury lze obhajovat originalitu projektu na základě posouzení výstupů ve všech čtyřech úrovních: 1 - uvažované dynamicko-kombinační pojetí vývoje pravděpodobnostních predikčních

modelů identifikace subklinických ketóz; 2 - vývoj nové elektrochemické metody determinace koagulace laktoproteinů
analýza vztahů polymorfismu kandidátních lokusů zejména k profilu mléčného tuku; 4 - analýza potenciálu zpětné a
predikční vazby všech předchozích okruhů (1 až 3) výzkumu a vývoje přes výsledky MIR-FT spekter relevantních vzork
mléka.

H) Použité reference

Andersson, L.: Concentrations of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonaemia and clinical signs. *Zbl. Vet. Med.*, A 31, 1984, 683-693.

Bonfatti, V., Chiarot, G., Carnier, R.: Glycosylation of kappa-casein: Genetic and nongenetic variation and effects on re coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 97, 2014, 1961-1969. DOI: 10.3168/jds.2013-7418.

Carrier, J., Stewart, S., Godden, S., Fetrow, J., Rapnicki, P.: Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 2004, 3725-3735.

Conte, G., Mele, M., Chessa, S., Castiglioni, B., Serra, A., Pagnacco, G. & Secchiari, P.: Diacylglycerol acyltransferase 1 stearoyl-CoA desaturase 1, and sterol regulatory element binding protein 1 gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Italian Brown cattle. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93 (2): 753-763.

Coskun, B., Inal, F., Gürbüz, E., Polat, E. S., Alatas, M. S.: The effects of additional glycerol in different feed form on da cows. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 18, 1, 2012, 115-120.

Čítek, J., Řehout, V., Hradecká, E., Večerek, L., Panicke, L.: The Breeding values of German Holstein Sires and the DG/ Polymorphism. *Archiv für Tierzucht*, 50, 2, 2007, 136-146.

Čítek, J., Řehout, V., Neubauerová, V.: Allele frequency at PRL (prolactin) and LGB (lactoglobulin beta) genes in Red ca breeds from Central Europe and in other breeds. *Czech Journal of Animal Science*, 46, 2001, 433-438.

Čítek, J., Řehout, V., Hajič, F., Šoch, M., Mašková, J., Košvanec, K.: The Kappa-Casein Allele C in some Cattle Breeds ir Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*, 43, 1998, 97-99.

Čítek, J., Řehout, V., Hajič, F., Košvanec, K., Šoch, M.: Genetic Polymorphism of Kappa-Casein Locus in Czech Pied and Pied Cattle. *Živočišná výroba*, 42, 1997, 1-4.

Čítek, J., Antes, R.: Detekce alel na kappa - kaseinovém lokusu u plemene česká červinka. *Živočišná výroba*, 41, 1996 49-51.

Drift van Der, S. G. k., Jorritsma, R., Schonewille, J. T., Knijn, H. M., Stegeman, J. A.: Routine detection of hyperketon in dairy cows using Fourier transform infrared spectroscopy analysis of β -hydroxybutyrate and acetone in milk in combination with test-day information. *J. Dairy Sci.*, 95, 9, 2012, 4886-4898.

Duffield, T.,: Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 16, 2000, 231-253.

Duffield, T. F., Kelton, D. F., Leslie, K. E., Lissemore, K. D., Lumsden, J. H.: Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.*, 38, 1997, 713-718.

Duffield, T. F., Lissemore, K. D., Mc Bride, B. W., Leslie, K. E.: Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows c health and production. *J. Dairy Sci.*, 92, 2009, 571-580.

Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C., Moncoulon, R.: Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.*, 84, 2001, 583-589.

- Ermacora, M.: Top quality organic cheese production in Italy – Parmigiano Reggiano PGI. *Fleckvieh World*, 2013/2014, 14-15.
- Falta, D., Adamski, M., Čejna, V., Hanuš, O., Lategan, F., Kupczynski, R., Chládek, G., Filipčík, R., Máchal, L.: The effect of air temperature and breed on bovine milk composition and its processing quality. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 20, 1, 2014, 215-220.
- Fontanesi, L., Calo, D. G., Galimberti, G., Negrini, R., Marino, R., Nardone, A., Ajmone-Marsan, P., Russo, V.: A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle. *Animal Genetics*, 45, 2014, 576-583. DOI: 10.1111/age.12164.
- FVW: Kappa-casein and beta-lactoglobulin. *Fleckvieh World*, 2013/2014, 12-13.
- Gasteiner, J.: Ketose, die bedeutendste Stoffwechselerkrankung der Milchkuh. In *BAL Gumpenstein Bericht*, 27. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 2000, ISSN: 1026-6267, 11-18.
- Gasteiner, J.: Der Einsatz glukoplastischer Verbindungen in der Milchviehfütterung. In *BAL Gumpenstein Bericht*, 30. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 2003, ISSN: 1026-6267, 61-63.
- Geishauser, T., Leslie, K. E., Duffield, T., Edge, V.: An evaluation of milk ketone tests for the prediction of left displaced abomasum in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80, 1997 a, 3188-3192.
- Geishauser, T., Leslie, K. E., Duffield, T., Edge, V.: Fat/protein ratio in first DHI tests milk as test for displaced abomasum in dairy cows. *Zbl. Vet. Med., A* 44, 5, 1997 b, 265-270.
- Geishauser, T., Ziebell, K. L.: Fett/Eiweiss-Quotient in der Milch von Rinderherden mit Vorkommen von Labmagenverlagerungen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 102, 1995, 469-471.
- Gravert, H. O., Langer, R., Diekmann, L., Pabst, K., Schulte-Coerne, H.: Ketonkörper in Milch als Indikatoren für die Energiebilanz der Milchkuhe. *Züchtungskunde*, 58, 1986, 309-318.
- Green, B. L., Mc Bridge, B. W., Sandals, D., Leslie, K. E., Bagg, R., Dick, P.: The impact of a Monensin controlled - release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 83, 1999, 333-342.
- Grisart, B., Coppieters, W., Farnir, F., Karim, L., Ford, C., Berzi, P., Cambisano, N., Mni, M., Reid, S., Simon, P., Spelman Georges, M., Snell, R.: Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Research* 12, 2002, 222-231.
- Guinee, T.P., Auty, M.A.E., Fenelon, M.A.: The effect of fat content on the rheology, microstructure and heat-induced functional characteristics of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 2000, 10 (4): 277-288.
- Gustafsson, A. H., Emanuelson, U.: Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonaemia in dairy cows: the cut-off value revised. *Anim. Sci.*, 63, 1996, 183-188.
- Gustavsson, F., Buitenhuis, A. J., Johansson, M., Bertelsen, H. P., Glantz, M., Poulsen, N. A., Mansson, H. L., Stalhamm H., Larsen, L. B., Bendixen, C., Paulsson, M., Andren, A.: Effects of breed and casein genetic variants on protein profile of milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 2014, 3866-3877. DOI: 10.3168/jds.2013-7312.
- Hana, S. S., Ayied, A. Y., Abdullrada, A. J.: Effect of some environmental factors on milk acetone level and their relationship with milk yield and some contents. *Basrah J. Agric. Sci.*, 20, 2, 2007, 65-75.
- Hansen, P. W.: Screening of dairy cows for ketosis by use of infrared spectroscopy and multivariate calibration. *J. Dairy Sci.*, 82, 1999, 2005-2010.

Hanusová, L., Míková, A., Večerek, L., Schroeffelová, D., Řehout, V., Tothová, L., Vernerová, K., Hosnedlová, B., Čítek, J.: Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. *Czech Journal of Animal Science* (in press), 2014.

Hanuš, O., Beber, K., Ficnar, J., Genčurová, V., Gabriel, B., Beranová, A.: Vztahy mezi kysací schopností bazénového kravského mléka, jeho složením a obsahem některých metabolitů. Relationship between the fermentation of bulk milk sample, its composition and contents of some metabolites. *Živoč. Vým. / Czech J. Anim. Sci.*, 38, 7, 1993 a, 635-644.

Hanuš, O., Gajdůšek, S., Beber, K., Ficnar, J., Jedelská, R.: Složení a technologické vlastnosti mléka od dojnic ve střední části laktace a jejich vzájemné vztahy. Composition and technological properties of milk from dairy cows in the middle of lactation and their interrelationships. *Živoč. Vým. / Czech J. Anim. Sci.*, 40, 12, 1995, 555-561.

Hanuš, O., Gajdůšek, S., Gabriel, B., Kopecký, J., Jedelská, R.: Sýrařsky významné vlastnosti syrového a pasterovaného mléka ve vztahu k polymorfismu mléčných bílkovin. Cheesemaking properties of raw and pasteurized milk with respect to milk protein polymorphism. *Živoč. Vým. / Czech J. Anim. Sci.*, 40, 11, 1995, 523-528.

Hanuš, O., Genčurová, V., Ponížil, A., Hlásný, K., Gabriel, B., Míčová, Z.: Vliv ročního období, přídavku močoviny, acetonu a přirozeného obsahu mikroprvků na kysací schopnost kravského mléka. The effects of year season, urea, acetone and nitrate additions and native content of microelements on cow's milk fermentation. *Živoč. Vým. / Czech J. Anim. Sci.*, 38, 8, 1993 b, 753-762.

Hanuš, O., Genčurová, V., Zhang, Y., Hering, P., Kopecký, J., Jedelská, R., Dolínková, A., Motyčka, Z.: Milk acetone determination by the photometrical method after microdiffusion and via FT infra-red spectroscopy. *J. Agrobiol.*, 28, 1, 2000 a, 33-48.

Hanuš, O., Skyva, J., Ficnar, J., Jílek, M., Ticháček, A., Jedelská, R., Dolínková, A.: A notes to interpretation procedure results ketone and acetone contents evaluation (Ketotest) in individual cow's milk samples. (In Czech) *Výzkum v chovu skotu / Cattle Research*, XLI, 4, 1999, 17-34.

Hanuš, O., Yong, T., Kučera, J., Genčurová, V., Dufek, A., Hanušová, K., Kopec, T.: The predicative value and correlation of two milk indicators in monitoring energy metabolism of two breeds of dairy cows. *Sci. Agric. Boh.*, 42, 1, 2011 b, 1-11.

Heuer, C., Luinge, H. J., Lutz, E. T. G., Schukken, Y. H., van der Maas, J. H., Wilmink, H., Noordhuizen, J. P. T. M.: Determination of acetone in cow milk by Fourier transform infrared spectroscopy for the detection of subclinical ketosis. *Dairy Sci.*, 84, 2000, 575-582.

Hradecká, E., Čítek, J., Panicke, L., Řehout, V., Hanusová, L.: The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 53, 2006, 238-245.

Ikonen, T., Morri, S., Tyrisevä, A.M., Ruottinen, O., Ojala, M.: Genetic and Phenotypic Correlations Between Milk Coagulation Properties, Milk Production Traits, Somatic Cell Count, Casein Content, and pH of Milk. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87 (2): 458-467.

Jagoš, P., Illek, J., Suchý, P.: Beziehungen zwischen Störungen im Energiestoffwechsel und der Milchezusammensetzung. *Vet.-Med.*, 46, 1991, 698-699.

Januš, E., Borkowska, D.: Occurrence of ketone bodies in the urine of cows during the first three months after calving and their association with milk yields. *Arch. Tierz.*, Dummerstorf, 56, 2013, ISSN: 003-9438, accepted, provisional pdf.

Jensen, R.G.: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85 (2): 295-350.

Katz, G. 2007: Milk Analyzer. Real Time Measuring of Milk Components. 2. Patented in Europe and pending in USA. June – Afilab™. http://www.icar.org/Documents/Verona_Presentations/SAE_Afikim_Katz.pdf

Kawasaki, M., Kawamura, S., Tsukahara, M., Morita, S., Komiya, M. and Natsuga, M.: Near-infrared spectroscopic sensing system for online milk quality assessment in a milking robot. *Comp. Electr. Agric.*, 63, 1, 2008, 22-27.

Knegsel van, A. T. M., Drift van der, S. G. A., Horneman, M., Roos de, A. P. V., Kemp, B., Graat, G. A. M.: Ketone body concentration in milk determined by Fourier transform infrared spectroscopy: Value for the detection of hyperketonemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 93, 2010, 3065-3069.

Kvapilík, J.: Mastitidy u dojených krav a výrobní ztráty. *Veterinářství*, 64, 7, 2014, 550-560.

Li, C., Sun, D. X., Zhang, S. L., Wang, S., Wu, X. P., Zhang, Q., Liu, L., Li, Y. H., Qiao, L.: Genome Wide Association Study Identifies 20 Novel Promising Genes Associated with Milk Fatty Acid Traits in Chinese Holstein. *Plos One*, 9, Article Number e96186, 2014, DOI: 10.1371/journal.pone.0096186. Mancini, G., Nicolazzi, E. L., Valentini, A., Chillemi, G., Ajmone Marchitelli, P., Santus, E., Pariset, L.: Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and milk production traits in Italian Brown cattle. *Livestock Science*, 157, 2013, 93-99.

Manzenreiter, H., Fürst-Waltl, B., Egger-Danner, C., Zollitsch, W.: Zur Eignung des Gehalts an Milchinhaltsstoffen als Ketoseindikator. 40. Viehwirtschaft. Fachtag., 2013, ISBN: 978-3-902559-93-7, 9-19.

Marchitelli, C., Contarini, G., De Matteis, G., Crisa, A., Pariset, L., Scata, M. C., Catillo, G., Napolitano, F., Moiola, B.: Milk fatty acid variability: effect of some candidate genes involved in lipid synthesis. *Journal of Dairy Research*, 80, 2013, 165-173. DOI:10.1017/S002202991300006X.

Miettinen, P. V. A.: Relationship between milk acetone and milk yield in individual cows. *J. Vet. Med.*, A 41, 1994, 102-107.

Miettinen, P. V. A.: Prevention of bovine ketosis with glucogenic substance and its effect on fertility in Finnish dairy cow. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 108, 1995, 14-19.

Othmane, M.H., Carriedo, J.A., San Primitivo, F., De La Fuente, L.F.: Genetic parameters for lactation traits of milking cows: protein content and composition, fat, somatic cells and individual laboratory cheese yield. *Genetics, Selection, Evolution* 2002, 34 (5): 581-596.

Panicke, L., Čítek, J., Schmidt, M., Řehout, V., Erhardt, G., Staufienbiel, R.: Enzyme activities and milk performance by clusters of growth hormone gene (GH) and beta-casein (beta-CN) in German Holsteins. *Czech Journal of Animal Science* 2001, 202-208.

Poulsen, N. A., Bertelsen, H. P., Jensen, H. B., Gustavsson, F., Glantz, M., Mansson, H. L., Andren, A., Paulsson, M., Bendixen, C., Buitenhuis, A. J., Larsen, L. B.: The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds. *Journal of Dairy Science*, 96 2013, 4830-4842. DOI: 10.3168/jds.2012-6422.

Reist, M., von Euw, D., Tschuemperlin, K., Leuenberger, L., Chilliard, Y., Hammon, H. M., Morel, C., Philipona, C., Zbinden, Y., Kuenzi, N., Blum, J. W.: Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85, 2002, 3314-3327.

Roos de, A. P. W., Bijgaart van den, H. J. C. M., Horlyk, L., Jong de, G.: Screening for subclinical ketosis in dairy cattle using Fourier transform infrared spectrometry. *J. Dairy Sci.*, 90 2007, 1761-1766.

Sanders, K., Bennewitz, J., Reinsch, N., Thaller, G., Prinzenberg, E.-M., Kuehn, C., Kalm, E.: Characterization of the DGAT1 mutations and the CSN1S1 promoter in the German Angeln dairy cattle population. *Journal of Dairy Science*, 89, 2006, 1000-1006.

3164-3174.

Siebert, F., Pallauf, J.: Analyse von Ergebnissen der Milchleistungsprüfung in Hessen im Hinblick auf ein Ketoserisiko. *Züchtungskunde*, 82, 2010, 112-122.

Sojková, K., Hanuš, O., Dufek, A., Kopecký, J., Jedelská, R.: Srovnání nefelometricky a tradičně stanovené koagulace proteinů syrového kravského mléka jako technologické vlastnosti. Comparison of cow raw milk protein coagulation described using nephelometry and traditional procedure as technological property. (In Czech) *Výzkum v chovu skotu / Research*, LIII, 193, 1, 2011, 52-59.

Steen, A., Osteras, O., Gronstol, H.: Evaluation of additional acetone and urea analyses, and of the fat-lactose-quotient of cow milk samples in the herd recording system in Norway. *J. Vet. Med.*, A 43, 1996, 181-191.

Tedesco, D., Tava, A., Galletti, S., Tameni, M., Varisco, G., Costa, A., Steidler, S.: Effects of sylimarin a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 2004, 2239-2247.

Vallas, M., Kaart, T., Vaerv, S., Paerna, K., Joudu, I., Viinalass, H., Paerna, E.: Composite beta-kappa-casein genotype: their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 2012, 6760-6769. DOI: 10.3168/jds.2012-5495.

Vojtíšek, B., Hronová, B., Hamřík, J., Janková, B.: Milk thistle (*Silybum marianum*) in feed rations administered to ketotic cows. (In Czech) *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991, 321-330.

Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M.A.J.S.: *Dairy Technology: Principles of Milk Properties Processes*. Marcel Dekker, New York 1999, 727 pp. ISBN 0-8247-0228-X.

Weller, J. I., Golik, M., Seroussi, E., Ezra, E., Ron, M.: Population-wide analysis of a QTL affecting milk-fat production in Israeli Holstein population. *Journal of Dairy Science*, 86, 2003, 2219-2227.

Wood, G. M., Boettcher, D. F., Kelton, D. F., Jansen, G. B.: Phenotypic and genetic influences on test-day measures of acetone concentration in milk. *J. Dairy Sci.*, 87, 2004, 1108-1114.

3. Rámec projektu

3.1. Účel projektu

3.1.1. Předpokládané přínosy projektu u tvůrců výsledků

Hlavní ekonomické přínosy u tvůrců výsledků			
Ukazatel	Jednotka	Hodnota ukazatele	Zdůvodnění hodnoty
Tržby	tis. Kč	0	Projekt bude využívat zvláštnosti pro zemědělství a rybolov (mléko a mléčné produkty) podle článku 9. Rámce Společenství, proto dosažené výsledky budou k dispozici zdarma.
Zisk	tis. Kč	0	Projekt bude využívat zvláštnosti pro zemědělství a rybolov (mléko a mléčné produkty) podle článku 9. Rámce Společenství, proto dosažené výsledky budou k dispozici zdarma.
Export	tis. Kč	0	Projekt bude využívat zvláštnosti pro zemědělství a rybolov (mléko a mléčné produkty) podle článku 9. Rámce Společenství, proto dosažené výsledky budou k dispozici zdarma.
Nová pracovní místa	počet	0	Nepředpokládá se.

Jiné přínosy u tvůrců výsledků

Ukazatel	Jednotka	Hodnota ukazatele	Zdůvodnění hodnoty
Přínos pro vzdělávání	ks	4	Předpokládá se zvýšení publikační činnosti (tématických polk v oboru řešeném projektem jak na vědecké tak odborné úrovni). Po skončení projektu se publikované poznatky stanou součástí výukových materiálů. Předpokládá se prezentace poznatků v přednáškách na odborných školách, univerzitách a před odbornou veřejností. Výsledky budou poskytnuty zdarma.
Přínos výzkumný	ks	10	Předpokládá se zvýšení publikační činnosti (tématických polk v oboru řešeném projektem jak na vědecké tak odborné úrovni). Po skončení projektu se poznatky stanou podklady pro rozvíjení následujících výzkumných činností pracovišť a tvorbu dalších vědeckých hypotéz v souladu s postupem poznání.
Přínos pro poradenství	ks	1	Předpokládá se vznik autorizovaného software pro plošné využití v rutinních mléčných laboratořích ČMSCH k identifikaci a řízení prevence a profylaxe subklinických ketóz včetně opatření ve welfare dojených zvířat v praxi v kontrole mléčné užitkovosti (KU) ČR. Interpretace výsledků KU softwarem bude zdrojem budoucí poradenské činnosti instituce ČMSCH.

Hlavní ekonomické přínosy výsledků u budoucích uživatelů

Ukazatel	Jednotka	Hodnota ukazatele	Zdůvodnění hodnoty
Tržby	tis. Kč	25470	Kvalifikovaný odhad je stanoven na rok, přičemž efekt má opakovatelný charakter alespoň pro období 10 roků. Předpokládají se tržby u uživatele patentu při produkci nové metody stanovení koagulace laktoproteinů (270 tis. Kč) a dále zvýšené tržby prvovýrobců za mléko vyšší kvality v důsledku aplikace vyvinutého software a poradenství v oboru identifikace prevence a profylaxe subklinických ketóz (zapojeno 10 % producentů v KU tedy cca 35 000 dojníc s průměrnou produkcí 2000 kg mléka za rok, tzn. 280 000 000 kg mléka a zlepšenou cenou za kg v důsledku růstu kvality z eliminace vlivu subklinických ketóz o 0,05 Kč a při zvýšení produkce těchto z s uplatněnou prevencí o 0,3 % a ceně mléka 9 Kč/kg, je rovno 560 tis. Kč) a následně vyšší tržby zpracovatelů (zlepšení koagulace a zvýšení výtěžnosti u 10 % relevantního objemu mléka o 1 % při ceně 130 Kč/kg, je rovno 3 640 tis. Kč) za zvýšenou možnost produkce výrobků s vyšší přidanou hodnotou (zejména v sýrařství).
Zisk	tis. Kč	2547	Zisk je kalkulován jako 10 % z předpokládaných tržeb.
Export	tis. Kč	364	Může být exportováno 10 % vyrobených sýrů z takto zvýšené produkce.
Nová pracovní místa	počet	4	Předpokládá se vznik 2 pracovních míst v souvislosti s rozvojem poradenství ve vazbě na autorizovaný software buď u uživatele výsledků v projektu, nebo přímo v terénu živočišné výroby. Předpokládá se vznik 2 pracovních míst v souvislosti s výrobou, distribucí a implementací nové metody stanovení koagulace laktoproteinů do rutinních nebo výzkumných laboratoří.

Jiné přínosy výsledků u budoucích uživatelů

Ukazatel	Jednotka	Hodnota ukazatele	Zdůvodnění hodnoty
Přínos pro welfare zvířat	tis. Kč	7560	Přínos pro welfare může být dán zlepšením prevence subklinických ketóz na základě aplikace software a poraden a může být reprezentován zvýšením produkce mléka u předpokládaného počtu dojnic (v KU, viz výše).
Přínosy rozvoji venkova	ks	2	Vznik nových pracovních míst na venkově a podpora sociální situace v důsledku podpory poradenství.
Přínos pro poradenství	ks	1	Nová metoda identifikace a řízení prevence a profylaxe subklinických ketóz z cílem zlepšit zdraví zvířat a kvalitu suroviny s ohledem na mlékárenskou výtěžnost.
Přínos výzkumný	ks	1	Nová analytická metoda použitelná v hodnocení sýrařských vlastností mléka k dispozici budoucímu výzkumu relevantních pracovišť a výzkumníků.
Přínos výzkumný	ks	1	Rozšíření a implementace aplikací metody MIR-FT k predikci účelům v mlékařství a dalším typům nových studií s možností praktické koncovky.
Přínos pro vzdělávání	ks	4	Přínos 4 témat pro vzdělávání studentů v oboru a relevantní odborné veřejnosti: interpretace složení mléka do prevence subklinických ketóz; inovace stanovení syřitelnosti mléka; polymorfismus a mastné kyseliny; predikce MIR-FT v mlékařství.

3.1.2. Potřebnost a aktuálnost projektu

Po vstupu do Evropské unie se české zemědělství ocitlo v tvrdém konkurenčním prostředí. Nejdramatičtější vývoj byl u živočišné výroby, kde u některých komodit, např. vepřového masa, došlo během několika let k poklesu soběstačnosti i 50%. Podobně stoupá dovoz mléčných výrobků. Zastavit resp. obrátit tento nepříznivý trend nelze bez nových vědecko-technických poznatků.

Předkládaný projekt se zabývá kvalitou mléka, zejména novými postupy kontroly jeho kvality. Významnou součástí projektu je analýza mléka odebíraného při kontrole užitečnosti k posouzení metabolického a zdravotního stavu dojnic.

V systému mléčných kvót, kdy je kvantita produkce limitována, je možné zlepšit ekonomické výsledky zemědělských a potravinářských podniků výhradně lepší kvalitou nabízených produktů a snižováním nákladů.

Projekt proto nabízí možnosti zlepšení kvality produkovaného mléka: 1 - využitím pravděpodobnostních programů kontroly pro eliminaci výskytu subklinických ketóz; 2 - zavedením nové metody kontroly koagulace laktoproteinů pro zlepšení řezných a zpracovatelských vlastností; 3 - šlechtitelskou prací, a to záměrným výběrem býků a krav s požadovanými genotypy s pozitivním účinkem v analyzovaných lokusech.

3.1.3. Vazba projektu na mezinárodní a nadnárodní projekt

Název organizace uchazeče	Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o
Název nadnárodního nebo mezinárodního programu	2013-2016 A European Network for Mitigating Bacterial Colonisation and Persistence on Foods Food Processing Environments, Action No. FA 1202.
Název řešeného mezinárodního projektu (EN + překlad)	Adhesion and Biofilm Formation of Probiotic Bacteria, Influence of Prebiotics Sledování adheze a tvorby biofilmů u probiotických bakterií a vliv prebiotik na jejich adhezi V podepsané příloze č. 6.7 a přiloženou kopií smlouvy se uchazeč Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. zavazuje zajistit vazbu podávaného projektu TechKval na uvedený mezinárodní projekt. V daném případě a při uvedeném tématu mezinárodního projektu to bude v části projektu TechKval zabývající se technologickými vlastnostmi mléka (syřitelností) a související pasterací, která je ohledem na technologické zařízení citlivá na tvorbu a eliminaci biofilmů jako hygienického fakt v potravinářské technologii.
Jméno řešitele z organizace uchazeče řešícího mezinárodní projekt	MVDr. Gabriela Kunová, Ph.D.

Povinná příloha č. 6.7: Doklad o přímé návaznosti na tématicky související mezinárodní projekt (tabulka podepsaná statutárním zástupcem), doklady s vyznačením požadovaných údajů (Smlouva o konsorciu k řešení mezinárodního projektu, případně potvrzení koordinátora mezinárodního výzkumného projektu nebo jiný prokazatelný doklad).

3.1.4. Vazba projektu na strategii ČR a EU dané problematiky a význam pro rozvoj oboru

Strategie bezpečnosti potravin a výživy 2014 – 2020 byla schválena usnesením vlády České republiky č. 25 ze dne 8. 11. 2014. Dokument deklaruje úzkou součinnost mezi resorty v zajištění systému bezpečnosti potravin v ČR. Dlouhodobým cílem Strategie je posílení ochrany a podpory zdraví a oprávněných zájmů spotřebitelů a rovněž posílení důvěry veřejný systém zajištění bezpečnosti potravin, jejich kvalitu a výživovou hodnotu. Dokument klade důraz na primární prevenci.

Zlepšení zdraví a potenciálu zvířat a kontroly kvality potravin a potravinových surovin zcela zapadá do koncepce programu KUS. Navrhovaná problematika řešení projektu vychází a navazuje na níže uvedené strategické dokumenty ČR a EU:

- Koncepce agrární politiky ČR pro období po vstupu do EU (2004 – 2013);
- Národní strategický plán rozvoje venkova České republiky na období 2007–2013, Praha, prosinec 2006;
- Koncepce potravinářství ČR pro období po vstupu ČR do EU (2004 – 2013).

Koncepce zemědělského aplikovaného výzkumu a vývoje do roku 2015, usnesení vlády č. 113 ze dne 26. 1. 2009, požaduje kvalitní a bezpečné potraviny a ovlivnění zdraví obyvatel výživou. Předkládaný projekt je v souladu s touto prioritou. Navržený projekt je i v souladu s koncepcí Potravinářské platformy a Koncepcí potravinářství ČR pro období po vstupu do EU.

Projekt navazuje na strategii zvýšení produkčního potenciálu hospodářských zvířat. Přispěje k zajištění dostatečného množství produkce kvalitních bezpečných potravin tuzemského původu pro výživu obyvatelstva. Zavedením nových šlechtitelských a analytických metod a technologického systému produkce kvalitních mléčných výrobků zvýší konkurenceschopnost českého zemědělství v podmínkách EU. Podpoří udržitelný rozvoj zemědělského sektoru a venkova ČR.

3.2. Cíl projektu

3.2.1. Cíl projektu

Cíle projektu jsou: - zlepšit zdravotní stav dojnic; - zlepšit složení produkovaného kravského mléka a jeho technologické vlastnosti; - inovovat metody kontroly jeho technologické kvality; - stanovit genotypy krav pro kappa-kasein, beta-kasein, beta-laktoglobulin, zjistit složení mléka, provést detailní analýzu koagulačního procesu v mléce, zjistit rozdíly mezi genotypy; - stanovit genotypy krav pro DGAT1 a FASN, zjistit složení mléka, provést analýzu spektra mastných kyselin mléčném tuku, zjistit rozdíly mezi genotypy.

Očekávaným přínosem je zvýšení kvality produkovaného mléka, což umožní zvýšit kvalitu vyráběných potravin. Navazujícím přínosem je vyšší konkurenceschopnost zemědělských a potravinářských podniků vnesením vyšší přidané hodnoty do mlékárenské produkce.

3.2.2. Termíny řešení projektu

3.2.2.1. Zahájení řešení projektu	1.4.2015
3.2.2.2. Ukončení řešení projektu	31.12.2018

3.3. Plánované výsledky/nové znalosti projektu

3.3.1. Výsledek projektu

Identifikační číslo výsledku	Název výsledku	Termín dosažení výsledku	Termín realizace výsledku
V001	Výzkum a vývoj pravděpodobnostních predikčních modelů pro identifikaci a prevenci subklinické ketózy podle dynamiky individuálních výsledků složení a vlastností mléka	2018	2018
V002	Výzkum a vývoj nové elektrochemické metody stanovení dynamiky koagulace laktoproteinů pro sýrařství	2018	2018
V003	Analýza vztahů polymorfismu kandidátních lokusů k technologické kvalitě mléka a profilu mléčného tuku	2018	2018

3.3.1. Výsledek projektu

3.3.1.1. Identifikační číslo	V001
3.3.1.2. Název výsledku	Výzkum a vývoj pravděpodobnostních predikčních modelů pro identifikaci a prevenci subklinické ketózy podle dynamiky individuálních výsledků složení a vlastností mléka

3.3.1.3. Popis výsledku

Výzkum a vývoj pravděpodobnostních predikčních modelů proběhne na základě studia a vyhodnocení databáze výsledků složení individuálních vzorků z kontroly užitkovosti (ČMSCH). Sledovány budou vlivy chovatelských faktorů na složky a vlastnosti mléka dále vzájemné vztahy majoritních a minoritních mléčných ukazatelů se vztahem k energetickému metabolismu. Z vyhodnocení této databáze a dále z analýz a ověření vlivu krmného podání energetických preparátů na metabolismus dojnic (vzorky krve mléka a moče) vzejdou pravidla rutinní interpretace výsledků mléčných ukazatelů dle prevence subklinických ketóz. Na tomto základě budou konstruovány pravděpodobnostní interpretační a predikční softwarové nástroje k praktické identifikaci subklinických ketóz k použití v rutinní kontrole užitkovosti. Souběžně budou v odebraných vzorcích mléka zaznamenány IR spektrogramy prostřednictvím metody MIR-FT pro analýzu její predikční způsobilosti k odhadu ketózního stavu dojnic v časně laktaci.

	Forma výsledku
3.3.1.4. Formy výsledku	Nmet – certifikovaná metodika, Nmap – specializovaná mapa, Nlec – léčebný postup
	R – software
	Jimp – článek v impaktovaném časopise, Jneimp – článek v odborném periodiku, který je obsažen v databázi ERIH
	Jrec – článek v odborném periodiku, které je zařazeno v aktuálním Seznamu neimpaktovaných recenzovaných periodik
3.3.1.5. Termín dosažení výsledku - rok	2018
3.3.1.6. Potenciální odběratel	
Českomoravská společnost chovatelů ve svých mléčných laboratořích kontroly užitkovosti a jejich prostřednictvím chov dojeného skotu. Poradci v prvovýrobě mléka. Univerzity s výukou mlékařské technologie, veterinární a zemědělské fal	
3.3.1.7 Způsob komercializace nebo jiného uplatnění	
Certifikované metodiky a autorizované software budou předány bezplatně ČMSCH. Samotná aplikace materiálů, případ další vývoj, mohou být následně zpoplatněny jako rozšíření servisu kontroly užitkovosti.	
3.3.1.8. Termín realizace výsledku	2018

3.3.2. Výsledek projektu

3.3.2.1. Identifikační číslo	V002
3.3.2.2. Název výsledku	Výzkum a vývoj nové elektrochemické metody stanovení dynamiky koagulace laktoproteinů pro sýrašství
3.3.2.3. Popis výsledku	
Nová elektrochemická metoda pro stanovení enzymatické koagulace laktoproteinů pro technologické využití bude navrhu konstruována (v konfiguraci relevantního elektrochemického čidla, peristaltické pumpy a PC pro řízení přístroje), testována a validována včetně výzkumu a definice dalších ukazatelů syřitelnosti na různých vzorcích mléka. Validací data budou statisticky zpracována, vyhodnocena a publikována. Získané výsledky přinesou pravidla pro algoritmus a software k interpretaci výsledků této metody v praxi technologických mléčných laboratořích. Souběžně budou v odebraných vzorcích mléka zaznamenány IR spektrogramy prostřednictvím metody MIR-FT pro analýzu její způsobilosti k predikci vhodnosti mléka k syření.	
	Forma výsledku
3.3.2.4. Formy výsledku	P - patent
	Nmet – certifikovaná metodika, Nmap – specializovaná mapa, Nlec – léčebný postup
	R – software
	Jimp – článek v impaktovaném časopise, Jneimp – článek v odborném periodiku, který je obsažen v databázi ERIH
	Jrec – článek v odborném periodiku, které je zařazeno v aktuálním Seznamu neimpaktovaných recenzovaných periodik
3.3.2.5. Termín dosažení výsledku - rok	2018
3.3.2.6. Potenciální odběratel	
Mléčné laboratoře univerzit, výzkumných ústavů a mlékáren se sýrašským zaměřením.	
3.3.2.7 Způsob komercializace nebo jiného uplatnění	
Certifikovaná metodika bude předána bezplatně potenciálním uživatelům metody. Prodej vlastního analytického přístroje potenciálního výrobce, podle uzavřených licenčních smluv přes Bentley Czech do rutinních mléčných laboratořích. Dále v vybavených laboratořích také výsledky syřitelnosti jako komerční analýzy.	

3.3.2.8. Termín realizace výsledku	2018
------------------------------------	------

3.3.3. Výsledek projektu

3.3.3.1. Identifikační číslo	V003
3.3.3.2. Název výsledku	Analýza vztahů polymorfismu kandidátních lokusů k technologické kvalitě mléka a profilu mléčného tuku
3.3.3.3. Popis výsledku	Vědecká analýza vztahů polymorfismu vybraných kandidátních lokusů k syřitelnosti a dalším ukazatelům technologické kvality mléka a skladbě mastných kyselin mléčného tuku proběhne u dojnic vybraných podle genotypu. Genotypizace lokusů pro proteiny kaseinové a syrovátkové frakce kravského mléka a lokusů pro DGAT1 a FASN bude provedena technikami TaqMan Genotyping Assay nebo polymerázová řetězová reakce a polymorfismus délky restrikčních fragmer PCR/RFLP. Budou stanoveny rozdíly v koagulaci kravského mléka v závislosti na polymorfnní variantě proteinů kaseinové syrovátkové frakce. Souběžně budou v odebraných vzorcích mléka zaznamenány IR spektrogramy prostřednictvím me MIR-FT pro analýzu její predikční způsobilosti k typování laktoproteinů. U dojnic vybraných podle genotypu pro DGAT1 FASN bude provedeno stanovení profilu mléčného tuku, budou stanoveny rozdíly ve spektru mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu.
3.3.3.4. Formy výsledku	Forma výsledku
	Nmet – certifikovaná metodika, Nmap – specializovaná mapa, Nlec – léčebný postup
	Jimp – článek v impaktovaném časopise, Jneimp – článek v odborném periodiku, který je obsažen v databázi ERIH
	Jrec – článek v odborném periodiku, které je zařazeno v aktuálním Seznamu neimpaktovaných recenzovaných periodik
	D – článek ve sborníku
3.3.3.5. Termín dosažení výsledku - rok	2018
3.3.3.6. Potenciální odběratel	Chovatelské svazy, mlékárny a zemědělské podniky s dodávkou mléka do sýráren. Soukromé farmy s produkcí sýrů. Poradci v prvovýrobě mléka. Univerzity s výukou mlékařské technologie, veterinární a zemědělské fakulty.
3.3.3.7 Způsob komercializace nebo jiného uplatnění	Certifikovaná metodika bude předána bezplatně potenciálním uživatelům – chovatelským svazům. V případě finančního zvýhodnění lepší syřitelnosti ve farmářské ceně mléka budou chovatelé podporující tuto vlastnost, např. šlechtěním nel prevencí výskytu produkčních poruch dojnic, příjemci vyšších plateb.
3.3.3.8. Termín realizace výsledku	2018

Rekapitulace výsledků do RIV

Počet výsledků RIV dosažených tímto projektem podle jednotlivých druhů výsledku RIV	Počet výsledků RIV - 1. rok řešení 2015 (počet)	Počet výsledků RIV - 2. rok řešení 2016 (počet)	Počet výsledků RIV - 3. rok řešení 2017 (počet)	Počet výsledků RIV - 4. rok řešení 2018 (počet)	Poč výsle CELK
P – patent			1		1
Zpolop – poloprovoz					0
Ztech – ověřená technologie					0
Zodru – odrůda					0
Zplem – plemeno					0
Fuzit – užitný vzor					0
Fprum – průmyslový vzor					0
Gprot – prototyp					0
Gfunk – funkční vzorek					0
Nmet – certifikovaná metodika	1	2	1		4
Nmap – specializovaná mapa					0
Nlec – léčebný postup					0
R – software			1	2	3
Hleg – výsledky promítnuté do právních předpisů a norem					0
Hneleg – výsledky promítnuté do směrnic a předpisů nelegislativní povahy...					0
Hkonc – výsledky promítnuté do schválených strategických a koncepčních dokumentů...					0
Jimp – článek v impaktovaném časopise			1	4	5
Jneimp – článek v odborném periodiku, který je obsažen v databázi ERIH					0
Jsc – článek v odborném periodiku, který je v databázi SCOPUS					0
Jrec – článek v odborném periodiku, které je zařazeno v aktuálním Seznamu neimpaktovaných recenzovaných periodik	2	5	1		8
B – odborná kniha					0
C – kapitola v odborné knize					0
D – článek ve sborníku	1				1
A – audiovizuální tvorba					0
E – uspořádání výstavy					0
M – uspořádání konference					0
W – uspořádání workshopu					0

O – ostatní výsledky					0
Celkem	0	4	10	8	22

3.4. Dílčí cíle řešení

Dílčí cíle řešení projektu

Identifikační číslo	Název dílčího cíle	Datum zahájení	Datu ukonč
C001	Vyhodnotit databáze individuálních vzorků kontroly užítkovosti ČMSCH na potenciál predikovat podle skladby mléka výskyt subklinické ketózy v časně laktaci (V001)	1.4.2015	31.12.2016
C002	Konstruovat algoritmus a stvořit predikční software pro identifikaci subklinické ketózy a zlepšení její prevence a kvality mléka podle složek a vlastností mléka (V001)	1.1.2017	31.12.2016
C003	Provést depistáž subklinických ketóz v chovech dojených krav a experimentálně ověřit jejich profylaxi a dynamiku metabolických ukazatelů v tranzitním období (V001)	1.4.2015	31.12.2016
C004	Konstruovat zařízení a ověřit měřicí schopnosti nové elektrochemické metody stanovení koagulace laktoproteinů (V002)	1.4.2015	31.12.2016
C005	Definovat tradiční a nové parametry syřitelnosti u nové elektrochemické metody stanovení dynamiky koagulace laktoproteinů (V002)	1.1.2017	31.12.2016
C006	Využít polymorfismu proteinů kaseinové a syrovátkové frakce ke zvýšení kvality produkovaného mléka (V003)	1.4.2015	31.12.2016
C007	Stanovit spektra mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu pro DGAT1 a FASN (V003)	1.4.2015	31.12.2016

3.4.1. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.1.1. Definice dílčího cíle	
Identifikační číslo	C001
Název dílčího cíle	Vyhodnotit databáze individuálních vzorků kontroly užítkovosti ČMSCH na potenciál predikovat po skladby mléka výskyt subklinické ketózy v časně laktaci (V001)
Datum zahájení	1.4.2015
Datum ukončení	31.12.2016
3.4.1.2. Výsledky dílčího cíle	
Výsledky vyhodnocení databáze kontroly mléčné užítkovosti a odvozená pravidla interpretace výsledků. Bude kompletní vícerozměrná a vícefaktorová databáze individuálních vzorků kontroly užítkovosti s výsledky fyziologických a chovatelských mléčných ukazatelů (plemeno, sezóna, datum odběru, pořadí laktace, stadium laktace, dojivost, majoritní a minoritní mléčné ukazatele) a případně s dostupnými spektry MIR-FT. Budou statisticky vyhodnoceny vzájemné vztahy ukazatelů efekty pevných faktorů. Výsledky stanoví váhy výpovědní síly jednotlivých mléčných ukazatelů s ohledem na riziko výskytu subklinické ketózy. Budou získány podklady pro tvorbu pravděpodobnostních predikčních modelů identifikace subklinické ketózy pro zlepšení prevenčních postupů.	
3.4.1.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle	
Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Prezentace získaných výsledků na workshopech pořádaných chovatelem dojeného skotu a seminářích pro studenty uvedeného oboru v letech 2015 – 2016. Publikace v recenzovaném časopise a certifikovaná metodika.	
3.4.1.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle	
Získání databáze z kontroly užítkovosti potřebného kvalitativního i kvantitativního rozsahu.	

3.4.2. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.2.1. Definice dílčího cíle	
Identifikační číslo	C002
Název dílčího cíle	Konstruovat algoritmus a stvořit predikční software pro identifikaci subklinické ketózy a zlepšení je prevence a kvality mléka podle složek a vlastností mléka (V001)
Datum zahájení	1.1.2017
Datum ukončení	31.12.2018
3.4.2.2. Výsledky dílčího cíle	
Algoritmová transformace pravidel interpretace výsledků vyhodnocení souboru kontroly mléčné užitkovosti (C001) do autorizovaného software. Zohlednění poznatků z experimentů s profylaxí ketóz zkrmováním protektivních preparátů (C003). Na základě uvedených podkladů bude vytvořen pravděpodobnostní predikční model pro kontrolu výskytu subklinických ketóz v kontrole mléčné užitkovosti (laboratoře ČMSCH).	
3.4.2.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle	
Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Prezentace získaných výsledků na workshopech pořádaných personálem mléčných laboratoří a seminářích pro chovatele a studenty zootechniky a veterinářství. Publikace v recenzovaném časopise, autorizovaný software, certifikovaná metodika.	
3.4.2.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle	
Nalezení vhodných vztahů mléčných ukazatelů k subklinické ketóze v hodnoceném souboru (C001) kontroly užitkovosti. Potvrzení výzkumných hypotéz C001 a C003.	

3.4.3. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.3.1. Definice dílčího cíle	
Identifikační číslo	C003
Název dílčího cíle	Provést depistáž subklinických ketóz v chovech dojených krav a experimentálně ověřit jejich profylaxi a dynamiku metabolických ukazatelů v tranzitním období (V001)
Datum zahájení	1.4.2015
Datum ukončení	31.12.2018
3.4.3.2. Výsledky dílčího cíle	
Vyhodnocení krmných pokusů s monenzinem u rizikově ketózních dojnic pro navození profylaxe subklinických ketóz. Vybrané skupině vysoce laktujících holštýnských dojnic ve stádě s objektivně zvýšenou incidencí ketóz bude podáván jednorázově monenzin. Výsledky vzorků krve, mléka a moče budou analyzovány a hodnoceny s ohledem na možnost posouzení vlivu monenzinu v profylaxi subklinické ketózy. Budou vyhodnoceny IR spektrogramy pro analýzu jejich preciznosti k odhadu ketózního stavu dojnic v časně laktaci. Podklady pro pravidla k tvorbě algoritmu interpretačního software k pravidelné kontrole výskytu subklinických ketóz (C002) v kontrole užitkovosti.	
3.4.3.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle	
Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Přednášky univerzitním studentům potravinářských, zootechnických a veterinárních oborů o profylaxi subklinických ketóz. Publikace v recenzovaných a odborných časopisech.	
3.4.3.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle	
Nalezení vhodných vysoceužitkových stád dojnic se zvýšeným výskytem subklinických ketóz a umožněný přístup k vybraným zvířatům pro aplikaci profylaxe. Potvrzení výzkumné hypotézy dílčího cíle.	

3.4.4. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.4.1. Definice dílčího cíle	
Identifikační číslo	C004
Název dílčího cíle	Konstruovat zařízení a ověřit měřicí schopnosti nové elektrochemické metody stanovení koagulu laktoproteinů (V002)

Datum zahájení	1.4.2015
Datum ukončení	31.12.2017

3.4.4.2. Výsledky dílčího cíle

Konstrukce elektrochemického čidla pro snímání koagulace bílkovin mléka. Výsledky kontrolních a testovacích měření. Stanovení vztahu výsledků nové metody k referenčnímu postupu. Bude navrženo elektrochemické čidlo pro modelově syřené vzorky mléka. Navržené čidlo bude konstruováno a ověřeno na sadě vzorků mléka. Postup bude ověřen na mléce kravském, kozím a ovčím. Bude vypočtena míra vztahu výsledků elektrochemického čidla k referenčnímu postupu syřitelnosti a získány podklady pro validaci nového postupu.

3.4.4.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle

Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Přednášky vysokoškolským studentům potravinářských a zootechnických oborů. Publikace v recenzovaném časopise. Patent.

3.4.4.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle

Potvrzení výzkumné hypotézy návrhem funkčního elektrochemického čidla pro měření dynamiky koagulace laktoprotei

3.4.5. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.5.1. Definice dílčího cíle

Identifikační číslo	C005
Název dílčího cíle	Definovat tradiční a nové parametry syřitelnosti u nové elektrochemické metody stanovení dynamiky koagulace laktoproteinů (V002)
Datum zahájení	1.1.2017
Datum ukončení	31.12.2018

3.4.5.2. Výsledky dílčího cíle

Definice případných nových ukazatelů syřitelnosti. Validace nové metody určením statistických parametrů jako opakovatelnost, reprodukovatelnost, a nejistota měření. Software k interpretaci výsledků měření nové elektrochemické metody měření syřitelnosti. Bude měřena dynamika záznamů čidla a provedena analýza časových křivek koagulace laktoproteinů. Bude proveden výpočet validačních parametrů nové metody a odhadnuty jejich limity přijatelnosti pro du uživatele technologického analytického postupu. Budou vyhodnoceny IR spektrogramy pro analýzu jejich způsobilosti k predikci vhodnosti mléka k syření.

3.4.5.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle

Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Přednášky vysokoškolským studentům potravinářských a zootechnických oborů. Publikace v recenzovaném časopise, certifikovaná metodika, autorizovaný software.

3.4.5.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle

Potvrzení výzkumné hypotézy návrhem funkčního elektrochemického čidla pro měření dynamiky koagulace laktoprotei jeho chování podle výzkumných předpokladů.

3.4.6. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.6.1. Definice dílčího cíle

Identifikační číslo	C006
Název dílčího cíle	Využit polymorfismu proteinů kaseinové a syrovátkové frakce ke zvýšení kvality produkované mléka (V003)
Datum zahájení	1.4.2015
Datum ukončení	31.12.2018

3.4.6.2. Výsledky dílčího cíle

Databáze identifikovaných polymorfních systémů laktoproteinů ve vztahu k technologické kvalitě mléka a výsledky příslušného statistického vyhodnocení. Pokud možno zobecnění závěrů výzkumu pro podporu technologické kvality mléka. Budou stanoveny rozdíly v koagulaci kravského mléka v závislosti na polymorfní variantě proteinů kaseinové a syrovátka frakce. Budou vyvozeny závěry pro varianty možného praktického využití výzkumně získaných poznatků. Budou vyhodnoceny IR spektrogramy na jejich predikční schopnost pro odhad specifického genetického založení vzorkovaného jedince.

3.4.6.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle

Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Přednášky vysokoškolským studentům potravinářských, zootechnických a veterinárních oborů. Publikace v recenzovaném časopise, certifikovaná metodika.

3.4.6.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle

Potvrzení výzkumné hypotézy vlivu genetických laktoproteinových variant na technologickou kvalitu mléka. Nalezení vhodných zvířat stejných polymorfních genotypů ve vybraných laktoproteinových systémech u různých dojených plemen skotu.

3.4.7. Dílčí cíl řešení projektu

3.4.7.1. Definice dílčího cíle

Identifikační číslo	C007
Název dílčího cíle	Stanovit spektra mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu pro DGAT1 a FASN (V003)
Datum zahájení	1.4.2015
Datum ukončení	31.12.2018

3.4.7.2. Výsledky dílčího cíle

Databáze identifikovaných polymorfních systémů kandidátních lokusů DGAT1 a FASN ve vztahu k technologické kvalitě mléčného tuku z pohledu profilu mastných kyselin a výsledky příslušného statistického vyhodnocení. Pokud možno zobecnění závěrů výzkumu pro podporu technologické kvality mléčného tuku. Budou stanoveny rozdíly v profilu mléčného tuku v závislosti na polymorfní variantě lokusů pro DGAT1 a FASN. Z výzkumu budou vyvozeny závěry pro varianty možného praktického využití nově získaných poznatků.

3.4.7.3. Forma zpracování a předání výsledků dílčího cíle

Oponované výroční zprávy a oponovaná závěrečná zpráva. Přednášky vysokoškolským studentům potravinářských, zootechnických a veterinárních oborů. Publikace v recenzovaném časopise.

3.4.7.4. Kritické předpoklady dosažení dílčího cíle

Potvrzení výzkumné hypotézy vlivu genotypu kandidátních lokusů na technologickou kvalitu mléčného tuku. Nalezení vhodných zvířat stejných polymorfních typů ve vybraných lokusech u různých dojených plemen skotu.

4. Plán projektu

4.1. Metodika řešení

Dílčí cíl C001 (V001): Vyhodnotit databáze individuálních vzorků kontroly užítkovosti ČMSCH na potenciál predikovat pskladby mléka výskyt subklinické ketózy v časné laktaci

Hypotéza: Mléko nese ve svém měřitelném složení a vlastnostech (MIR-FT) otisk vlivu subklinické ketózy z energetické deficiencie počátku laktace s diferenčním potenciálem pro hodnocení pravděpodobnostními statistickými metodami využitelným v predikčních modelech identifikace příslušného onemocnění.

Vícerozměrné a vícefaktorové statistické databáze individuálních vzorků kontroly užítkovosti ČMSCH (řádově n = desetitisíce analýz) se zaznamenanými výsledky fyziologických a chovatelských mléčných ukazatelů z kontrolních dnů (plemeno, sezóna, datum odběru, pořadí laktace, stadium laktace, doživost, tuk, bílkoviny, laktóza, sušina tukuprostá, počet somatických buněk, močovina, ketony, volné mastné kyseliny a kyselina citronová) a případně s dostupnými archivovanými spektry MIR-FT budou statisticky vyhodnoceny na vzájemné vztahy ukazatelů a efekty pevných faktorů mléčné ukazatele metodami lineární a nelineární regrese, vícefaktorové analýzy variance a metodou hlavních kompon. Výsledky poslouží ke stanovení vah výpovědní síly jednotlivých mléčných ukazatelů s ohledem na riziko výskytu subklinické ketózy v časné laktaci, které bude definováno specifickými limity (výstupy dřívějších výzkumů řešitelského pracoviště) vybraných ukazatelů jako: pokles doživosti; obsah ketonů; hodnoty mléčných ketózních koeficientů (tuk/bílkoviny; tuk/laktóza). Budou tak získány podklady pro tvorbu pravděpodobnostních predikčních modelů identifikace subklinické ketózy pro možnost praktického zlepšení preventivních postupů.

Na práci se bude podílet: Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha (VÚM Praha); Bentley Czech s.r.o. (BEN); Českomoravská společnost chovatelů a.s. (ČMSCH).

Harmonogram prací:

- kompletace vícerozměrných a vícefaktorových databází individuálních vzorků kontroly užítkovosti – 2015;
- statistické vyhodnocení vzájemných vztahů - 1/2 2016;
- podklady pro tvorbu pravděpodobnostních predikčních modelů identifikace subklinické ketózy – 2/2 2016;
- vyhodnocování pro publikace – 2/2 2016.

Dílčí cíl C002 (V001): Konstruovat algoritmus a stvořit predikční software pro identifikaci subklinické ketózy a zlepšení j prevence a kvality mléka podle složek a vlastností mléka

Hypotéza: Získané výsledky analýz individuálního mléka a odhady relevantních vlivných faktorů chovu dojníc poskytno vyhovující pravděpodobnost predikce výskytu subklinické ketózy v časné laktaci.

Na základě výsledků získaných v C001 a jejich statistického vyhodnocení, které vymezí význam a váhy jednotlivých mléčných ukazatelů (v individuálních vzorcích mléka) a pevných efektů s ohledem na výskyt subklinické ketózy v časné laktaci a dále podle poznatků získaných ke stejnému problému v řešení C003 (experimentální prevence a ošetření ketó) bude vytvořen algoritmus a konstruován model pravděpodobnostního predikčního software pro laboratoře ČMSCH k predikci, identifikaci a prevenci výskytu subklinické ketózy v chovech dojníc zapojených do kontroly užítkovosti.

Na práci se bude podílet: VÚM Praha; BEN.

Harmonogram prací:

- pravidla interpretace výsledků ze souborů KU – 1/2 2017;
- algoritmová transformace pravidel interpretace výsledků – 2/2 2017;
- tvorba autorizovaného software – 1/2 2018;
- test pravděpodobnostního predikčního modelu - 2/2 2018;
- vyhodnocování pro publikace a certifikované metodiky – 2/2 2018.

Dílčí cíl C003 (V001): Provést depistáž subklinických ketóz v chovech dojených krav a experimentálně ověřit jejich prof a dynamiku metabolických ukazatelů v tranzitním období

Hypotéza: Vybraný profylaktický preparát vykazuje propionopoetický efekt, podporuje fyziologickou cestou energeticko-zaopatření organismu přežvýkavce a zajišťuje prevenci vzniku energetického deficitu v metabolismu vysoce laktující dojnice.

Na základě zhodnocení metabolických ukazatelů indikujících energetický deficit a ketogenezi bude ve vybraných chovech dojených krav vyhodnocena prevalence subklinických ketóz.

Vybrané skupině vysoce laktujících holštýnských dojnic ve stádě s objektivně zvýšenou incidencí ketóz bude v rámci pokusného sledování podle časově sekvencované metody (harmonogramu) s ohledem na fázi laktace (3 týdny před porodem a 10 týdnů po porodu) podáván per os jednorázově monenzin v množství umožňujícím navodit v metabolismu propionopoetický efekt.

Během pokusu budou odebírány, pravidelně podle harmonogramu, vzorky mléka, moče a krve. Tyto budou analyzovány složky, metabolity a enzymy, které jsou typicky účastny v energetickém metabolismu savce. Dále pro relevantní vzork mléka bude pořízena databáze spekter MIR-FT. Výsledky po vyhodnocení poskytnou metodický podklad pro řešení C00

Na práci se bude podílet: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta (JU-ČB ZF); VÚM; BEN; ČM;

Harmonogram prací:

- metodická příprava experimentů s monenzinem – 1/2 2015;
- depistáž výskytu subklinických ketóz – 2/2 2015;
- provádění pokusů s monenzinem – 2016 a 2017;
- vyhodnocování výsledků experimentů z monenzinem – 2/2 2016 a 2/2 2017;
- odvozování pravidel identifikace a profylaxe subklinických ketóz podle experimentálních výsledků pro autorizovaný software – 2/2 2017;
- hodnocení IR spektrogramů pro účely predikce subklinických ketóz - 2018;
- vyhodnocování pro publikace – 2/2 2016, 2/2 2017 a 2/2 2018.

Dílčí cíl C004 (V002): Konstruovat zařízení a ověřit měřicí schopnosti nové elektrochemické metody stanovení koagulace laktoproteinů

Hypotéza: Technologické enzymatické sladké srážení mléčných bílkovin na sýřeninu může být v časové dynamice sním elektrochemickým čidlem ve významné korelaci k tradičnímu záznamu syřitelnosti.

Bude navrženo elektrochemické čidlo pro modelově sýřené vzorky mléka při fyziologické teplotě. K sladkému sýření bude použito relevantní ředění chymozinového nebo jiného bakteriálního syřidla (reniláza). Koagulace laktoproteinů bude za popsáných podmínek adjustována referenčně na čas 1 až 2 minuty.

Navržené čidlo bude konstruováno a ověřeno na sadě vzorků mléka ($n = 100$ až 150 , bazénové i individuální pro dosažení zřetelné variability ukazatele času koagulace). Postup bude ověřen na mléce kravském, kozím a ovčím.

V rámci validace metody: - odečty čidla budou korelovány k výsledkům tradičně stanoveného času koagulace laktoproteinů; - statisticky budou stanoveny těsnost závislosti mezi metodami (korelace); bude stanovena variabilita individuálních diferencí mezi metodami; bude stanovena variabilita opakovatelnosti měření metody.

Na práci se bude podílet: BEN; VÚM Praha.

Harmonogram prací:

- návrh konstrukce elektrochemického čidla pro snímání koagulace bílkovin mléka (SKBM) – 2015;
- konstrukce elektrochemického čidla pro SKBM – 1/2 2016;
- ověření elektrochemického čidla pro SKBM – 2/2 2016;

- vyhodnocení výsledků elektrochemického čidla pro SKBM – 1/2 2017;
- validace přístroje a elektrochemického čidla pro SKBM jako celé metody – 2/2 2017;
- vyhodnocování pro publikace – 2/2 2016 a 2/2 2017.

Dílčí cíl C005 (V002): Definovat tradiční a nové parametry syřitelnosti u nové elektrochemické metody stanovení dynamiky koagulace laktoproteinů

Hypotéza: Enzymatická koagulace laktoproteinů, zejména kaseinu, vytváří ve své časové dynamice změny elektrochemického potenciálu snímatelné vhodným čidlem a korelačně hodnotitelné k výsledkům tradičního popisu syřitelnosti jako technologické vlastnosti mléka.

Na modelových sadách vzorků mléka (C004) bude měřena a zaznamenána graficky na PC časová dynamika enzymatické koagulace laktoproteinů novou metodou elektrochemického měření. Získané výsledky budou zaneseny do databáze. V rámci validace metody budou vypočteny pomocí aplikace Gaussova modelu normální frekvenční distribuce konvenční (hladině 95 % pravděpodobnosti) limity pro směrodatnou odchylku individuálních diferencí k referenční metodě. Bude odhadnuta rozšířená kombinovaná nejistota výsledků měření syřitelnosti novou metodou.

U stejných vzorků mléka budou pořízeny záznamy IR spektrogramů metodou MIR-FT. Výsledky budou statisticky vyhodnoceny. Bude vyjádřen predikční potenciál metody MIR-FT pro odhad syřitelnosti syrového mléka. Dále bude statisticky analyzována grafika časové dynamiky koagulace laktoproteinů novou metodou. Podle výsledků budou navrženy možnosti a definice dalších doplňkových ukazatelů syřitelnosti na bázi nové metody. Podle získaných poznatků bude sestaven software pro práci s novým technologickým analytickým zařízením. Bude zpracována metodická příručka pro práci s metodou a uvedeny možnosti její efektivní aplikace v praxi (rutinní mléčné laboratoře, laboratoře mlékáren a univerzity).

Na práci se bude podílet: BEN; VÚM Praha.

Harmonogram prací:

- validace nové metody stanovení SKBM určením statistických parametrů – 2017;
- sestavení a strukturování databáze záznamů syřitelnosti pro účely analýzy dynamiky SKBM z C004 - 1/2 2017;
- analýza výsledků syřitelnosti (grafických časových záznamů průběhu SKBM) z testování a validace v C004 – 2/2 2017
- definice případných nových ukazatelů syřitelnosti na základě výsledků předchozí analýzy dynamiky SKBM - 1/2 2018;
- vyhodnocení IR spektrogramů k výsledkům stanovení SKBM pro analýzu jejich případné predikční způsobilosti - 2/2 2018
- vyhodnocování pro publikace a certifikované metodiky – 2/2 2018

Dílčí cíl C006 (V003): Využití polymorfismu proteinů kaseinové a syrovátkové frakce ke zvýšení kvality produkovaného mléka

Hypotéza: Varianty polymorfních systémů laktoproteinů v organismu savce korelují v rámci svých primárních (primární sekvence proteinů) a pleiotropních (zprostředkovaných přeneseně, metabolicky) účinků s některými technologickými vlastnostmi syrového mléka.

Vzorky budou odebírány z vybraných chovů s ohledem na vyrovnanost souboru, u dojnic budou stanoveny genotypy pro vybrané laktoproteiny (DNA bude izolována z biologických vzorků s použitím komerčně dostupných kitů).

Genotypizace lokusů pro proteiny kaseinové a syrovátkové frakce kravského mléka bude provedena technikami TaqMa Genotyping Assay nebo polymerázová řetězová reakce s navazující analýzou polymorfismu délkou restričních fragmentů PCR/RFLP. Techniky genotypizace jsou na spoluřešitelském pracovišti na Jihočeské univerzitě zavedeny, je k dispozici potřebné technické vybavení.

Budou stanoveny rozdíly v koagulaci kravského mléka (aplikace původní, ale případně i nové projektové metody stanovení koagulace laktoproteinů elektrochemicky C004) v závislosti na polymorfní variantě proteinů kaseinové a syrovátkové

frakce. Souběžně budou v odebraných vzorcích mléka zaznamenány IR spektrogramy prostřednictvím metody MIR-FT. budou analyzovány a statisticky vyhodnoceny s ohledem na jejich predikční schopnost pro odhad specifického genetického založení vzorkovaného jedince.

Rozdíly mezi genotypy resp. alelami budou hodnoceny vhodnou statistickou metodou s použitím dostupných statistických programů.

Na práci se bude podílet: JU-ČB ZF; BEN; VÚM Praha.

Harmonogram prací:

- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace – 2015;
- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace, vznik relevantní databáze – 2016;
- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace, strukturování databáze, začátek vyhodnocování – 2017;
- stanovení rozdílů technologických vlastností v závislosti na genotypu zvířat – 1/1 2018;
- vyhodnocení IR spektrogramů k výsledkům genotypizace pro možnost její predikce - 2/2 2018;
- vyhodnocování pro publikace – 2/2 2017 a 2/2 2018.

Dílčí cíl C007 (V003): Stanovit spektra mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu pro DGAT1 a FASN

Hypotéza: polymorfní varianty enzymů podílejících se na syntéze mléčného tuku v organismu savce mohou v rámci své pleiotropních účinků korelovat s některými vlastnostmi mléčného tuku podle zastoupení jeho mastných kyselin.

U dojnic vybraných podle genotypu (C006) bude v odebraných vzorcích mléka provedeno stanovení profilu mléčného tuku z hlediska mastných kyselin. Budou stanoveny rozdíly ve spektru mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu pro DGAT1 a FASN.

Pro spolehlivou identifikaci jednotlivých složek v takto složitých systémech je nutno používat odpovídající chromatografickou techniku. Zastoupení mastných kyselin ve vzorcích mléka bude stanoveno metodou plynové chromatografie (GLC) na přístroji Varian 3800 s detektory FID (plamenoionizační detektor) a MS (hmotnostní spektrometr) (Varian Techtron, US předchozí lyofilizaci vzorků, extrakci tuku a derivatizaci mastných kyselin na methylestery. Identifikace bude provedena pomocí MS a standardů firmy Supelco, mastné kyseliny budou vyjádřeny v poměru k celkovému obsahu mastných kyselin. Techniky pro analýzu spektra mastných kyselin jsou na spoluřešitelském pracovišti na Jihočeské univerzitě zavedeny, je k dispozici i potřebné technické vybavení.

Na práci se bude podílet: JU-ČB ZF.

Harmonogram prací:

- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace – 2015;
- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace, vznik relevantní databáze – 2016;
- výběr vhodných zvířat a jejich genotypizace, strukturování databáze, začátek vyhodnocování – 2017;
- stanovení rozdílů profilu mastných kyselin mléčného tuku v závislosti na genotypu zvířat – 1/1 2018;
- vyhodnocování pro publikace – 2/2 2018.

Analýzy vzorků mléka

- ve vzorcích mléka budou provedeny analýzy: tuk, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina, sušina tukuprostá (infračervená spektroskopie MIR a MIR-FT); močovina, aceton, kyselina citrónová (fotometricky referenčně a infračervená spektroskopie MIR-FT); volné mastné kyseliny (referenčně stlukem a MIR-FT);

- ve vzorcích mléka budou stanoveny fyzikální a technologické ukazatele: bod mrznutí mléka (kryoskopicky); titrační kyselost (SH); aktivní kyselost (pH); konduktivita; syřitelnost (koagulace laktoproteinů – čas koagulace, pevnost sýřer

se sýřícím enzymem aspekci a palpaci, následně pak pomocí nově zaváděné metody elektrochemicky (časová a grafická dynamika křivky koagulace – nová analýza);

- ve vybraných vzorcích mléka (V001, C003, V002, C005 a V003, C006), kde bude zajištěn popis zdravotního stavu dojiřitelnosti mléka referenčně a vliv polymorfismu kandidátních lokusů, budou metodou MIR-FT zaznamenány a archivovány IR spektrogramy Michelsonovým interferometrem pro vyhodnocení jejich predikční způsobilosti ke vztažené dokumentaci;

- ve vybraných vzorcích mléka (V002, C004 a C005) budou stanoveny mikrobiologické ukazatele (výběrově podle charakteru vzorku): počet somatických buněk (fluoro-opto-elektronicky, PSB); celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM); počet psychrotrofních mikroorganismů; počet termorezistentních mikroorganismů (vše plotnovými kultivačními metodami); hlavní původci mastitidy (Staphylococcus aureus a Streptococcus agalactiae kvantitativně, vše kultivačně).

Analýzy vzorků krve a moče

Ve vzorcích krve (krevní plazmy, krevního séra) (V001, C003) budou stanoveny:

- ukazatele energetického metabolismu a parametrů energetické adaptability: glukóza, lipidy, cholesterol, NEFA, triglyceridy (biochemický analyzátor Dialab, spektroskopické metody), hormony štítné žlázy (RIA metody) a tyreotropin (ELISA)

- ukazatele látkového metabolismu: bílkoviny krevní plazmy, močovina, jaterní enzymy, kreatinin (biochemický analyzátor Dialab, spektroskopické metody)

- ukazatele krvetvorby, homeostatické kapacity a odolnosti: hematologické parametry (hematologický analyzátor Dialab, frakce proteinů krevního séra (elektroforéza), imunoglobuliny G (ELISA)

Ve vzorcích moče (V001, C003) budou stanoveny: ketolátky, acidobazické parametry, močovina, minerální látky (biochemický analyzátor Dialab)

Hodnocení produkčních a zdravotních ukazatelů

- hodnocení výživného stavu (BCS), klinického stavu mléčné žlázy, parametrů užitkovosti a reprodukce (zdravotní a zootechnické záznamy, údaje kontroly užitkovosti)

Stanovení genetického polymorfismu:

DNA bude izolována z odebraných biologických vzorků za použití komerčních kitů. Genotyp pro kandidátní lokusy bude stanoven metodou TaqMan Genotyping Assay nebo polymerázová řetězová reakce s navazující analýzou polymorfismu restrikčních fragmentů PCR/RFLP, popř. jinou vhodnou metodou.

Statistické zpracování výsledků analýz mléka (hodnot a spekter MIR-FT), krve a moče

Vzorky mléka, krve a moče z výše uvedených experimentů, pokusných sledování a vývoje budou analyticky zpracovávány v laboratorních institucích a podnicích (převážně akreditovanými) řešitelů projektu metodami podle relevantních norem nebo standardních operačních postupů a na řádně udržovaných analytických zařízeních a přístrojích.

Pro vyhodnocení získaných výsledků o průběhu pokusných sledování a při kontrole zpracovatelské technologie budou použity a provedeny:

- běžné statistické metody výpočtu základních středních charakteristik a variability;

- výpočty empiricky i exaktně validovaných původních dat a v případě nenormální frekvenční distribuce budou v odůvodněných případech aplikovány relevantní transformace dat (např. u mikrobiologických ukazatelů jako PSB a CPM)

- významnosti diferencí mezi vlivy různých sledovaných faktorů budou testovány relevantními parametrickými metodami

- v případě potřeby budou pro testování vlivů použity také testy neparametrické podle charakteru distribuce dat;

- pro objektivní posouzení vztahů mezi sledovanými ukazateli budou použity lineární nebo nelineární regresní analýzy a korelační a determinační koeficienty;
- při vhodné konstelaci databází sledování s vhodným, tedy vyváženým rozložením sledovaných faktorů, bude použita jedno- nebo vícefaktorová analýza variance;
- pro vícerozměrné soubory a spektra MIR-FT budou aplikovány metoda vícenásobné regrese, metoda dvou hlavních komponent a případně clustrová analýza;
- pro grafické zobrazení tabulkových informací výsledků diferencí v důsledku dopadu experimentálně sledovaných faktorů zobrazení vztahů mezi parametry budou použity běžné histogramy, sloupcové grafy a distribuci dat názorně demonstrují krabicové grafy a rovněž klasické XY grafy pro vyjádření regresních závislostí mezi parametry.

4.2. Projektový a řešitelský tým

4.2.1. Představení týmu

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. se dlouhodobě zabývá výzkumem a vývojem v oblastech: posouzení prvovýrobních vlivů na kvalitu syrového mléka, zdraví zvířat a kvalitu mléčných produktů; zdravotní hygieny mléčné žlázy; vyšetření přítomnosti patogenních mikroorganismů, včetně stanovení citlivosti na ATB; nebezpečí vzájemného přenosu infekce mezi zvířaty nebo zvířetem a člověkem; vývojem rezistence k antibiotikům používaných při léčbě infekcí mléčné žlázy; poradenské služby v oblasti infekčních mastitid, složení mléka a mléčných výrobků; vývojem nových metod ke stanovení chemických, mikrobiologických, fyzikálních a fyzikálně-chemických a senzorických parametrů mléka a mléčných výrobků návrhů nových mléčných výrobků a jejich technologie zpracování včetně profylaktických produktů pro dojná zvířata (skot, ovce, kozy). V uvedených oborech vyvíjí právně chráněné výsledky a uvádí publikace v odborných a vědeckých časopisech.

Dalším účastníkem je Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Tým na Katedře zootechnických věd Zemědělské fakulty je tvořen zkušenými vědecko-pedagogickými a výzkumnými pracovníky, kteří se navrhovanou problematikou dlouhodobě zabývají. V posledních 20 letech publikovali řadu prací v impaktovaných vědeckých časopisech včetně renomovaných zahraničních periodik, jsou rovněž autory několika certifikovaných metodik a užitečných vzorů. Tématem jejich výzkumných aktivit byla genotypizace kaseinových lokusů skotu, dalších lokusů se vztahem k mléčné a masné užitkovosti skotu včetně DGAT1 a FASN, analýza dědičných poruch zdraví skotu, populačně genetické studie, vyhodnocení zdravotního stavu včetně metabolických profilů. V posledních letech pracoviště intenzivně rozvíjejí aktivity v oblasti kvality mléka, včetně analýz mastných kyselin v mléčném tuku. Členové týmu ovládají všechny metodiky potřebné k řešení projektu.

Řešitelský tým Českomoravské společnosti chovatelů, obor laboratoří, zastupují pracovníci vrcholového managementu tohoto odboru. Všichni mají dlouholeté zkušenosti s organizací laboratorních činností a se zajišťováním úkolů v rámci spolupráce na výzkumných projektech. Laboratoře LRM Buštěhrad a LRM Brno zajišťují v současné době veškeré analýzy mléka pro kontrolu mléčné užitkovosti dojnic, ovcí a koz a též převážnou většinu analýz pro stanovení hygienické a tržní kvality nakupovaného mléka. Personál laboratoří má tedy zkušenosti jak se zpracováním velkého množství vzorků na výkonných MIR-FT automatech, tak s mikrobiologickými analýzami bazékových vzorků mléka. Činnost a spektrum laboratorní činnosti je průběžně rozšiřováno v souvislosti s vybavováním laboratoří moderní technikou a potřebami chovatelské praxe. Členové řešitelského týmu mohou též využít svých dlouhodobých kontaktů na chovatele a přispět tím k výběru vhodných chovů pro zajištění plnění úkolů projektu. Tým řešitelů ČMSCH je doplněn vždy po dvou odborných pracovnících z každé laboratoře, kteří budou zajišťovat konkrétní laboratorní analýzy speciálně určené pro tento projekt. Plnění databáze výsledků projektu vybranými údaji. V neposlední řadě jsou členové řešitelského týmu, v souvislosti s rolí ČMSCH jako budoucího uživatele výsledků, odborně připraveni současně s postupem prací na projektu zajistit optimální uplatnění příslušných výsledků projektu v aplikacích pro chovatele a mlékárny.

Bentley s.r.o. se z hlediska projektu zabývá vývojem, výzkumem a službami (včetně obchodních) v oblasti analýzy mléka a vyhodnocení výsledků těchto analýz. Zaměřuje se především na vývoj v oblasti stanovení mléčných složek (včetně minoritních), v oblasti přístrojové techniky pro analýzu mléčných složek, počtu somatických buněk a bakteriální kontaminace mléka a vývoj vlastních produktů pro hygienu mléčné produkce – viz např. <http://www.bentleyczech.cz/pro-zemedelce/produkty-apibalm>, včetně vyhodnocení dopadů jejich používání a aktivní práci s uživateli výsledků – viz např. <http://www.bentleyczech.cz/clanky/113-zkusenosti-s-pouzivanim-postdipu-apibalm>. Aktivně se podílí na řešení několika výzkumných projektů a úzce spolupracuje se sférou uživatelů výsledků. Jako součást CEE konsorcia je předkladatelem několika patentů a užitečných vzorů souvisejících s mikrobiální kontaminací mléka/mléčné žlázy. V současné době disponuje cca 1/3 výzkumné kapacity mateřské firmy.

4.2.2. Projektový tým

Role	Název organizace	IČ	Adresa	Kontakty	Právní forma	Kategorie organizace
2	Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.	26722861	Ke dvoru 12a, Praha	235354551-2, www.vumlekarensky.cz	POO	výzkumná organizace
3	Českomoravská společnost chovatelů, a.s.	26162539	Benešovská 123, Hradištko	257 896 444, http://www.cmsch.cz/	POO	střední podnik
1	Bentley Czech s.r.o.	25307029	Počernická 96, Praha 10	222 363 900, http://www.bentleyczech.cz	POO	malý podnik
1	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích	60076658	Branišovská 31a, České Budějovice	+420387772591, www.jcu.cz	VVS	výzkumná organizace