

ABSTRAKT:

Diplomová práce se zabývá srovnáním kvality mléka ze dvou odlišných způsobů chovu, z chovu konvenčního a chovu ekologického. Sledováno bylo téměř sto mléčných parametrů na souboru 64 bazénových vzorků mléka.

Teoretická část diplomové práce zevrubně popisuje složení kravského mléka, jeho technologické a hygienické vlastnosti a připomíná nutriční význam mléka a mléčných výrobků. Dále zmiňuje nejdůležitější právní vymezení ekologického zemědělství.

Experimentální část shrnuje uspořádání pokusu, zmiňuje použité metody pro analýzu vzorků na jednotlivé mléčné parametry a detailně popisuje deset vybraných stanovení. Pomocí statistických metod byl sledován rozdíl v naměřených hodnotách mléčných ukazatelů v závislosti na způsobu chovu dojníc a v případě statistické významnosti tohoto rozdílu bylo navrženo jeho vysvětlení.

Tato diplomová práce vznikla na základě spolupráce Fakulty chemické VUT s Národní referenční laboratoří pro syrové mléko při Výzkumném ústavu pro chov skotu v Rapotíně.

ABSTRACT:

The diploma thesis focuses on the comparison of milk quality in two different ways of farming, conventional and organic farming. Almost a hundred parameters on the set of 64 bulk milk samples were monitored.

The theoretical part of the paper describes the composition of cow's milk in detail, its technological and hygienic properties and it notes the nutritional impact of milk and milk products. It also mentions the most important legal definition of organic farming.

Experimental part describes the setting of the experiment and mentions the methods used to analyze milk samples for individual parameters and it details the ten selected determination. The difference in measured values of various milk indicators depending on the dairy farm was observed by using statistical methods and an explanation was suggested in the case of the statistical significance.

The thesis was based on the cooperation of the Faculty of Chemistry VUT Brno and a National reference laboratory for raw milk at the Research Institute for Cattle Breeding in Rapotin.

KLÍČOVÁ SLOVA: ekologické zemědělství, mlékařství, složení kravského mléka, mléčný ukazatel, technologické vlastnosti

KEYWORDS: organic farming, dairying, bovine milk composition, milk indicator, technological properties

CERMANOVÁ, I. *Srovnání kvality mléka jako potravinové suroviny z konvenčních a ekologických hospodářských podmínek*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 70 s. Vedoucí diplomové práce doc.Ing.Oto Hanuš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi pomáhali při vzniku této práce, především však mému školiteli panu doc. Ing. Oto Hanušovi PhD. za poskytnuté materiály a připomínky. Také bych chtěla poděkovat jednateli společnosti VUCHS v Rapotíně panu Ing. Ondřejovi Koppovi za umožnění realizace diplomové práce a jednotlivým zaměstnancům, kteří se mi věnovali při laboratorních pracích, jmenovitě panu Jaroslavu Kopeckému a paní Ludmile Nejeschlebové.

OBSAH:

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Nutriční význam mléka a mléčných výrobků	8
2.2	Kravske mléko.....	8
2.3	Chov dojnic	9
2.4	Zdravotní stav dojnic.....	10
2.5	Fyziologie mléčné žlázy	10
2.6	Složení mléka	12
2.6.1	Voda	13
2.6.2	Sacharidy mléka	13
2.6.3	Mléčné bílkoviny.....	14
2.6.4	Mléčný tuk.....	15
2.6.5	Nebílkovinné dusíkaté látky	16
2.6.6	Minerální látky a stopové prvky.....	16
2.6.7	Vitamíny.....	17
2.6.8	Ketolátky	17
2.6.9	Cizorodé látky	18
2.6.10	Mikroorganismy	18
2.6.11	Enzymy.....	19
2.7	Technologické vlastnosti mléka	20
2.8	Očekávané vlastnosti mléka z ekologických chovů	21
2.9	Pohled na rozdílné způsoby zemědělství	22
2.10	Legislativní omezení ekologického zemědělství.....	23
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	25
3.1	Uspořádání experimentu a výběr hodnocených ukazatelů	25
3.2	Stanovení mléčných parametrů	26
3.2.1	Stanovení obsahu tuku acidometricky.....	30
3.2.2	Stanovení obsahu tuku gravimetricky	31
3.2.3	Stanovení obsahu laktosy	32
3.2.4	Stanovení sušiny.....	33

3.2.5	Stanovení kyselosti podle Soxhlet-Henkela	33
3.2.6	Stanovení obsahu hrubých bílkovin	34
3.2.7	Stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM)	36
3.2.8	Stanovení koliformních bakterií	37
3.2.9	Stanovení počtu somatických buněk (PSB)	38
3.2.10	Stanovení fosforu	39
3.3	Statistické vyhodnocení datových souborů	40
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
4.1	Rozdíl v obsahu majoritních a minoritních složek	42
4.1.1	Obsah tuku	43
4.1.2	Obsah laktosy	43
4.1.3	Obsah dusíkatých sloučenin	44
4.1.4	Obsah močoviny	44
4.1.5	Obsah acetonu a kyseliny citrónové	45
4.1.6	Obsah minerálních látek a stopových prvků	46
4.1.7	Profil aminokyselin (AK)	51
4.2	Rozdíl v technologických vlastnostech	53
4.3	Rozdíl v hygienických vlastnostech	54
5	ZÁVĚR	56
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	57
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	61
8	SEZNAM PŘÍLOH	62
9	PŘÍLOHY	63

1 ÚVOD

Historicko-demografický vývoj lidských kultur, jejich početnosti a jimi využívaných technologií zapříčinil, že v zemědělství ve světě vedle sebe existují dva systémy hospodaření, konvenční jako konečný článek dosavadního vývoje poznání a ekologický, jako staronový prvek a výsledek uvědomění si nezbytné šetrnosti k přírodním zdrojům [1]. Během posledních desetiletí roste zájem o řízení zemědělské produkce na více udržitelnou výrobu. Tento vývoj byl zaznamenán zejména v Evropě, kde je především podpořen spotřebitelskými obavami z využívání geneticky modifikovaných plodin, z kontaminace krmiv dioxiny nebo výskytem antibiotik a polychlorovaných bifenyly v potravinách [2].

Z uvedených důvodů vyplývá nezbytnost podpory ekologických forem šetrného hospodaření, ale také nezbytnost důsledné kontroly kvality potravinových řetězců. Dokladem tohoto vývoje jsou existence Zelené knihy jako všeobecných základů potravinářského práva v EU a Bílé knihy k zajištění bezpečnosti potravin a výživy [1].

Ekologický způsob produkce s sebou přináší nový pohled na kvalitu plodin. Jakost produktů pocházejících z ekologického zemědělství má zcela jiný rozměr, je chápána komplexněji jako výsledek kvality celého zemědělského systému. Významným rozdílem je celkový „zodpovědný“ pohled na problematiku životního prostředí s akcentem na trvalou udržitelnost [3].

Trh s ekologickými potravinami stoupá a zdá se být slibným i do budoucnosti. Existují však stále ještě velké rozdíly na trhu s ekologickými potravinami mezi jednotlivými zeměmi i mezi nabízenými produkty, např. konzumní mléka mají na trhu vyšší podíl v porovnání s produkty zpracovaného biomléka nebo produkovaného biomasa [4].

Poněvadž dosavadní administrativní koncepce ekologického zemědělského hospodaření vyšší kvalitu produktů a jejich pozitivní přínos pro zdraví spotřebitelů více méně pouze obecně předpokládá, je nyní nutné výzkumem ověřit platnost těchto hypotéz [1]. Srovnání dopadu těchto dvou odlišných způsobů hospodaření bude demonstrováno na chovu dojníc pomocí analýz složení a vlastností mléka od nich získaného. Vzorky mléka budou zkoumány podle jednotlivých parametrů, pomocí kterých se zjistí, které mléko je kvalitnější z pohledu spotřebitelů a zpracovatelů této potravinářské suroviny.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Nutriční význam mléka a mléčných výrobků

Podle dat zveřejněných Českým statistickým úřadem celková spotřeba mléka a mléčných výrobků (bez másla) činila v roce 2009 průměrně 249,7 kg na obyvatele a rok. Mléko konzumní v této sumě činí 58,9 kg, sýry 16,7 kg, z toho tvaroh 3,4 kg a dohromady ostatních mléčných výrobků 33,7 kg na osobu a rok. I když v roce 2009 celková spotřeba mléka a mléčných výrobků v České republice vzrostla v porovnání s rokem předchozím o 7 kg na obyvatele a rok, stále neodpovídá nutričnímu významu této potravinové komodity. Spotřeba másla stoupla ze 4,7 na 5,0 kg na osobu a rok a tato skutečnost je z nutričního pohledu méně vhodná [5].

Mléko a mléčné výrobky mají vysokou výživovou hodnotu. Bílkoviny mléčného séra mají po bílkovinách vaječných nejvyšší biologickou hodnotu danou zastoupením jednotlivých aminokyselin. Dále je mléko zdrojem řady vitaminů – A, D a karotenů, vitaminů skupiny B a minerálních látek, ze kterých si nejvíce ceníme vápníku. Mléko je na vápník bohaté a navíc jeho využitelnost je z mléka podstatně vyšší než z rostlinných zdrojů, a proto jsou mléko a mléčné výrobky jako zdroj vápníku nenahraditelné. To především z hlediska prevence závažného degenerativního onemocnění kostí osteoporózy, kterou v této zemi trpí až 800 000 obyvatel. Významný je i obsah zinku.

Z hlediska výživy jsou z mléčných výrobků nejvýznamnější kysané mléčné výrobky a sýry. Bílkoviny v těchto výrobcích jsou lépe stravitelné, protože jsou jemně vysráženy a částečně rozštěpeny mléčnými kulturami. Rovněž mléčný tuk je v nich snáze stravitelný. V kyselém prostředí se také lépe využívá vápník. V sýrech je vysoký obsah dobře využitelného vápníku (až 9 g.kg⁻¹). Sýry a kysané mléčné výrobky mohou konzumovat i osoby nesnášející laktosu, protože je z velké části přeměněna na kyselinu mléčnou. Tato kyselina navíc okyseluje prostředí tlustého střeva a tím brání hnilobným procesům [6]. Při zpracování je mléko vystaveno podmínkám, které snižují nejen obsahy vitaminů, ale také využitelnost aminokyselin, především aminokyseliny lysinu, která se účastní Maillardovy reakce [7].

2.2 Kravské mléko

U mláďat savců je mléko v prvním období života jedinou potravinou. Mléko je komplexní biologická tekutina, jejíž složení a fyzikální vlastnosti se liší od druhu k druhu a odráží nutriční potřeby mláďat. Obsahuje v dostatečném množství a optimálně vyváženém poměru všechny výživné i esenciální látky, které mladý organismus potřebuje pro stavbu a výživu těla. Jednotlivé složky mléka mají vysokou nutriční hodnotu a jsou v něm obsaženy ve snadno resorbovatelné formě [7]. Mléko domácích přežvýkavců patří mezi základní potraviny člověka na celém světě a nadále zůstává důležitou složkou stravy a důležitou surovinou pro výrobu bohatého sortimentu mléčných výrobků. I když významně převažuje mléko kravské, v některých oblastech světa je hlavním zdrojem obživy mléko koz a ovcí [8].

Chov skotu je hlavním a nezastupitelným odvětvím pro jeho důležitost při zajištění vhodné míry soběstačnosti v produkci živočišných bílkovin. Mléčná a masná užitkovost jsou hlavními užitkovými vlastnostmi skotu. Denní dojivost u specializovaných mléčných plemen se přitom na vrcholu laktace pohybuje nad úrovní 40 kg. U dojnic je docilována nejlepší konverze živin

při přeměně z určité části rostlinné produkce na živočišnou bílkovinu. V porovnání s mléčnou užitkovostí je konverze živin při produkci masa méně příznivá [9].

Zlepšila se také celá řada indikátorů kvality syrového mléka, zejména hygienických a zdravotních ukazatelů (celkový počet mezofilních bakterií a psychotropních bakterií, počet somatických buněk, rezidua inhibičních látek) na základě zvyšujících se požadavků s cílem přizpůsobit se požadavkům Evropského společenství (ES) na syrové kravské mléko určené pro výrobu tepelně ošetřeného mléka a mlékárenských výrobků pro vzájemný obchod v rámci ES [10]. Došlo ke změně vnímání mléka jako potraviny [11].

Mléko se tvoří v průběhu laktčního období kontinuálně v mléčných žláznatých tělesech vemene. Požadovaná roční periodicita telení krav a nutnost dvouměsíčního odpočinku krav před otelením vymezuje optimální délku laktace u dojených krav, která je 305 dní. Takovou laktaci považujeme za laktaci normovanou [9].

2.3 Chov dojníc

Nedávno prošla populace českých dojníc celou řadou výrazných změn. Změny se týkaly především jejich množství a plemenné struktury, neboť došlo k snížení stavů o 70 % z politických a ekonomických důvodů a ke změně poměru mezi dvěma hlavními dojnými plemeny (plemeno české strakaté a holštýnské plemeno). V důsledku genetického zlepšení a vhodnější výživy se zvýšila dojivost o 60 %. Dále byly zavedeny nové technologie chovu, např. směsné krmné dávky, dodávky krmných směsí, volné ustájení, dojírny s více šetrnými dojícími zařízeními, došlo k rozšíření služeb [11].

Mléčnou užitkovost krav ovlivňuje řada vnitřních i vnějších činitelů. Z vnitřních činitelů má zásadní význam plemenná příslušnost, ale také individualita dojnice, její věk nebo živá hmotnost. Nejdůležitějším vnějším faktorem je výživa a napájení krav. U vysoce užitkových krav je zabezpečení jejich správné výživy nazýváno „umění nakrmit“ zcela oprávněně. V poslední době se upřednostňují směsné krmné dávky zakládáné v pravidelných intervalech několikrát denně. Základem výživy krav musí být kvalitní objemová krmiva [9]. Složení krmiva, tedy zelená píce v létě nebo siláže a senáže v zimě, také představují sezónní vliv na kvalitu mléka. Mléko snadno přejímá z krmiva chuťové a pachové látky [12].

Skot dává přednost pití z volné hladiny, a proto mu více vyhovují napájecí žlaby než automatické napáječky. Také technologie chovu ovlivňuje velkou měrou mléčnou užitkovost krav, zejména zvolený systém ustájení, použité strojní linky krmení a technika dojení. Z klimatických faktorů je důležitá zejména teplota. Skot snáší spíše teploty nižší, vysoce užitkové dojnice mají za optimum teplotu blízkou nule. Při teplotách nad 23-25 °C dochází ke snížení intenzity látkového metabolismu a v důsledku toho k poklesu dojivosti [9].

Chov skotu je zdrojem znečišťování životního prostředí. Znečištění působí jednak emise škodlivých plynů, zvláště amoniaku a methanu a dále celá řada látek obsažených ve výkalech, především nitráty. Tyto látky vznikají jednak při vlastním trávicím procesu v těle zvířat a jednak rozkladem exkrementů na skládkách, na pastvinách a při nedostatečném odstraňování výkalů ve stájích a výběžích. Amoniak z ovzduší váže oxidy síry a dusíku, a to může způsobit eutrofizaci vod, okyselení půdy s následným toxickým účinkem na ekosystémy. Methan patří mezi plyny, které se podílí na tzv. „skleníkovém efektu“ a přispívá ke globálnímu oteplování zemského povrchu [13]. Ekologické zemědělství je šetrnější k životnímu prostředí zejména v důsledku nižšího eutrofizačního potenciálu ekologického stáda [14].

2.4 Zdravotní stav dojníc

Mastitidy, zánětlivé odpovědi mléčné žlázy způsobené zpravidla bakteriemi, jsou patrně nejnákladnější chorobami postihující dojnice a další mléčné druhy, protože dopadají na kvalitu mléka, živočišnou produkci a dobré životní podmínky zvířat [15]. Při mastitidě se mění složení mléka, mléko obsahuje méně kaseinu a laktosy, více chloridů, sérových bílkovin, zvláště imunoglobulinů a dalších antibakteriálních látek. Také se zhoršují jeho technologické vlastnosti [12].

Obvyklá příčina mastitid je bakteriální infekce *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* nebo také různými gram-negativními bakteriemi. *Staphylococcus aureus* způsobuje relativně mírné mastitidy, ale různé ko-infekce mohou vést k systémovým onemocněním a dokonce i ke smrti zvířete. Nakažlivá bakterie *Streptococcus agalactiae* byla z chovů dojníc prakticky eradikována vhodným použitím penicilinových antibiotik. Klasická léčba využívá antibiotické terapie. Vedle ní se mohou za určitých podmínek uplatnit i alternativy v podobě bylinných a homeopatických přípravků. Kritikou používání antibiotik k léčbě mastitidy je, že vede k vývoji rezistentních kmenů bakterií, které mohou být přeneseny na člověka [15].

V mlékařství se stále častěji prosazuje v podstatě ekologický názor nahradit plošný přístup aplikace antibiotik selektivním ošetřením podle výsledků monitoringu zdravotního stavu vemene v laktaci dle individuálních počtů somatických buněk. To jednak spoří náklady na léčiva, ale především snižuje riziko vzniku rezistence patogenů na antibiotická léčiva a snižuje riziko výskytu reziduí inhibičních látek v mléce [16].

Hlavním ukazatelem zdravotního stavu dojnice je počet somatických buněk mléka. Jedná se o buňky z epitelu mléčné žlázy při zánětu vemene, ale také o leukocyty. Somatické buňky mohou přímo ovlivňovat vlastnosti mléka aktivním enzymatickým systémem, např. antibakteriálními účinky zhoršují kvasnost mléka, jejich součástí jsou také aktivní lipasy [12].

2.5 Fyziologie mléčné žlázy

Mléčné žlázy jsou specifické orgány, které se vyskytují pouze u savců (třída *Mammalia*). Jedná se o modifikované kožní žlázy, jejichž sekreční buňky tvoří mléko. Vemeno dojnice bylo vyšetřeno zvláště u mléčných plemen v mohutný kulovitý orgán [8]. Pro produkci mléka je důležitý poměr žláznaté a pojivové tkáně mléčné žlázy. Vlastní vemeno představuje u krav vysoce aktivní část a tomu odpovídá i vysoce rozvinutý krevní a nervový systém. K vytvoření jednoho litru mléka musí vemenem protéci 500-800 litrů krve [9].

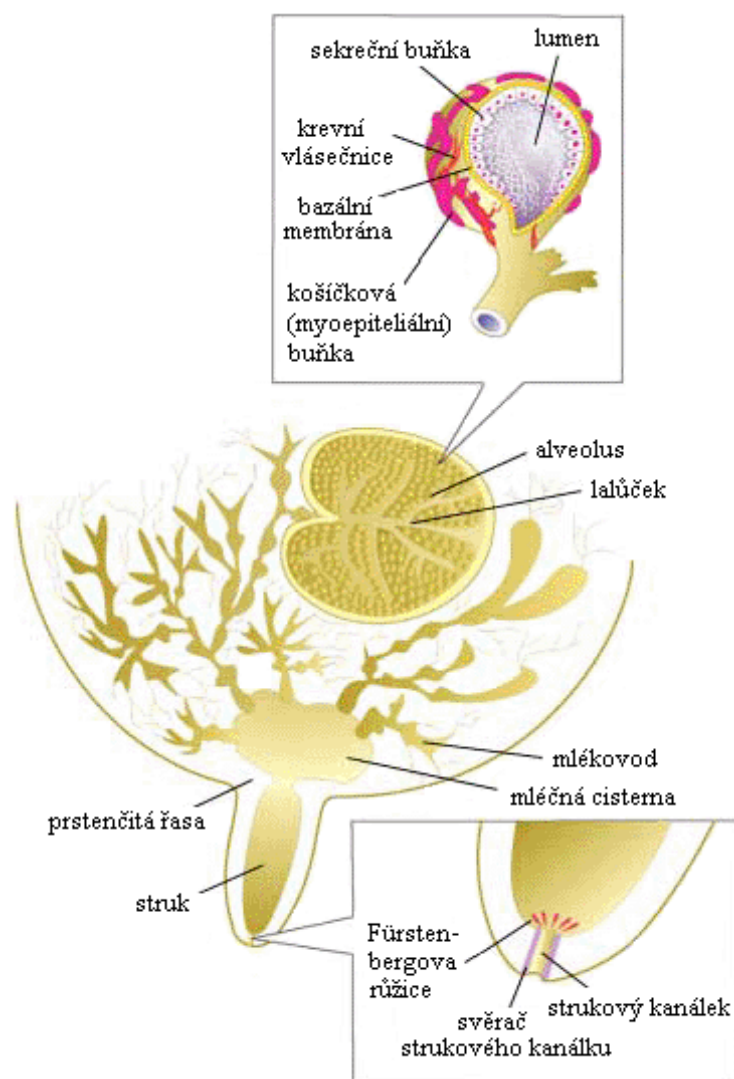
Vnitřní strukturu vemene tvoří žláznaté těleso, vývodné cesty žlázy a struk. Žláznaté těleso tvoří žlázový parenchym a stroma, tvořené vazivovým skeletem a tukovým polštářem vemena. Základ žlázového parenchymu představují početné dutinky mikroskopických rozměrů zvané mléčné alveoly a tubuly. Jsou seskupené do lalůček velikosti přibližně 0,5 – 1,5 mm, jeden lalůček tvoří 100 – 200 sekrečních alveolů. Stěnu alveolů a tubulů vystylají sekreční buňky. V nich se tvoří mléko v podobě tekutého sekretu a velmi drobných kapének tzv. mléčných tělísek (kuliček). Sekreční buňky se při vylučování mléčných tělísek částečně rozpadají (apokrinní sekrece). Na povrchu mléčných alveolů a tubulů z vnější strany jsou sekreční buňky obklopeny sítí hvězdovitých buněk. Jsou to tzv. košíčkové (myoepiteliální) buňky, které mají schopnost se smršťovat působením hormonu oxytocinu a stlačovat tak mléčné alveoly a tubuly. Tak napomáhají vytlačovat sekreční činností buněk již vyloučené

a nahromaděné mléko v těchto alveolách a tubulech dále do vývodných cest žlázy, kde se mléko před vysáváním mládětem či před vydojováním shromažďuje. Proces vylučování mléka ze sekrečních buněk do dutin alveol a tubulů se nazývá sekrece mléka. Po odloučení mléka z buněk se narušená stěna sekrečních buněk zaceluje (reparuje) a buňky se poté opět plní tekutou složkou a tukovými kapénkami mléka, aby se proces mohl po odsání či vydojení mléka z vývodných cest opakovat. Na počtu sekrečních buněk ve vemeni závisí množství vylučovaného mléka. U mladých jalovic i v pokročilejší březosti není sekreční parenchym vemen dostatečně vyvinut. Objevuje se až v konečné fázi březosti, v období před porodem a je plně vyvinut až v začínající době laktace. Mimo období laktace (např. v době zaprahnutí) je velmi zredukován a je nahrazen ve žláznatém tělese vazivem a tukovou tkání. Nejvíce sekrečních buněk, alveolů a tubulů je na vrcholu laktace [8].

Tvorba mléka u krav je proces vysoce efektivní. Mléčná žláza přijme z krve na vytvoření 1 kg mléka přibližně 145 g anorganických živin a v mléce jich je pak přibližně 120 g.kg⁻¹, to znamená, že na vlastní tvorbu se spotřebuje pouze asi 17-18 % [9].

Stavební látky pro tvorbu mléka pronikají do sekrečních buněk z krve a mízy. Z nich se syntetizuje v organelách cytoplazmy sekrečních buněk mléčný tuk (mléčná tělíska), mléčný cukr a téměř všechny bílkoviny mléka. Z krevní plazmy sekreční buňky přijímají a do mléka přímo předávají v nezměněné formě vodu a v ní rozpuštěné minerální látky. Přimo z krve touto cestou pronikají do mléka nezměněné imunoglobuliny, vitamíny, enzymy, ale také škodlivé a cizorodé látky [8].

Tyto stavební látky důležité pro tvorbu mléka jsou zabezpečovány dostatečnou a harmonickou hormonální činností žláz s vnitřní sekrecí. Z hypofýzy je to důležitý prolaktin neboli laktotropní hormon (LTH) – pro syntézu bílkovin, především kaseinu v sekrečních buňkách mléčných žláz a růstový hormon – somatotropin (STH), který zajišťuje přísun živin do sekrečních buněk, důležitých pro syntézu mléka. Z hypofýzy se dále uvolňují hormony, které ovlivňují zvýšenou sekreční aktivitu štítné žlázy – tyreotropní hormon (TSH) a nadledvin – adrenokortikotropní hormon (ACTH). Takto navozená zvýšená sekrece hormonu štítné žlázy tyroxinu a hormonů nadledvin – kortikosteroidů zajišťuje patřičnou úroveň metabolismu pro udržení laktace. Insulin z břišní slinivky je důležitý při syntéze mléčného cukru (laktosy) a parathormon z příštítných tělísek se účastní metabolismu vápníku a vitamínu D. Činnost těchto žláz s vnitřní sekrecí však může být účinná až při dokonalém přísunu hodnotných a kvalitních živin v krmné dávce odpovídající množství získávaného mléka [8].



Obrázek č. 1. Schématické znázornění stavby mléčné žlázy [17]

2.6 Složení mléka

Mléko představuje složitý polydisperzní systém. Složení mléka značně kolísá v závislosti na celé řadě vnějších i vnitřních činitelů, z nejvýznamnějších faktorů je to např. složení krmiva, laktační perioda, roční období, povětrnostní podmínky, plemeno, věk nebo zdravotní stav dojnic [7, 17]. Vysoký podíl má i individualita dojnic. Nepatrnější změny ve složení mléka jsou pozorovány na začátku a na konci laktace. Nejdůležitějším vnějším faktorem je výživa a napájení krav. Optimální plnohodnotná výživa krav podle jednotlivých fází reprodukčního cyklu je nezbytným předpokladem dosažení vysoké mléčné užitkovosti [9].

Složení mléka a výše dojivosti závisí na množství a kvalitě látek dodávaných krví do mléčné žlázy a na intenzitě činnosti mléčné žlázy. Mléko z plné laktace je bílé, s mírným nádechem dožluta, způsobené obsahem karotenu [12].

Taktéž se mění složení nadojeného mléka v závislosti na čase. Tento aspekt je důležitý nejen z hlediska zdravotní nezávadnosti a dalšího zpracování mléka, ale také pro uchování

vzorků určených pro jeho analýzu. Vzorky musí být rychle ochlazeny a uchovávány při teplotách 0-5°C. Při této teplotě se uchovávají až do provedení rozboru, který má být proveden do 24 hodin po odebrání vzorku.

V některých případech může být pro chemické rozboru tekutých mléčných výrobků použito konzervace, aby si vzorky uchovaly původní stav po delší dobu nebo při vyšší teplotě. Volba konzervačního prostředku se řídí povahou rozboru. Dříve se jako konzervační prostředky pro mléko určené k chemickému rozboru používali formaldehyd nebo chlorid rtuťnatý [19]. Dnes se používá bronopol (2-brom-2-nitro-1,3-propandiol), kyselina boritá, azid sodný nebo dichroman draselný [20].

2.6.1 Voda

Voda je nezbytnou složkou mléka a nositelem celého systému. Průměrný obsah vody v kravském mléce je přibližně 87,5 %. Voda se vyskytuje v mléce volná, vázaná na koloidy a chemicky vázaná. Volná voda tvoří převážnou většinu vody mléka. V ní jsou také rozpuštěny jeho složky. Tato voda se může z mléka odpařit nebo vymrazit v podobě ledových krystalů. Voda vázaná na koloidy je hydratační voda, která v mléce tvoří 3 %. Chemicky vázaná voda je velmi silně vázaná krystalická voda. V mléce se může vázat laktosou, vykristalizuje např. ve slazeném zahuštěném mléce v podobě hydrátu [7].

2.6.2 Sacharidy mléka

Laktosa je disacharid tvořený D-glukosou a D-galaktosou spojenými β -glykosidovou vazbou, chemického názvu 4-O- β -D-galaktosyl- β -D-glukopyranosa. Průměrný obsah laktosy v mléce je 4,8 % a variabilita obsahu je poměrně malá, protože se laktosa podílí na osmotickém systému.

Laktosa se vyskytuje ve dvou základních formách, α a β , jejichž rozdílnost je dána různým prostorovým uspořádáním vodíkových a hydroxylových skupin v molekule. Toto uspořádání má vliv na fyzikální vlastnosti laktosy, zejména na specifickou otáčivost polarizovaného světla a rozpustnost laktosy ve vodě. Obě formy, α i β , se vyskytují jak v podobě hydrátu s jednou molekulou krystalové vody, tak v podobě anhydridu. Obě formy mohou v sebe navzájem přecházet¹, v mléce se jejich poměr mění v závislosti na teplotě [7, 12].

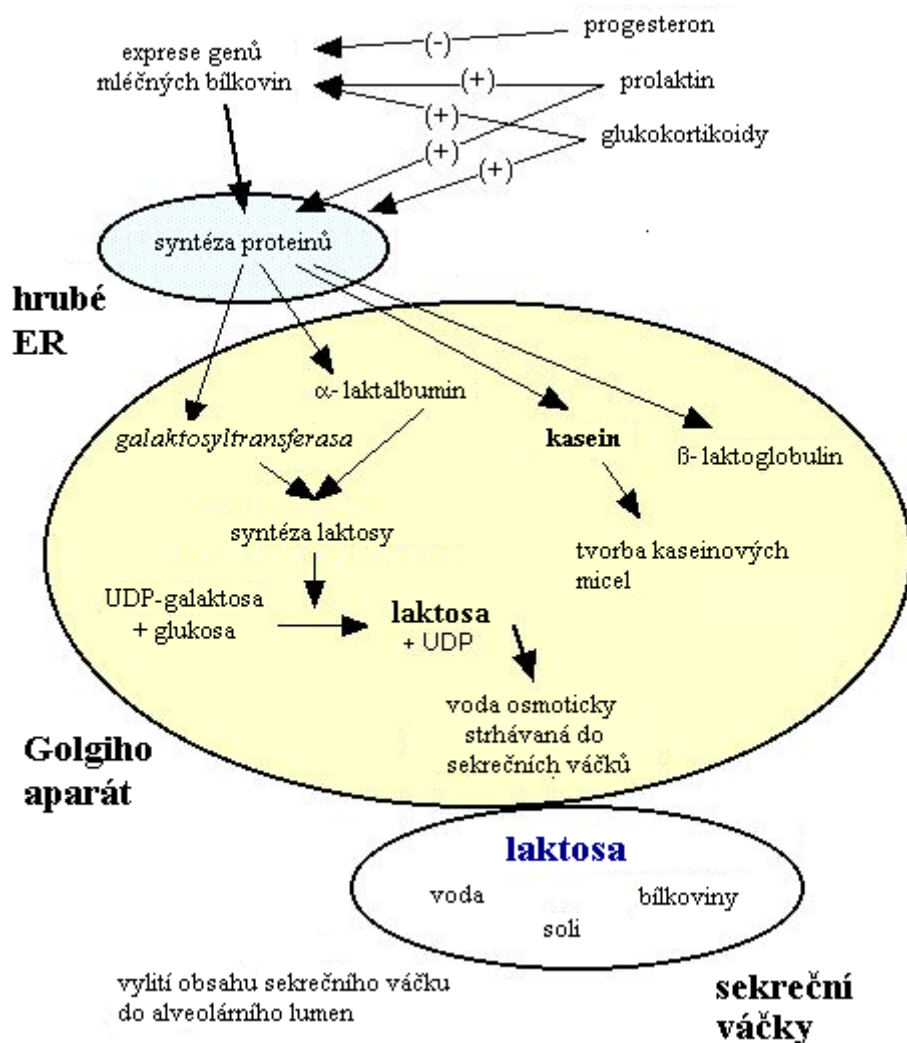
Laktosa je redukující cukr a má proto k dispozici volnou anomerní hydroxylovou skupinu, která při tepelném ošetření reaguje s volnými aminoskupinami bílkovin, nejčastěji aminokyselinou lysinem. Tato reakce, známá jako Maillardova, probíhá za vzniku produktů způsobujících změnu chuti a barvy (hnědnutí) např. u sterilovaného mléka.

Při průchodu zažívacím traktem člověka se laktosa prakticky neresorbuje. Specificky dráždivým účinkem laktosy na sliznici tenkého střeva dojde k vyloučení β -galaktosidázy, který ji štěpí na monosacharidy a ty se již resorbují. Činností obligátní střevní mikroflóry vzniká při rozkladu laktosy kyselina mléčná, která vytváří žádoucí kyselé prostředí ve střevech, má antiseptické účinky vůči nežádoucí mikroflóře a brání růstu hnilobných bakterií. Dalším výhodným aspektem tvorby kyseliny mléčné ve střevech je zvýšení resorpce vápníku a tedy zlepšení jeho využitelnosti.

¹ Tomuto jevu se říká mutarotace.

Přítomnost laktosy v mléce má také technologický význam, neboť laktosa je substrátem pro bakterie mléčného kvašení a její využití je základem výroby fermentovaných mléčných výrobků.

Tento disacharid s omezenou rozpustností také způsobuje potravinářským technologům nesnáze, neboť laktosa snadno tvoří přesycený roztok a krystalizuje. Při výrobě slazeného kondenzovaného mléka nebo mražených smetanových krémů způsobují vytvořené krystaly (nad 10 µm) písčitosť mléčných výrobků, tedy senzorycky nežádoucí jev [12].



Obrázek č. 2. Schéma tvorby mléčného cukru a kaseinových micel [23]

2.6.3 Mléčné bílkoviny

Mléko savců se rozděluje na mléka albuminová a mléka kaseinová podle dominantního zastoupení dané frakce v heterogenní směsi bílkovin. Kravské mléko obsahuje průměrně 3,3 % bílkovin. Kasein v kravském mléce tvoří 80 % mléčných bílkovin, kravské mléko patří mezi mléka kaseinová. V mléce jsou kaseinové bílkoviny obsaženy ve formě komplexu, tzv. kaseinových micel, jako koloidní disperze v mléčném séru. Zbytek bílkovin tvoří koloidní

roztok v mléčném séru, tzv. bílkoviny sérové neboli syrovátkové bílkoviny. Obě tyto hlavní skupiny se liší ve vlastnostech technologických i v nutriční hodnotě. Nepatrnou částí bílkovin mléka jsou bílkoviny adsorbované na povrchu tukových globulí, laktoferin a transferin a ostatní nativní enzymy [7].

Tabulka č. 1. Složení bílkovin kravského mléka [12]

hlavní frakce kaseinu	bílkoviny mléčného séra
α_{s1} - CN	α - laktalbumin
α_{s2} - CN	β - laktoglobulin
β - CN	imonoglobuliny
κ - CN	albumin krevního séra (BSA)
	protoaso-peptonová frakce

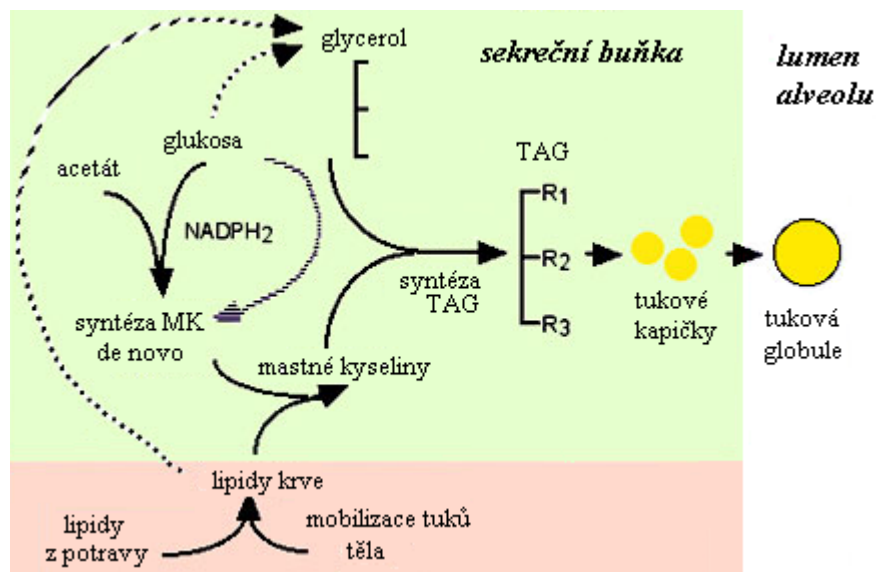
Mléčné bílkoviny obsahují poměrně velké množství esenciálních aminokyselin. Bílkoviny syrovátky obsahují 52,7 % a kasein 45,8 % esenciálních aminokyselin. S dalším rozdílem v zastoupení se setkáváme také u jednotlivých bílkovinných frakcí. Na tvorbu bílkovin v mléčné žláze má zásadní vliv nejen výživa, ale také množství a zastoupení mikrobů v předžaludku. Tito mikrobi, tzv. bachořci, tvoří velmi kvalitní proteiny, které jsou v dalších částech trávicího traktu přežvýkavců hydrolyzovány a vstřebávány a do krve [21].

2.6.4 Mléčný tuk

Mléčný tuk je dispergován v mléčném séru ve formě tukových kuliček. Jejich velikost se pohybuje v rozmezí 0,1 – 15 μm a jejich počet v mléce činí 1 500 – 4 600 miliónů v jednom mililitru mléka. Triacylglyceroly tvoří 98-99 % lipidů v tukových kuličkách, dále jsou v tukových kuličkách obsaženy di- a monoacylglyceroly, steroly, volné mastné kyseliny a lipofilní látky karotenoidy a vitaminy A, D, E a K. Membrána tukových kuliček obsahuje fosfolipidy a steroly.

Způsob krmení má vliv na variabilitu kvantitativního a kvalitativního zastoupení mastných kyselin v triacylglycerolech. Největší zastoupení však patří kyselinám s dlouhým řetězcem, kyselině palmitové, olejové, stearové a myristové. Pro mléčný tuk je typické, že obsahuje poměrně vysoké množství mastných kyselin s krátkým řetězcem, např. kyselinu máselnou, kapronovou a kaprylovou, ve srovnání s ostatními tuky a oleji. Proces degradace mastných kyselin probíhá opakujícím se sledem reakcí, tzv. β -oxidací, jimiž se uhlíkový řetězec neustále zkracuje pokaždé o dva uhlíky, které skončí jako acetyl-CoA. Čím kratší je řetězec MK, tím rychleji dojde k jeho odbourání. Mléčný tuk je lépe stravitelnější [7].

Kravské mléko obsahuje dále mastné kyseliny, které mají pozitivní vliv na lidské zdraví. Jedná se o polynenasycené n-3 mastné kyseliny (omega-3) a konjugovanou kyselinu linolovou (CLA), izomer cis-9 trans-11 C18:2. Hlavní n-3 mastná kyselina v mléce je kyselina α -linolenová (C18:3), spolu s menším množstvím kyseliny eikosapentaenové (C20:5) a kyseliny dokosaheptaenové (C22:6)[22].



Obrázek č. 3. Tvorba tukových globulí v sekreční buňce mléčné žlázy [23]

Z technologického hlediska je důležitá nižší měrná hmotnost (hustota) mléčného tuku oproti mléčné plazmě. Proto při stání mléka dochází k samovolnému vyvstávání tuku. Této skutečnosti se využívá při získávání odtučněného mléka a smetany odštěďováním [12].

2.6.5 Nebílkovinné dusíkaté látky

Mezi nebílkovinné dusíkaté látky patří močovina, volné aminokyseliny, peptidy, cholin, guanidin, kreatin, kreatinin, hypoxantin a kyseliny močové, hipurová, karbaminová a sulfokyanátá s celkovým množstvím do 250-300 mg.l⁻¹ mléka [24]. Stanovování obsahu nebílkovinných dusíkatých látek (NNL) slouží k odhadu výživového stavu dojníc a souvisí s obsahem močoviny, která tvoří největší část NNL.

Močovina je konečným produktem metabolismu bílkovin. Stanovení obsahu močoviny, ať v krvi nebo v mléce, je významným ukazatelem správně sestavené krmné dávky dojnice. Za koncentraci močoviny v krvi je odpovědný přebytek amoniaku v bachoru. Tento dusík se stává nevyužitým, k vylučování z těla dochází močí a mlékem. Obsah močoviny v mléce proto koreluje s obsahem močoviny v krvi dojnice. Dle obsahu močoviny v mléce lze proto usuzovat na výživový stav dojnice [25].

Volné aminokyseliny mléka jsou důležité pro výživu mikroorganismů technologicky přidávaných do suroviny jako startér, zejména pro kmeny slabě proteolytické [24].

2.6.6 Minerální látky a stopové prvky

Kravske mléko obsahuje průměrně 7,3 g.l⁻¹ minerálních látek, kterými jsou vápník, fosfor, draslík, sodík, chlor, hořčík a síra. Mléko je především zdrojem vápníku ve výživě člověka, obsahuje průměrně 1 200 mg.l⁻¹. Z technologického hlediska je důležitý nejen obsah, ale také forma vápníku. Vápník významně ovlivňuje koloidní stabilitu kaseinu, tedy termostabilitu mléka a sladké srážení mléka a vlastnosti sýřeniny při výrobě sýrů [12]. Z hlediska výživy

člověka je optimální poměr v obsahu vápníku a fosforu v mléce, které jsou hlavní složkou kostí a zubů.

Obsah některých stopových prvků v mléce se udává velkou variační šíří, která je dána rozdílem v krmení, mění se vlivem ročním období, v závislosti na stádiu laktace nebo zdravotním stavu dojníc. Stopové prvky jsou v mléce z větší části obsaženy v organické formě. V membráně tukových kuliček se nachází měď, zinek, mangan a železo, na mléčné bílkoviny se váže jód, selen, zinek a měď. Jód a zinek se vyskytují také v anorganické formě [7].

Jód je v mléce obsažen v poměrně značném množství. Z důvodu klinicky zjištěných vysokých hodnot jodurie a zvýšeného výskytu tyreopatií indukovaných nadbytkem jódu u lidí začalo sledování saturace hospodářských zvířat jódem a řešení problematiky jódotání krmných směsí [26]. Obsah železa a mědi v mléce je naopak nízký. Předpokládá se však zvýšená resorpce stopových prvků z mléka díky přítomnosti laktosy a tvorbě kyselého prostředí v intestinálním traktu [7].

2.6.7 Vitamíny

Obsah vitamínů v mléce je velmi variabilní. Kolísání obsahu jednotlivých vitamínů ovlivňuje plemeno dojníc, způsob ustájení, zdravotní stav, roční období, způsob krmení apod. Původní obsah vitamínů v mléce se často cestou k spotřebiteli snižuje vlivem nešetrného ošetření, při skladování nebo při technologickém zpracování. Z lipofilních vitamínů je v mléce bohatě zastoupen vitamín A a jeho provitamíny – karoteny, zejména v letním období, protože v čerstvé zelené píce je obsah karotenů podstatně vyšší než v suchém krmení.

Z hydrofilních vitamínů se v mléce nejvíce vyskytují vitamíny B₁, B₂, B₆, B₁₂ a kyselina pantothenová. U vitamínů skupiny B se vliv krmiva na jejich obsah tolik neprojevuje, protože jejich biosyntéza probíhá v zažívacím traktu dojníc přítomnou mikroflórou. Ostatní vitamíny se vyskytují v nízkých koncentracích [7].

2.6.8 Ketolátky

Složení mléka u vysoce produkčních dojníc výrazně souvisí s jejich výživou. Energetický nedostatek výživy dojníc může způsobit subklinické nebo klinické ketózy, protože zdrojem energie se v tom případě stává tělesný tuk zvířete, s nadprodukcí acetyl-CoA. Ten však není využit citrátovým cyklem, ale vstupuje do ketogeneze a proto se zvyšuje koncentrace ketolátek (aceton, acetoctová kyselina a β -hydroxymáselná kyselina) v různých tělních tekutinách [27]. Tyto podmínky vedou ke snížení produkce mléka, ke zhoršení reprodukčních ukazatelů a ke zvýšení rizika rozvoje klinické ketózy. Je proto důležitá včasná detekce zvýšené hladiny ketolátek, aby se zabránilo výše zmíněnému.

Kromě zvýšené ketogeneze lze očekávat další metabolické změny, např. snížení množství meziproduktů cyklu trikarboxylové kyseliny v extracelulárních tekutinách během energetického nedostatku. Kyselina citrónová je významným členem tohoto cyklu a má regulační účinek na přeměny acetyl-CoA [28].

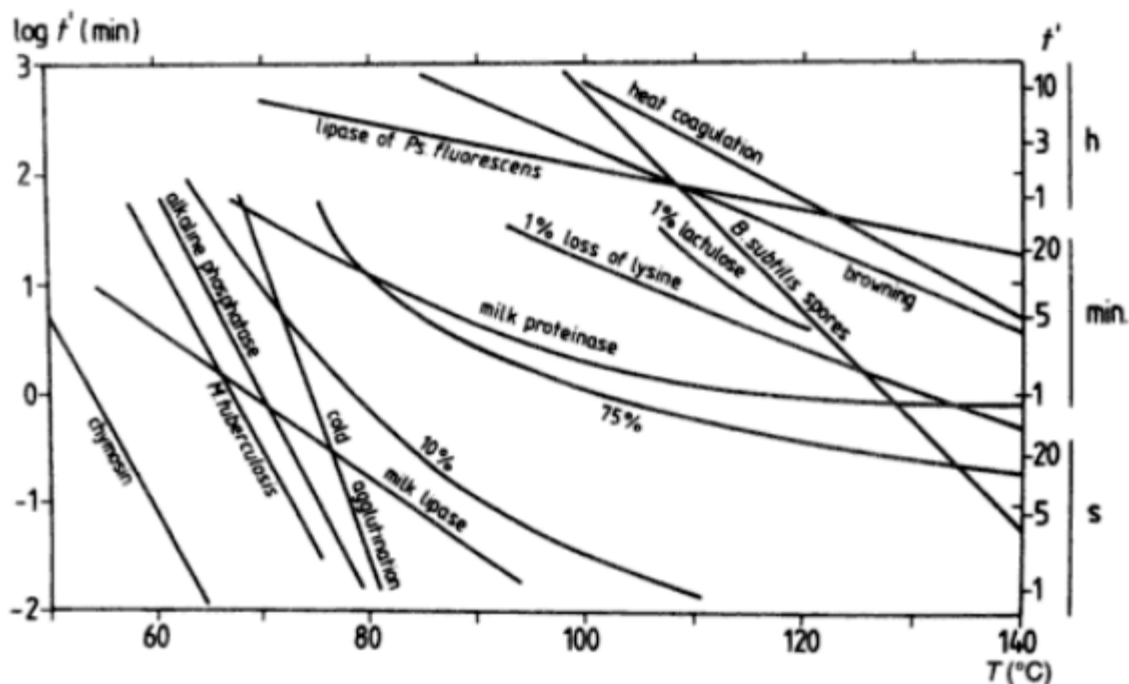
Mezi nejčastější saprofyty mléka patří rody *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* a *Alcaligenes*, které jsou však pasterací mléka spolehlivě odstraněny. Jedná se o psychrotrofní bakterie rostoucí při teplotách chladničky.

Patogenní MO jsou běžně přítomny v ekosystému prvovýroby mléka, některé jsou kohabitanty hospodářských zvířat a tvoří složku kontaminující mikroflóry. Někdy se uplatňuje lidský faktor jako zdroj kontaminace. K nejdůležitějším patogenům, přenášených mlékem, patří *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*. Kromě těchto patogenních bakterií představují další příčinu méně častých alimentárních onemocnění *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Streptococcus* spp., *Aeromonas* spp. [12].

2.6.11 Enzymy

Mléko a mléčné výrobky obsahují nejen mikroorganismy, ale také mikrobiální extracelulární enzymy, které buňky vylučují do svého prostředí, nebo mikrobiální intracelulární enzymy, které se uvolňují poté, co buňky mikroorganismů odumřely a lyzovaly. Některé z těchto enzymů mohou způsobit nežádoucí změny, např. hydrolytické žluknutí tukové složky mléka a mléčných výrobků, hořkost nebo gelovatění UHT mléka, sladovou chuť v mléce. Jiné mohou naopak způsobit i žádoucí chuti, např. při výrobě zrajících sýrů [24]. Druh a množství mikrobiálních enzymů v mléce je závislé na zastoupení a množství přítomných mikroorganismů [7].

Dále bylo popsáno více než šedesát nativních enzymů v běžném kravském mléce. Řada nativních enzymů se podílí na přirozeném antibakteriálním systému mléka. Ztráta aktivity některých enzymů slouží jako indikátor pro průkaz tepelného ošetření mléka [12].



Obrázek č. 5. Grafické znázornění času potřebného při různých teplotách k inaktivaci některých enzymů, některých bakterií a jejich spor atd. [30]

Nativní enzymy v mléce pocházejí ze tří hlavních zdrojů. Zprv se dostávají z krve přes vadné membrány buněk mléčné žlázy. Nebo pocházejí z cytoplazmy sekrečních buněk, z nichž některé jsou občas umístěny uvnitř tukových kapének. Za třetí je obsahuje membrána mléčné tukové globule [24].

K nativním enzymům patří mléčné hydrolázy a oxidoreduktázy. Do třídy hydroláz patří esterázy (lipázy a fosfatázy), sacharidázy (galaktosidázy a amylázy) a proteázy. Z oxidoreduktáz se v mléce vyskytuje xantinoxidáza, peroxidáza a kataláza [7].

2.7 Technologické vlastnosti mléka

Mléko je zředěná emulze skládající se z rozptýlené tukové fáze a vodné koloidní kontinuální fáze. Fyzikální vlastnosti mléka jsou podobné jako u vody, ale jsou modifikovány přítomností různých látek v kontinuální fázi a stupněm disperze emulgované a koloidní složky.

Mezi technologické ukazatele kvality mléka se obvykle řadí kyselosti aktivní (pH) a titrační, kysací schopnost mléka a obsah volných mastných kyselin v mléce. Za jistých okolností ovšem i fyzikální ukazatel jako bod mrznutí mléka lze považovat za technologický parametr, stejně tak výskyt RIL jako např. antibiotik. Mezi technologické vlastnosti mléka lze rovněž zahrnout termostabilitu, alkoholovou stabilitu, syřitelnost a pevnost získané sýřeniny po přidavku syřidla.

Údaje o fyzikálních vlastnostech mléka jsou důležité, protože tyto parametry mohou mít vliv na konstrukci a provoz zařízení na zpracování mléka (tepelná vodivost, viskozita). Také mohou být použity pro stanovení koncentrace specifické složky v mléce nebo pro posouzení rozsahu biochemických změn v mléce během zpracování. Např. pomocí zvýšení bodu mrznutí mléka lze odhadnout množství přidané vody [24].

Kyselost je jedním z nejdůležitějších technologických ukazatelů vlastností mléka. Kyselost mléka i mléčných výrobků je dána obsahem organických kyselin, převážně kyseliny mléčné. Dále pak také obsahem a složením minerálních látek a bílkovin [31]. Produkce kyselin je hlavním projevem rozvoje značné části kontaminujících mikroorganismů v mléce – indikuje tedy zhoršení kvality suroviny. Naopak mléčné kvašení je základním procesem technologie fermentovaných mléčných výrobků a sýrů – kyselost tedy slouží ke kontrole průběhu fermentace [12].

Rozlišuje se dvojí kyselost, tzv. titrační a aktivní. **Titrační kyselost** se hodnotí spotřebou alkálií na neutralizaci a dříve se vyjadřovala ve stupních Soxhlet-Henkela (°SH) na 100 ml mléka, 1 °SH odpovídá spotřebě 1 ml 0,25 M NaOH. Titrační kyselost vyjadřuje celkový obsah kyselých skupin v mléce a je proto citlivá na zvýšení obsahu kyseliny mléčné mikrobiální činností. Titrační kyselost představuje vlastně celkovou pufrací kapacitu vzorku v rozmezí od aktuální hodnoty pH do $\text{pH} \approx 8,3$. Konkrétní hodnota je proto také závislá na obsahu bílkovin (především kaseinu) a fosforečnanů. Čerstvé neporušené mléko má titrační kyselost v rozmezí 6,8 - 7,2 dle SH. **Aktivní kyselost** je dána koncentrací vodíkových iontů a vyjadřuje se jejich záporným logaritmem v hodnotách pH. Mezi titrační a aktivní kyselostí není absolutní přímá závislost, neboť hodnoty závisejí na pufrací schopnosti zejména mléčných solí a bílkovin [31].

Čerstvé mléko má pH v rozmezí 6,6 - 6,8. Jeho hodnota přímo určuje vliv kyselosti na složky mléka, na disociaci kyselin a solí, konformaci bílkovin a aktivitu enzymů. Změna pH je v slabě kyselé oblasti je poměrně málo citlivá na tvorbu kyselin mikroorganismy, protože mléko vykazuje výrazné pufrací vlastnosti s maximem při pH 5,5 [12].

Tabulka č. 2. Hodnoty pH některých mléčných výrobků [31]

pH	surovina nebo výrobek
6,5 – 6,7	mléko sladké
6,3 – 6,4	mléko nakyslé
5,4 – 6,2	mléko kyselé
6,8 – 7,1	mléko podezřelé ze zředění vodou, přidavku alkálií mléko od nemocných dojníc, staré s proteolytickým rozkladem
4,6	izoelektrický bod kaseinu
5,1	smetana k výrobě zakysaného másla
5,2	mezní hodnota při zakysání jogurtů

Hustota mléka se mění se složením mléka a její měření se používá k odhadu celkového obsahu sušiny mléka. Hustota daného vzorku mléka je ovlivněna jeho uskladněním, neboť rozdílné teploty uskladnění mění poměry tekutých a pevných tuků a stupeň hydratace bílkovin. Aby byl tento vliv na stanovení hustoty mléka minimalizován, mléko je obvykle předeřháto na 40 °C asi na tři minuty, aby došlo ke zkapalnění tuku, a pak se ochladí na teplotu testu, nejčastěji na 20 °C [24, 31].

Klasickou zkoušku termostability nahrazuje zkouška na **alkoholovou stabilitu**. Stanovení alkoholové stability mléka je důležitý technologický ukazatel pro výrobu alkoholických nápojů, jako jsou např. smetanové likéry [32].

Sýřitelnost vyjadřuje čas potřebný k enzymatické koagulaci mléčných bílkovin, tzn. vhodnost mléka ke zpracování na sýry a často i sýrařskou výtěžnost suroviny. Pro sýřitelnost mléka neboli schopnost enzymového srážení je nutná přítomnost vápenatých iontů. Chemické složení mléka má zásadní význam pro výtěžnost výroby a složení sýra. Výtěžnost určuje především obsah kaseinu [12].

Poslední důležitá technologická vlastnost je **kysací schopnost mléka** neboli **kvasnost**, která je dána obsahem inhibičních látek, které nejčastěji představují antibiotika, zbytky čistících a dezinfekčních prostředků, na které jsou kvasné kultury různě citlivé. Dále je pro kvasnost nutný nízký celkový počet mikroorganismů, především těch psychrotrofních, které mohou ještě před tepelným ošetřením mléka naprodukovat metabolity inhibující růst bakterií mléčného kvašení [12].

2.8 Očekávané vlastnosti mléka z ekologických chovů

Pastva dojníc je často zmiňována jako dominantní charakteristika ekologického zemědělství a významný faktor dobrého zdraví dojníc i kvality a biologické hodnoty mléka. Pohyb zvířat na slunci a čerstvém vzduchu upevňuje pohybový aparát, podporuje krevní oběh, zajišťuje lepší metabolizaci odpadních látek ve vnitřním prostředí dojníc, např. ketonů [1].

Celodenní pastva u dojníc je výhodná z hlediska hygienického stavu mléčných žláz dojníc i celé produkce mléka. Má však i svá úskalí, např. méně vyrovnanou výživu dojníc v závislosti na počasí a vegetační fázi porostů [16]. Pozitivní, někdy však i negativní, mohou být vlivy aromatických látek některých specifických bylin na chuťové a další senzorycké vlastnosti mléka a mléčných produktů [1]. Při travní pastvě se zvyšuje obsah konjugované kyseliny linolové (CLA) v mase a mléce skotu, která má prokázaný protirakovinový,

antiaterosklerotický a imunomodulační efekt [33]. Její původ je dán specifickými bachorovými procesy přeměny polynenasycených mastných kyselin u přežvýkavců [1].

Předpokládá se nárůst obsahu hořčíku v mléce po omezení průmyslového hnojení a po změnách ve složení vegetačních částí rostlin na pastvinách ekologických chovů. Přívod NPK hnojiv do půdy totiž snižuje obsahy hořčíku, sodíku a vápníku v pícninách. Hořčík byl doposud limitujícím prvkem ve výživě zvířat. Vzrůst obsahu hořčíku v mléce by mohl být příznivý i z dietetického hlediska, neboť by byl dosažen lepší poměr mezi vápníkem a hořčíkem. Pro optimální lidskou stravu se uvažuje o poměru $\text{Ca} : \text{Mg} = 3,5 : 1$. Současný poměr v mléce cca $10 : 1$ je sice výhodný pro vstřebávání těchto prvků, ale méně výhodný pro celkovou lidskou dietu. Hořčík je důležitý pro správnou funkci nervové soustavy a jeho deficit může mnohdy souviset s výskytem řady civilizačních chorob, např. dysfunkce a infarkt myokardu nebo ischemické choroby srdce [16].

2.9 Pohled na rozdílné způsoby zemědělství

Do poloviny 20. století byla veškerá zemědělská výroba považována za přírodě blízkou a prospěšnou. Tento názor se změnil především s rozvojem spotřeby různých agrochemikálií a postupů podporujících erozi, kdy začalo být zemědělství chápáno jako zdroj poškozování a znečišťování životního prostředí. V některých zemích jako Rakousko, Švýcarsko nebo ve Skandinávii je však zemědělství i přes moderní vývoj stále vnímáno jako pozitivní součást přírody. Dnes se hovoří o ekologické produkci, kterou ovšem často od konvenční výroby pozemkově odděluje pouze „plot“. Mnohé zdroje jako povrchové a spodní vody, vzduch a částečně i půda v podobě spadových a imisních zátěží, jsou však společné. Proto by všude v zemědělské výrobě měly být ekologické postupy podporovány celkově, aby se tak docílilo společenské názorové změny a návratu k tradičnímu způsobu hospodaření. To však vyžaduje nemalé finanční prostředky a celospolečenské pochopení, jehož docílení je mnohdy značně složité [16].

Jako odpověď na neblahé důsledky intenzivního zemědělství vznikla celá řada alternativních způsobů hospodaření, souvisejících s životním stylem, světonázorem a životní filosofií. Za zmínku stojí např. hospodaření biodynamické založené na antroposofii Rudolfa Steinera. Zde jsou uplatněny některé zvláštní metody využívající kosmické vlivy. Produkty tohoto systému jsou žádány zejména v Německu a Švýcarsku a jejich produkci a distribuci zajišťuje společnost Demeter [9].

Ekologické zemědělství představuje systém hospodaření, který používá pro životní prostředí šetrné způsoby k potlačování plevelů, škůdců a chorob, minimalizuje použití syntetických pesticidů a hnojiv, v chovu hospodářských zvířat klade důraz na pohodu zvířat, dbá na celkovou harmonii agroekosystému a jeho biologickou rozmanitost a upřednostňuje obnovitelné zdroje energie a recyklaci surovin [34]. Regulace plevelů se provádí komplexně, vhodným sledem plodin, smíšenými kulturami, mulčováním, mechanicky vláčením nebo plečkováním nebo se provádí fyzikálně, tzv. plamennou plečkou. Regulace škůdců a chorob je taktéž založena na komplexních opatřeních, důležitá je vhodná struktura pěstovaných plodin, pěstování fytosanitárních meziplodin, volba odolných druhů a odrůd, využívána je biologická ochrana [9].

Důvodem zájmu spotřebitelů o bioprodukty je minimální obsah nežádoucích kontaminujících látek, jako jsou rezidua pesticidů, umělých hnojiv, potravinových aditiv a těžkých kovů, dále pak očekávaný zvýšený obsah některých živin, vyšší obsah vlákniny

a výraznější senzorické vlastnosti. Mezi limitující aspekty biopotravin patří větší pravděpodobnost výskytu mykotoxinů, vyšší obsah přírodních toxických látek, horší dostupnost a omezený sortiment biopotravin. Limitující skutečností je i vyšší cena v porovnání s konvenčními potravinami, která souvisí s vyššími výrobními náklady [3].

Vyšší obsah přírodních toxických látek u plodin z ekologického zemědělství je dán stimulací jejich produkce, pokud jsou tyto produkty vystaveny zvýšenému nátlaku v přítomnosti škůdců, hmyzu, plevelů nebo rostlinných chorob, protože se plodina nemůže spolehnout na pesticidy jako plodina konvenčně pěstovaná [35]. Např. v ekologicky pěstovaných bramborách byl zjištěn vyšší obsah vitamínu C, ale také vyšší obsah glykolalkaloidů α -solaninu a α -chaconinu a vyšší obsah kyseliny chlorogenové, fenolické sloučeniny patřící mezi sekundární metabolit, který hraje důležitou úlohu při obranných mechanismech rostliny [3]. Na druhé straně v bioproduktech nenalezneme zbytky pesticidů.

2.10 Legislativní omezení ekologického zemědělství

Ekologická produkce se řídí zásadami vhodného plánování a řízení biologických postupů založených na ekologických systémech, které využívají vlastní přírodní zdroje. K další obecné zásadě patří omezení využívání vnějších vstupů. Pokud je využití vnějších vstupů nutné, omezí se na vstupy z ekologické produkce, přírodní látky nebo látky z nich odvozené a minerální hnojiva s nízkou rozpustností. Použití syntetických chemických látek je přísně omezené. V neposlední řadě zákon vylučuje používání geneticky modifikovaných organismů (GMO) a produktů z nich získaných [36].

Ekologické zemědělství jako alternativa k převládajícímu intenzivnímu zemědělství dbá na minimalizování narušování životního prostředí, na udržování a rozvíjení úrodnosti půdy a na šetření přírodních zdrojů. Dále podporuje druhovou pestrost v ekosystémech a podporuje etologii a etiku chovu hospodářských zvířat [9].

Zákon o ekologickém zemědělství stanovuje pravidla jak pro rostlinnou, tak pro živočišnou produkci. V části týkající se pravidel živočišné produkce zákon obecně ustanovuje, že osoby chovající zvířata musí mít nezbytné základní znalosti o zdravotních potřebách a životních podmínkách zvířat a být schopni se zvířaty pracovat. Dále je v zákoně uvedeno, že chovatelské postupy, včetně intenzity chovu a podmínek ustájení musí zaručovat splnění vývojových, fyziologických a etologických potřeb zvířat [36].

Chov hospodářských zvířat v ekologickém zemědělství musí respektovat fyziologická, etologická a etická hlediska chovu podle Evropské konvence o hospodářských zvířatech a Zákona o ochraně zvířat. Jsou vyloučeny klecové chovy, trvalé vazné ustájení skotu, trvalý chov zvířat v uzavřených prostorech a na roštovém ustájení [9]. Vazné ustájení nebo izolování hospodářských zvířat je zakázáno, pokud se nejedná o jednotlivá zvířata a o omezenou dobu a pokud to není na místě se zřetelem na bezpečnost, životní podmínky zvířat nebo veterinární důvody. Jakékoli utrpení, včetně mrzačení, musí být udržováno na co nejnižší úrovni, a to během celého života zvířete, včetně samotné porážky. Také doba trvání přepravy hospodářských zvířat musí být co nejkratší [36].

Krmivo získává se v první řadě ze zemědělského podniku, kde jsou zvířata chována, nebo z jiných ekologických zemědělských podniků ve stejném regionu [36]. Základem jsou statková hnojiva produkovaná v ekologickém hospodaření a aplikována ve vhodnou dobu, aby nedošlo ke kontaminaci podzemních vod. Jen 30 % smí být nakupovaná komerční statková hnojiva, ale musí být jeden rok kompostována [9]. Hospodářská zvířata jsou krmena

ekologických krmivem, které splňuje požadavky na výživu zvířete v různých stádiích jeho vývoje. Část přidělu může obsahovat krmivo ze zemědělských podniků, které přecházejí na ekologické zemědělství. Hospodářská zvířata mají stálý přístup na pastvu nebo k objemnému krmivu. Nepoužívají se růstové stimulanty ani syntetické aminokyseliny. Kojená mláďata savců jsou krmena přírodním, nejlépe mateřským mlékem [36].

Zákon ustanovuje prevenci nákaz založenou na výběru plemena a linie, chovatelských postupech, vysoce kvalitním krmivu a tělesném pohybu, odpovídající intenzitě chovu a přiměřeném a vhodném ustájení, udržovaném v hygienických podmínkách. V případě nákazy se musí řešit okamžitou léčbou, aby se zabránilo utrpení zvířat. Před léčbou chemicky syntetizovanými alopatickými veterinárními přípravky nebo antibiotiky se upřednostňují fytotherapeutické přípravky, homeopatické produkty, stopové prvky nebo další přípravky stanovené zákonem. Je-li to nutné, mohou se za přísných podmínek použít syntetická chemická alopatická veterinární léčiva včetně antibiotik, pokud je použití fytotherapeutických, homeopatických a jiných přípravků nevhodné. Použití imunologických veterinárních léčiv je povoleno [36]. Mezi ekologické postupy léčby mastitid u dojnic náleží např. aplikace alternativních léčebných postupů s účinnými látkami na přírodní bázi [16].

Zákon o ekologickém zemědělství ustanovuje chovatelské postupy a ustájení hospodářských zvířat. Pro dojnice stanovuje tento zákon minimální vnitřní plochu o rozměrech 6 m² a venkovní plochu 4,5 m². Zákon nařizuje stálý přístup hospodářských zvířat na otevřená prostranství, nejlépe na pastviny, kdykoli to povětrnostní podmínky a stav půdy dovolí. Dále zákon omezuje počet hospodářských zvířat ve vztahu k využívané zemědělské půdě, aby se minimalizovala nadměrná pastva, udusání půdy, eroze nebo znečištění způsobené zvířaty nebo roznášením jejich hnoje. Udává maximální počet zvířat na jednom hektaru, např. na jednom hektaru smí být pouze dvě dojnice, aby nedošlo k překročení limitu 170 kg dusíku ročně na hektar zemědělsky využitelné půdy [36].

V oblasti výroby mléka je ekologické zemědělství téměř neodlučně spjato s uplatněním pastevního systému chovu dojeného skotu. V době podpory a rozvoje koncepce zvyšování ploch trvalých travních porostů, zejména v méně využitelných oblastech, vznikají lepší podmínky pro ekologický systém hospodaření a vyšší využití trvalých travních porostů chovem skotu [9].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Uspořádání experimentu a výběr hodnocených ukazatelů

Bazénové² vzorky mléka (BVM) byly získávány pravidelně dvakrát během zimní a dvakrát během letní sezóny od čtyř konvenčních (K) a čtyř ekologických (E) mléčných stád (po 2 roky; $n = 32$ K a 32 E BVM). V těchto osmi vyšetřovaných stádech bylo v pokusném sledování od 25 do 400 holštýnských dojnic. Dojnice byly krmeny typickým způsobem pro konvenční a ekologická stáda v podmínkách České republiky (kukuřičná, vojtěšková, jetelová a travní siláž, seno, jaderné krmivo a minerální krmné přísady odpovídající požadavkům norem podle mléčné užitkovosti).

Mléčná užitkovost stád konvenčních a ekologických byla v průměru dobře vzájemně srovnatelná za daných podmínek sledování. Ekologická stáda byla pasena během letní krmné sezóny a dvě z konvenčních stád byly také během léta paseny. Dojnice byly ustájeny ve vazné stáji u jednoho konvenčního stáda a v kravínech s volným ustájením u ostatních konvenčních stád a u všech ekologických stád jak je předepsáno zákonem o ekologickém zemědělství. Všechny dojnice byly dojeny dvakrát denně.

Tabulka č. 3. Charakteristika chovů konvenčních a ekologických stád

	NVS (m)	RÚS (mm)	PRT (°C)	PMU (kg)
K 1	520	720	4,8	5 638
K 2	390	650	5,5	7 511
K 3	286	670	9,6	8 124
K 4	250	700	7,8	6 790
x K	361,5	685,0	6,9	7 015,8
sx	121,2	31,1	2,2	1 068,1

	NVS (m)	RÚS (mm)	PRT (°C)	PMU (kg)
E 1	465	763	6,2	7 601
E 2	600	800	7	7 000
E 3	650	624	4,3	6 580
E 4	500	812	6,7	6 968
x E	553,8	749,8	6,1	7 037,3
sx	86,0	86,4	1,2	421,5

NVS - nadmořská výška chovu v m; RÚS - roční úhrn vodních srážek v mm; PRT - průměrná roční teplota v °C; PMU - průměrná mléčná užitkovost za normovanou laktaci v kg; x = aritmetický průměr; sx = směrodatná odchylka

Průměrná nadmořská výška sledovaných ekofarek činila $553,8 \pm 86,0$ m. n. m. Nadmořská výška, roční úhrn srážek, ale také průměrná roční teplota charakterizují oblast chovu ekologických stád jako podhorské až horské, a to nasvědčuje tomu, že ekologický chov skotu se nachází v méně využitelných oblastech.

Mléčná užitkovost z ekologických chovů byla průměrně $7 037,3 \pm 421,5$ kg mléka na dojnici na normovanou laktaci, tedy za 305 dní. To znamená průměrné výtěžky v rozmezí 21,7 až 24,5 kg mléka na krávu a den. Mléčná užitkovost dojnic z konvenčních chovů byla

2 Označení vzorku získaného z jedné nebo z více úschovných nádrží mléka připraveného k dodávce. Pokud se odebírají vzorky z více nádob, konví, tanků atd., odebírá se reprezentativní poměrný a průměrný vzorek sběrného místa. Průměrný vzorek se získá z množství mléka odebraného v množství poměrném k náplni jednotlivých nádrží. Mléko se ve směsné nádobě, která musí být dokonale čistá, dostatečně promíchá a z ní se odebere průměrný vzorek pro jednotlivé druhy použití a laboratorních vyšetření v potřebném objemu vzorků [32].

průměrně $7\,015,8 \pm 1\,068,1$ kg mléka za normovanou laktaci. To odpovídá množství v rozmezí 19,5 až 26,5 kg mléka na krávu a den. Bylo zjištěno, že mléčná užitkovost dojníc pocházejících z odlišných způsobů chovu byla srovnatelná.

Z chemického složení mléka byly sledovány tyto parametry: obsah tuku, laktosy, sušiny a tukuprosté sušiny, dále různé proteinové frakce (hrubá, čistá, syrovátková, kaseinová bílkovina), obsah močoviny, acetonu a kyseliny citrónové. Dále byly stanoveny obsahy minerálních látek vápníku, fosforu, sodíku, hořčíku, draslíku a obsahy stopových prvků jódu, manganu, železa, mědi a zinku. Dále byly ve vzorcích mléka stanoveny jednotlivé obsahy téměř všech kódovaných aminokyselin (kromě tryptofanu, glutaminu a asparaginu) a vyjádřeny jak absolutně tak v relativním množství k jejich celkovému obsahu. Z tohoto aminokyselinového složení byly dále vyjádřeny sumy esenciálních, semiesenciálních a neesenciálních aminokyselin, opět v absolutních i relativních číslech. Obsah jednotlivých frakcí bílkovin sloužil k výpočtu dalších parametrů jako obsah nebílkovinných dusíkatých látek, podíl dusíku močoviny v nebílkovinném dusíku, poměr tuku a hrubých bílkovin a k výpočtu kaseinového čísla na bázi hrubých a čistých bílkovin.

Z vlastností mléka závisících na jeho složení byly stanoveny bod mrznutí mléka, alkoholová stabilita mléčných bílkovin, titrační kyselost podle Soxhlet-Henkela, aktivní kyselost (pH) a specifická hmotnost mléka.

Z technologických vlastností byl sledován čas koagulace mléka, subjektivní odhad kvality sýřeniny, pevnost sýřeniny a obsah syrovátky vypuzené koláčem sýřeniny po enzymatickém sýření. Kysací schopnost mléka byla vyjádřena počtem *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a také aktivní a titrační kyselostí jogurtu.

Z hlediska určení hygienické nezávadnosti mléka byly zjištěny parametry celkový počet mikroorganismů, počet koliformních bakterií, počet *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*. Zdravotní stav dojnice a stav mléčné žlázy byl hodnocen také pomocí počtu somatických buněk v mléce a pomocí elektrické vodivosti (konduktivity) mléka.

Přehled stanovovaných mléčných ukazatelů s použitou zkratkou a jednotkou je přílohou „A“ této práce.

3.2 Stanovení mléčných parametrů

Stanovení mléčných parametrů bylo prováděno podle schválených standardních operačních postupů na pracovišti Národní referenční laboratoře pro syrové mléko (NRL-SM) Výzkumného ústavu pro chov skotu (VUCHS) v Rapotíně a na pracovišti Výzkumného ústavu výživy zvířat (VUVZ) v Pohořelicích. Standardní operační postupy jsou know-how těchto pracovišť. V případě, že jsou analytické postupy specifikovány českou státní normou (ČSN), případně evropskou (EU) a mezinárodní normou (ISO), tyto předpisy z nich vycházejí.

Obsah tuku, laktosy a tukuprosté sušiny byly měřeny pomocí přístroje MilkoScan 133B dánské firmy Foss Electric, který je pravidelně kalibrován podle výsledků referenčních metod. Pro obsah tuku je podle ČSN 57 0536 referenční metodou Gerberova metoda nebo dle Röse-Gottlieba, pro obsah laktosy je to polarimetrická metoda a pro obsah sušiny gravimetrická metoda všechny podle ČSN 57 0530. Přístroj je zahrnut do testů způsobilosti s pravidelně úspěšnými výsledky.

Přístroj MilkoScan je infračervený absorpční analyzátor, který pracuje na principu absorpce infračerveného IR záření při specifické vlnové délce, která je charakteristická pro

jednotlivé komponenty. Absorpční pásma jsou charakteristická pro jednotlivé funkční skupiny přítomné v molekule a z úbytku intenzity IR záření lze stanovit koncentraci měřené látky [37].

Počet somatických buněk byl určen pomocí přístroje Fossomatic 90 dánské firmy Foss Electric dle ČSN EN ISO 13366-2. Tento nástroj je zařazen do zkoušek odborné způsobilosti s pravidelně dobrými výsledky.

Koncentrace močoviny, acetonu a kyseliny citrónové byla stanovována pomocí přístroje Spekol 11 německé firmy Carl Zeiss, Jena. Jedná se o jednopaprskový spektrofotometr, vybavený mikroprocesorovou jednotkou. Jednotlivým měření předcházela úprava vzorku mléka a sestavení kalibrační křivky pomocí série kalibračních roztoků.

Pro měření *koncentrace močoviny* v mléce byl vzorek mléka nejprve vysrážen roztokem kyseliny trichloroctové, poté byl roztok zfiltrován a k filtrátu bylo přidáno Ehrlichovo činidlo obsahující p-aminobenzaldehyd. Absorbance vzorku pro stanovení močoviny se měří proti slepému vzorku v kyvetě při vlnové délce 420 nm.

Koncentrace acetonu byla měřena po 24hodinové difúzi acetonu do absorpčního činidla KCl se salicylaldehydem při 20 °C bez přístupu světla. Absorbance vzorku pro stanovení acetonu se měří proti čistému absorpčnímu činidlu v kyvetě při vlnové délce 485 nm.

Koncentrace kyseliny citrónové byla měřena při vlnové délce 428 nm po koagulaci mléka trichloracetooctovou kyselinou a po reakci získaného filtrátu s pyridinem a acetanhydridem při teplotě 32 °C po dobu 30 minut.

Alkoholová stabilita byla stanovena pomocí titrace mléka o objemu 5 ml 96% ethanolem do vytvoření prvních viditelných vloček vysrážených mléčných bílkovin. Alkoholová stabilita je vyjádřena v mililitrech spotřebovaného alkoholu.

Titrační kyselost byla měřena titrací mléka o objemu 100 ml za použití alkalického roztoku do vzniku světle růžové barvy směsi ($v \text{ ml } 0,25 \text{ mol} \times \text{l}^{-1} \text{ NaOH} \times 100 \text{ ml}^{-1}$). Tato metoda byla provedena podle normy ČSN 57 0530.

Vodivost neboli *elektrická vodivost* vzorků mléka byla měřena pomocí konduktometru OL-102/1 (Redelkis, Maďarsko) a vodivostní elektrody Theta 90 při 20 °C. Přístroj byl kalibrován vhodným roztokem chloridu draselného pro měření každé sady vzorku mléka. Vodivost u mléka stanovuje během posledních desetiletí jako indikátor přítomnosti mastitidy u dojníc. Pokud dojnice trpí mastitidou, zvyšuje se v jejím mléce koncentrace Na^+ a Cl^- a protože se zvyšuje koncentrace aniontů a kationtů, roste vodivost [38].

Aktivní kyselost byla měřena pomocí pH-metru CyberScan 510 společnosti Eutech Instruments při 20 °C. Tento nástroj je pravidelně kalibrován pomocí standardních tlumivých roztoků pH 4,0 a 7,0 od firmy Hamilton.

Hodnoty *bodu mrznutí* mléka byly analyzovány pomocí automatického mléčného kryoskopu Cryo-Star německé společnosti Funke Gerber. Přístroj je pravidelně kalibrován pomocí standardních roztoků NaCl dodávaných stejnou společností a přístroj je zahrnut do zkoušek odborné způsobilosti (proficiency testing) s pravidelnými úspěšnými výsledky. Bod mrznutí mléka je hodnota měřená na mléčném kryoskopu, vyjádřená ve °C. Podstata metody spočívá v podchlazení zkoušeného vzorku mléka na vhodnou teplotu a vyvolání krystalizace mechanickou vibrací, která způsobí, že teplota rychle vystoupí na hladinu, jež odpovídá bodu mrznutí mléka. Přístroj pracuje na principu vyhledávání části křivky bodu mrznutí, na které zůstává poprvé teplota konstantní nejméně 20 sekund v rozmezí $\pm 0,001$ °C.

Čas koagulace mléka syřidlem vyjadřuje schopnost mléka srážet se syřidlem, tzv. sýřitelnost mléka. Do Erlenmayerovy baňky se odměří 100 ml mléka a vytemperuje na 35 °C. Do baňky s mlékem se odpipetují 2 ml zředěného syřidla a stisknou se stopky. Za stálého

promíchávání a udržování teploty se proti světlu pozoruje na stěně baňky film. Mléko zvolna houstne a v okamžiku, kdy se na stěnách baňky objeví první vločky sýřeniny, zjistí se čas koagulace. Časové hodnoty se pohybují mezi 120 až 240 sekundami.

Kvalita koláče sýřeniny byla stanovena aspekcí a pohmatem, jedná se o subjektivní odhad kvality s hodnotami intervalu 1-4. Pro výbornou kvalitu hodnota 1, pro špatnou kvalitu sýřeniny hodnota 4. *Pevnost sýřeniny* je daná hloubkou (v cm) průniku standardně padajícího tělíska sýřeninou, tzn., že vyjadřuje opačný vztah k pevnosti. *Objem syrovátky vypuzené* (v ml) v procesu enzymatického sýření, tzv. synerese, které je způsobeno jeho stažením prostřednictvím smršťujícího se koláče sýřeniny po dobu 60 minut. *Specifická hmotnost mléka* je důležitým faktorem kontroly složení mléka a měří se pomocí hydrostatických Mohrových vah a sad závaží na principu Archimédova zákona.

Bílkovinné frakce *hrubá bílkovina*, *čistá bílkovina* a *kasein* byly stanoveny referenční metodou použitím přístrojové linky pro mineralizačně-destilační Kjeldahlovu metodu. Tecator s automatickou destilační jednotkou Kjeltac 2200 (švédská firma Foss, technologie Tecator) podle ČSN 57 0530. Tento přístroj byl zařazen pravidelně do mezinárodního zkoušení (ASLAB a ICAR-CECALAIT) s většinou úspěšnými výsledky. Stanovení bílkovin se provádí výpočtem ze stanovení celkového dusíku a vynásobením procenta celkového dusíku faktorem 6,38 se vypočte procento hrubých bílkovin. Stanovení kaseinu se provádí po jeho vysrážení zředěnou kyselinou octovou z mléka. Stanovení čistých bílkovin se provádí po jejich vysrážení 25% roztokem kyseliny trichloroctové. Dekantací se nejprve slije pře filtr roztok, sraženina se kvantitativně převede na filtr, promyje studenou vodou a poté se mineralizuje.

Na základě změření obsahu těchto bílkovinných frakcí byl dopočítán *obsah syrovátkových bílkovin* ($SB = CB - KAS$), *obsah nebílkovinných dusíkatých látek* ($NNL = CB - HB$), *podíl dusíku močoviny v nebílkovinném dusíku*, *poměr tuku a čistých bílkovin*. Dále byla vypočtena *kaseinová čísla* jako možné ukazatele sýrařské výtěžnosti mléka na bázi hrubých a čistých bílkovin v %: $KACHB$; $KACCB$.

Celkový počet mikroorganismů (CPM) v mikrobiologii potravin má význam jako základní informace o stupni mikrobiální kontaminace suroviny nebo potraviny. Vyjadřuje celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, které vyrostou na neselektivních, nutričně bohatých médiích za aerobních podmínek během inkubace při 30 °C po dobu 72 hodin. CPM by neměl překročit 100 000 KTJ.ml⁻¹ [12].

Zkouška na *stanovení koliformních bakterií* je založena na metodě přímého výsevu na Petriho misky a promíchání se specifickým kultivačním médiem. Koliformní bakterie vykazují charakteristický růst s viditelnou zónou precipitace laktosy po 24 hodinové inkubaci při 30 °C.

Pro kultivaci *Staphylococcus aureus* byl použit Baird-Parker agar, jak je doporučováno v normě ČSN EN ISO 6888-1 z roku 2004. *Staphylococcus aureus* je kultivován při 36 °C po dobu 48 hodin. Jako *S. aureus* se počítají hladké, černé nebo tmavě šedé kolonie se zónou projasnění. K identifikaci se použil koagulázový test a následné biochemické testy pomocí STAPHYtestu Pliva-Lachema, Brno a identifikačního programu TNW Pro 6.

Pro kultivaci *Streptococcus agalactiae* bylo použito TKT médium. Pro stanovení počtu *Streptococcus agalactiae* se postupovalo podle upravené normy pro předpis: ČSN 57 0101 z roku 1934. Metoda je použitelná pro sledování syrového a tepelně ošetřeného mléka a zakládá se na používání selektivně diagnostických agarových půd s β-hemolizinem

stafylokoků. Kultivace probíhala při teplotě 36 °C po dobu 24 hodin. Byly počítány kolonie s jasnou hemolytickou zónou.

Schopnost fermentace mléka jako suroviny pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků byla testována pomocí termofilní jogurtové kultury YC-180-40-FLEX, která se skládá z kmenů *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Parametry analyzující takto získaný jogurt byly stanovovány po klasické kultivační metodě při 30 °C po dobu 72 hodin s použitím GTK M agaru s monohydrátem glukosy, tryptonem, peptonem, dehydratovaným kvasničným extraktem a sušeným odstředěným mlékem, podle ČSN ISO 6610. Schopnost fermentace byla vyjádřena celkovým počtem mikroorganismů (CPMUK), celkovým počtem *Lactobacillus* a celkovým počtem *Streptococcus* a také jejich podílem (Strepto/Lacto). Všechny hodnoty byly převedeny taktéž do logaritmického vyjádření. *Kysací schopnost mléka* vyjádřená jako titrační kyselost JSH a aktivní kyselost JpH jogurtu byla prováděna jako při stanovování titrační kyselosti a pH u vzorku mléka.

Minerální látky a stopové prvky byly stanoveny metodami atomové absorpční spektrometrie. Vzorky byly zmineralizovány varem na topné desce s kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku. Všechna měření byla provedena na atomovém absorpčním spektrometru SOLAAR S4, s grafitovou kyvetou GFS97. Pro stanovení makroprvků byla použita technika plamenové AAS (Ca, Mg) a plamenové AES (K, Na). Obsahy železa a zinku byly měřeny plamenovou AAS, mangan a obsah mědi AAS s elektrotermickou atomizací. Obsah fosforu byl v mineralizátu stanoven spektrofotometricky jako fosfomolybdenová modř. Při stanovení se využívá redukce kyselinou askorbovou v prostředí kyseliny sírové za přítomnosti antimonitých iontů. Intenzita modrého zbarvení se měří na spektrofotometru při vlnové délce 820 nm. Obsah jódu byl vyšetřován fotometrickou metodou s alkalickou mineralizací (KOH) a brucinem (tzv. Bednářova varianta jako upravená Sandell-Kolthoff reakce) při 420 nm přístroje Spekol 11.

Stanovení *aminokyselinového profilu* mléčných bílkovin bylo provedeno na pracovišti Výzkumného ústavu výživy zvířat v Pohořelicích. Pro stanovení aminokyselin byly použity lyofilizované vzorky mléka po kyselé hydrolýze. Všechny hydrolyzáty byly odděleny v automatickém aminoanalyzátoru AAA 400 firmy Ingos z ČR. Analyzátor aminokyselin je speciální kompaktní kapalinový chromatograf pro analýzu aminokyselin a biogenních aminů na ionexové koloně s postkolonovou derivatizací ninhydrinem. Analyzátor využívá pufrovacího systému citrátu sodného. Sirné aminokyseliny se stanovují jako methioninsulfon a kyselina cysteová, ale pomocí programu ChromuLan se přepočítávají na cystein a methionin. Ve vzorcích bylo zkoumáno 17 aminokyselin, stanovovány nebyly aminokyseliny asparagin, glutamin a tryptofan [11].

Pomocí zjištěných obsahů jednotlivých aminokyselin bylo dále vyjádřeno jejich relativní zastoupení a dopočítána suma aminokyselin esenciálních, neesenciálních a semiesenciálních.³

³ Semiesenciální jsou aminokyseliny cystein a tyrosin [39].

3.2.1 Stanovení obsahu tuku acidometricky

Stanovení obsahu tuku acidobutyrometrickou metodou dle Gerbera vychází z předpisu ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků [19]. Principem stanovení obsahu tuku v mléce je jeho podíl, který se oddělí v butyrometru odstředěním po rozpuštění bílkovin kyselinou sírovou za přídavku amylalkoholu. Obsah tuku odečtený na stupnici butyrometru se vyjádří v g.100 ml⁻¹ mléka nebo po přepočtu v g.100 g⁻¹ mléka.

Chemikálie:

kyselina sírová 90-91%, o specifické hmotnosti = $1,817 \pm 0,003 \text{ g.cm}^{-3}$ při 20 °C (Gerberova), bezbarvá, bez nečistot, která při slepém pokusu neodděluje látky tukové povahy
amylalkohol, bezvodý, o specifické hmotnosti = 0,808 až 0,818 g.cm⁻³ při 20 °C, prostý
furfuralu, sekundárního a terciálního amylalkoholu

Pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo, skleněné kalibrované butyrometry podle ČSN 25 7631, kalibrovaná pipeta podle ČSN 70 4121 na 11 ml mléka při 20 °C, automatické pipety, odstředivka na butyrometry, třepačka na butyrometry, vodní lázeň

Postup:

Do butyrometru se odměří automatickou pipetou 10 ml kyseliny sírové a mléčnou pipetou 11 ml mléka vytemperovaného na $20 \pm 2 \text{ °C}$, které se opatrně navrství na kyselinu tak, aby se obě kapaliny nepromísily. Nakonec se přidá 1 ml amylalkoholu, butyrometr se zazátkuje pryžovou zátkou a obsah se prudce protřepá, až jsou veškeré bílkoviny rozpuštěny a nezůstávají žádné bílé částice. Po protřepání se butyrometry ještě horké ihned odstředí v temperované odstředivce. Po odstředění se butyrometry vloží do vodní lázně o teplotě 65 až 68 °C, přičemž hladina vody musí sahat nad horní okraj tukového sloupce, aby všechen tuk byl vyhříván na předepsanou teplotu. Butyrometry se vyhřívají 3 až 5 minut v lázni a pak se odečte obsah tuku. Spodní konec tukového sloupce se mírným pohybem zátky posune tak, aby se kryl s nejbližší ryskou, označující celé procento, a odečte se nejnižší bod menisku tukového sloupce.

Výpočet:

Obsah tuku v g.100 ml⁻¹ mléka (x) se vypočítá podle vzorce $x = b - a$, když a je procento tuku odpovídající dolní hladině tukového sloupce na butyrometru a b je procento tuku odpovídající spodnímu menisku horní hladiny tukového sloupce na butyrometru. Obsah tuku stanovený acidobutyrometrickou metodou s 11 ml mléka (x) se převede na obsah tuku v g.100 g⁻¹ mléka podle relevantně zjištěné korespondující specifické hmotnosti mléka nebo podle vzorce:

$$y = \frac{x + 0,04}{1,04} \quad (1)$$

Výsledky stanovení obsahu tuku se pravidelně používají pro kalibraci přístroje MilkoScan 133B, kterým byly vlastní bazénové vzorky mléka na obsah tuku analyzovány.

3.2.2 Stanovení obsahu tuku gravimetricky

Stanovení obsahu tuku gravimetrickou metodou dle Röse-Gottlieba vychází z předpisu ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků [19], aktualizovaná metoda používá Mojonnierových baněk. Principem stanovení je rozpuštění bílkovin mléka amoniakem a extrakce tuku směsí éteru a petroléteru za přídavku ethanolu. Extrahovaný tuk se váží a vyjadřuje se v g tuku na 100 g mléka.

Chemikálie:

ethanol; $96 \pm 2 \%$,

amoniak, minimálně 25% roztok

směsné rozpouštědlo dietyléter a petroléter smíchané v poměru 1:1

roztok kongočerveně (rozpuštěním 1 g kongočerveně v 100 ml destilované vody)

Pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo, Mojonnierovy extrakční baňky, analytické váhy, centrifuga, digestoř, sušárna, vodní lázeň, třepačka, kleště, nerezové misky

Postup:

Do Mojonnierových baněk se naváží 10-11 g mléka s přesností na 0,000 2 g. Do slepého vzorku se naváží stejné množství destilované vody. První extrakce začíná přidáním 2 ml roztoku amoniaku a vzorek se promíchá. Pak se přidá 10 ml ethanolu a tři kapky kongočerveně. Po promíchání se přidá 25 ml éteru a baňky se uzavřou zátkami a třepou po dobu jedné minuty na třepačce. Poté se přidá 25 ml petroléteru a opět se baňky třepou alespoň 30 sekund. Vzorky se poté odstředí na centrifuze po dobu 5 minut. Poté se vrchní éterová vrstva opatrně dekantuje do sběrných misek, tak, aby nedošlo k odlití spodní (červené) vodné vrstvy. Misky se umístí v digestoři na topnou desku o teplotě $65\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Následuje druhá extrakce a třetí extrakce se stejnými kroky. Nejprve se do Mojonnierových baněk k vodné vrstvě přidá se 5 ml ethanolu a 30 ml směsného rozpouštědla a po uzavření zátkou se třepou asi 1 minutu. Poté následuje odstředování v centrifuze po dobu 5 minut a poté se opět provede dekantace svrchní vrstvy.

Na topné desce dochází k odpařování éterové vrstvy. Po odpaření se misky suší v sušárně po dobu 1 hodiny při $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po vychladnutí se zváží. Dále se misky opět suší a váží až do konstantní hmotnosti. Stejným způsobem se provede slepý pokus s používanými chemikáliemi a 10 ml vody.

Výpočet:

$$x = \frac{[(b_1 - b) - (c_1 - c)] \times 100}{a} \quad (2)$$

a je navážený podíl mléka v g

b_1 je hmotnost misky a vyextrahovaného tuku v g

b je hmotnost misky v g

c_1 je hmotnost misky po provedení slepého pokusu v g

c je hmotnost misky slepého pokusu v g

Tato metoda je na pracovišti NRL-SM v Rapotíně dvakrát ročně kontrolována mezinárodními mezilaboratorními kruhovými testy ICAR-CECALAIT a AFEMA. Graficky znázorněný výsledek kruhového testu gravimetrické metody stanovení tuku s úspěšným výsledkem NRL-SM je přílohou „C“ této práce.

3.2.3 Stanovení obsahu laktosy

Stanovení obsahu laktosy pro účely kalibrace přístroje MilkoScan 133B vychází z předpisu ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků [19] a provádí se polarimetrickou metodou. Principem stanovení obsahu laktosy v mléčném filtrátu po předchozím vysrážení hlavních organických složek mléka je změření úhlu otáčení roviny polarizovaného světla asymetrickým uhlíkem laktosy na kruhovém polarimetru. Výsledek se přepočítá, vzhledem ke známé (tabelované) specifické otáčivosti⁴ laktosy za definovaných podmínek, na koncentraci hledaného analytu ve vzorku. Obsah mléčného cukru v mléce je množství monohydrátu laktosy vyjádřené v g.100 g⁻¹ mléka.

Chemikálie:

ferrokyanid draselný, roztok (rozpuštění 15 g K₄Fe(CN)₆·3H₂O ve vodě, v odměrné baňce doplnění na 100 ml)

síran zinečnatý, roztok (rozpuštění 30 g ZnSO₄·7 H₂O ve vodě, v odměrné baňce doplnění na 100 ml)

Pomůcky a přístroje:

Mohrova hydrostatická váha, kruhový polarimetr se sodíkovou výbojkou, polarimetrická trubice délky 200 mm

Postup:

Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 50 g mléka s přesností na 0,005 g. K mléku se pak odpipetuje nejdříve 5 ml roztoku ferrokyanidu draselného a po promíchání 5 ml roztoku síranu zinečnatého a opět se důkladně promíchá. Pak se odměrná baňka doplní vodou při 20 °C po značku. Obsah se promíchá a zfiltruje suchým skládaným filtrem do suché kádinky. První podíly filtrátu se odlévají. Čirým filtrátem, vytemperovaným přesně na 20 °C, se naplní polarizační trubice délky 200 mm a polarizuje se při 20 °C. Podle změřených stupňů kruhového polarimetru se provedou výpočty obsahu laktosy v g monohydrátu.100 g⁻¹ mléka.

Výpočet:

$$x = \frac{0,9518 p_1 \times 100 \times F}{a} \quad (3)$$

a = navážka vzorku v g

p₁ = kruhové stupně odečtené na polarimetru

⁴ Specifická otáčivost monohydrátu laktózy při 20°C je 52,53 kruhových stupňů.

F = faktor pro objemovou korekci na sraženinu vzniklou vyčechením (pro navážku 50 g kravského mléka s 3 a více % tuku činí hodnota F = 0,954)

Tato metoda je na pracovišti NRL-SM v Rapotíně dvakrát ročně kontrolována mezinárodními mezilaboratorními výkonnostními testy ICAR-CECALAIT.

3.2.4 Stanovení sušiny

Postup stanovení obsahu celkové sušiny je určen ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků. Podstatou metody je sušení vzorku do konstantní hmotnosti při 102 ± 2 °C.

Chemikálie:

křemenný písek, praný kyselinou chlorovodíkovou, vodou a vyžíhaný

Pomůcky a přístroje:

hliníkové misky, tzv. vysoušečky, sušárna, exsikátor, skleněné tyčinky, analytické váhy

Postup:

Do hliníkové misky, tzv. vysoušečky, s vloženou skleněnou tyčinkou se nasype asi 20 g vysušeného křemenného písku a poté se 30 minut suší při 102 ± 2 °C, víčko se položí vedle misky. Pak se vysoušečka s pískem vloží do exsikátoru a uzavře víčkem. Po vychladnutí se vysoušečka zváží s přesností na 0,000 2 g a rychle se do ní odpipetuje 5 ml vzorku, uzavře se víčkem a zváží se s přesností na 0,000 2 g. Vysoušečka se vzorkem se ponechá bez víčka 30 minut v sušárně při 60 °C. Během této doby se promíchává tyčinkou tak, aby nedošlo ke spečení vzorku ani vypadnutí písku. Pak se umístí do sušárny vyhřáté na 102 ± 2 °C. Víčko se umístí v sušárně vedle misky. Suší se přesně tři hodiny, pak se vysoušečka uzavře a po vychladnutí v exsikátoru se váží s přesností na 0,000 1 g. Sušení se opakuje další hodinu až do dosažení konstantní hmotnosti, tedy do té doby, kdy je úbytek hmotnosti menší nebo roven 0,01 g nebo dojde k zvýšení hmotnosti proti předchozímu vážení.

Výpočet:

$$\text{obsah sušiny (\%)} = \frac{(c - b) \times 100}{a - b} \quad (4)$$

- a hmotnost vysoušečky s pískem + navážka vzorku mléka v g
- b hmotnost vysoušečky s pískem v g
- c hmotnost vysoušečky s pískem + vysušený podíl mléka v g

3.2.5 Stanovení kyselosti podle Soxhlet-Henkela

Postup stanovení kyselosti mléka podle Soxhlet-Henkela je určen ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků [19]. Hodnota kyselosti je dána počtem mililitrů 0,25 M roztoku hydroxidu sodného spotřebovaných při titraci 100 ml mléka za přidavku fenolftaleinu jako indikátoru.

Chemikálie:

fenolftalein, 2% etanolový roztok

roztok hydroxidu sodného 0,25 M;

roztok síranu kobaltnatého (5 g $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml vody)

Pomůcky a přístroje:

titrační baňky

Postup:

Pro stanovení kyselosti mléka se odpipetuje 50 ml vzorku mléka do titrační baňky a přidají se 2 ml roztoku fenolftaleinu a titruje se roztokem 0,25 M NaOH za stálého míchání do slabě růžového zbarvení, které má srovnávací roztok. Zbarvení musí vydržet půl minuty. Srovnávací roztok mléka vznikne smícháním 50 ml mléka s 1 ml roztoku síranu kobaltnatého, jeho zbarvení je stálé asi 3 hodiny.

Výpočet:

Kyselost (x) se vypočítá v ml 0,25 M.100 ml⁻¹ mléka podle vzorce:

$$x = 2a \quad (5)$$

a je množství roztoku 0,25 M NaOH v ml, spotřebované při titraci 50 ml mléka

Stanovení titrační kyselosti jogurtu se provádí obdobně. Do titrační baňky se odváží 25 g vzorku s přesností 0,01 g, přidá se 25 ml vody, 1 ml fenolftaleinového roztoku, zamíchá se a titruje se 0,25 M NaOH, jak bylo uvedeno u stanovení titrační kyselosti mléka. Výpočet kyselosti se v 0,25 M NaOH vypočítá podle vzorce:

$$x = 4a \quad (6)$$

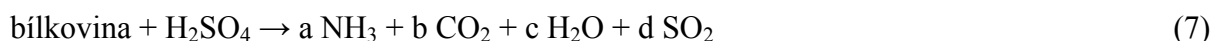
a je množství 0,25 M NaOH v ml spotřebované na neutralizaci 25 g vzorku

3.2.6 Stanovení obsahu hrubých bílkovin

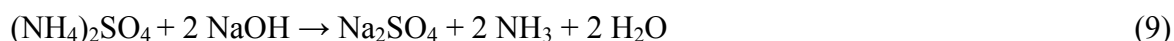
Postup stanovení obsahu hrubých bílkovin mléka je určen ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků [19]. Obsah hrubých bílkovin ve vzorku vychází ze stanovení celkového dusíku podle Kjeldahla, zahrnující obsah dusíku bílkovinné i nebílkovinné povahy, s následným vynásobením konvenčním faktorem pro mléčné bílkoviny 6,38. Výsledek vyjádří obsah hrubých bílkovin v g.100 g⁻¹ mléka.

Principem tohoto stanovení je převedení dusíkatých sloučenin v průběhu mineralizace vzorku kyselinou sírovou na amonné soli. Z nich se amoniak uvolní přidávkem zásady a destilací se převede do roztoku kyseliny s indikátorem. Titračně zjištěné množství amoniaku se přepočtem vyjádří jako dusík.

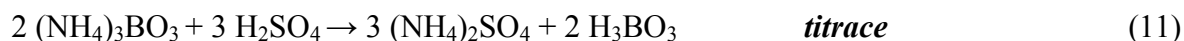
Princip stanovení dusíku ve vzorku pomocí rovnic reakcí [40]:



mineralizace



destilace



titrace

Chemikálie:

kyselina sírová, koncentrovaná o $\rho = 1\,840 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$
hydroxidu sodného, roztok (rozpuštěním 33 g NaOH v 100 ml vody)
katalyzátor (32 g Na_2SO_4 se rozetře s 5 g $\text{CuSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ a 1 g selenu)
kyselina boritá, 4% roztok
směsný indikátor (rozpuštěním 0,2 g metylčerveně a 0,1 g metylenové modři se rozpustí ve 100 ml 96% ethanolu)

Pomůcky a přístroje:

poloautomatický destilační přístroj Kjeltec 2200
speciální Kjeldahlovy mineralizační baňky dostatečného objemu, které jsou uzpůsobeny k přímému napojení na destilační přístroj

Postup:

Pro zkoušku stanovení celkového dusíku se odváží asi 2-3 g mléka do Kjeldahlovy mineralizační baňky, přidá se 10 ml koncentrované kyseliny sírové a asi 5 g katalyzátoru. Stojan s baňkami se dále umístí do mineralizačního bloku s regulovaným ohřevem a mineralizuje se po dobu 130 minut.

Po ukončení spalování je nutno kyvety ochladit a poté zředit asi 50 ml destilované vody. Kyveta je poté připevněna k držáku destilačního přístroje Kjeltec 2200, který se předtím nastavil na požadované hodnoty. Po skončení destilace se jímací baňka přenesse na titrační jednotku a pomocí tyčinky se titruje standardním roztokem 0,1 M kyseliny H_2SO_4 za přídavku indikátoru do změny barvy (dle předlohy barvy slepého vzorku).

Výpočet:

$$N (\%) = \frac{0,0014 \times 100 \times \text{titrant kyseliny (ml)}}{\text{hmotnost vzorku (g)}} \quad (12)$$

Tato metoda je na pracovišti NRL-SM v Rapotíně pravidelně kontrolována mezinárodními mezilaboratorními kruhovými testy AFEMA. Součástí přílohy „C“ je také graficky znázorněný výsledek kruhového testu Kjeldahlovy metody.

3.2.7 Stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM)

V praxi se metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů provádí podle normy ČSN ISO 6610 [41]. Jedná se o horizontální metodu pro stanovení celkového počtu bakterií, kvasinek a plísní tvořících počítatelné kolonie. Podstatou zkoušky je naočkování výchozího vzorku mléka a jeho desetinásobných ředění na specifickou kultivační půdu a jejich spočítání po aerobní inkubaci při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Stanoví se počet mikroorganismů v mililitru nebo v gramu vzorku z počtu kolonií získaných na vybraných plotnách.

Chemikálie:

dehydratovaná kompletní půda složená z agaru, kvasničného extraktu, tryptonu a glukózy monohydrátu, sušené odtučněné mléko, fyziologický roztok s peptonem

Pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo, autokláv, Petriho misky, termostat, vodní lázeň, automatická pipeta

Postup:

Připraví se kultivační půda dle návodu výrobce, přidá se sušené odstředěné mléko a zahřívá se k varu za častého promíchání. Půda musí být sterilizována v autoklávu při 105 °C po dobu 15 minut a poté vychlazena a ve vodní lázni temperována na 44 až 47 °C. Pro inokulaci Petriho misek se připraví pomocí fyziologického roztoku desetinásobné ředění, tedy 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , popř. 10^{-4} , tedy tak, aby některé z misek po sobě jdoucích ředěních po inkubaci poskytl počty kolonií mezi 15-300 na miskou. Očkuje se po 1 ml souběžně do dvou sterilních a řádně označených Petriho misek. Na očkování dalších ředění se musí vždy použít nová sterilní špička pipety.

Inokulum v každé Petriho misce se přelije 12 ml – 15 ml kultivační půdy předem roztavené a udržované při 45 °C ve vodní lázni. Inokulum se s půdou pečlivě pomíchá kolébáním Petriho miskou a směs se nechá utuhnout ponecháním misek na chladné vodorovné ploše. Poté se plotny obrátí dnem vzhůru, umístí do termostatu při teplotě 30 °C na 72 ± 3 hodiny. Sloupce nemají být vyšší než 6 ploten, mají být odděleny od sebe navzájem i od stěn a stropu termostatu.

Výpočet:

Po určené době inkubace se spočítají kolie na plotnách. Misky se prohlížejí v procházejícím světle. Počet mikroorganismů přítomných ve vzorku (N) se vypočítá jeho vážený průměr ze dvou po sobě jdoucích ředění podle následujících vzorců dle počtu ředění:

ze dvou ředění:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

ze tří ředění:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2 + 0,01n_3)d}$$

(13, 14)

ΣC součet všech kolonií spočítaných na vybraných plotnách

n_1 počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění, které poskytlo 10-300 kolonií

n_2 počet ploten použitých pro výpočet z druhého ředění, které poskytlo 10-300 kolonií

atd.

d faktor prvního pro výpočet použitého ředění

3.2.8 Stanovení koliformních bakterií

V praxi se metoda pro stanovení počtu koliformních mikroorganismů provádí podle normy ČSN ISO 5541/1 [42]. Podstatou zkoušky je smíchání určeného objemu zkušební vzorku a řady jeho desetinásobných ředění s kultivační půdou v Petriho miskách, inkubace naočkovaných ploten při 30 °C po dobu 24 hodin a spočítání charakteristických kolonií.

Chemikálie:

ředicí roztok (rozpuštěním 1 g peptonu a 8,5 g NaCl v 1 000 ml vody)
kultivační půda (VRBL⁵) připravena dle návodu výrobce

Pomůcky a přístroje:

autokláv, Petriho misky, termostat, vodní lázeň

Postup:

Analytický vzorek se pečlivě promíchá převrácením nádoby tak, aby mikroorganismy byly rovnoměrně rozmístěny. Pipetou se odebere 1 ml analytického vzorku a přidá se 9 ml ředicího roztoku, takto vznikne primární ředění, 10^{-1} . Pomocí nové pipety se 1 ml primárního ředění přeneso do zkumavky obsahující 9 ml sterilního ředicího roztoku. V případě potřeby se opakováním postupu připraví z ředění 10^{-2} ředění 10^{-3} a 10^{-4} atd. Připraví se taková ředění, aby byly získány plotny s počtem kolonií pokud možno větším než 10 a menším než 150.

Ke každému vzorku a ke každému zvolenému ředění se připraví dvě misky. Pomocí pipety se přeneso 1 ml vzorku nebo jeho ředění do středu každé misky. Asi 12 ml VRBL agarů o teplotě $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ se zalije inokulum v každé Petriho misce. Krouživým pohybem Petriho miskou se inokulum s půdou ihned promíchá, aby kolonie po inkubaci byly rovnoměrně rozmístěné. Ponechá se utuhnout na chladném vodorovném povrchu. Po úplném ztuhnutí se povrch zaočkované půdy přelije ještě 4 ml VRBL agarů o teplotě $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Plotny se inkubují v poloze dnem vzhůru. Do sloupce se neukládá více než 6 ploten. Sloupce ploten se oddělují jeden od druhého a od stěn a stropu termostatu. Inkubuje se při $30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 24 ± 2 hodiny.

Po inkubaci se vyberou plotny obsahující více než 10 a méně než 150 kolonií. Počítají se tmavočervené kolonie o průměru alespoň 0,5 mm, které jsou charakteristické pro koliformní bakterie. U vzorků mléka, u kterých se nepředpokládá obsah jiných cukrů než je laktosa, se očekávají typické kolonie koliformních bakterií a proto se neprovádí konfirmační test.

Výpočet:

Počet koliformních bakterií na mililitr se vypočítá dle vzorců dle počtu ředění:

ze dvou ředění:

$$x = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

ze tří ředění:

$$x = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2 + 0,01n_3)d}$$

(15, 16)

ΣC je součet kolonií

d je první pro výpočet použité ředění

⁵ VRBL je agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou

n_1 je počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění
 n_2 je počet ploten použitých pro výpočet ze druhého ředění atd.

3.2.9 Stanovení počtu somatických buněk (PSB)

Počet somatických buněk byl stanoven podle standardního operačního postupu, který vychází z ČSN EN ISO 13366-3 Stanovení počtu somatických buněk, část 3: Fluoro-opto-elektronická metoda [20].

Podstatou zkoušky je obarvení jaderných somatických buněk bílé krevní řady v mléce fluorescenčním barvivem a jejich následná registrace pomocí světelných impulsů po ozáření. Jedná se o metodu fluoro-opto-elektronickou pomocí přístroje Fossomatic 90 dánské firmy Foss Electric, který je v určitých časových intervalech kontrolován oproti výsledkům přímé mikroskopické metody, která je referenční.

Chemikálie:

ethidium-bromid, toxické barvivo (0,250 g se rozpustí v 250 ml destilované vody)

Tritonu X-100, koncentrát (2 ml rozpustí v 200 ml destilované vody)

pufr (rozpuštěním 25,5 g hydrogenftalátu draselného a 6,88 g hydroxidu draselného v 5 l destilované vody a přidáním 75 ml roztoku Triton X-100)

barvicí roztok (smícháním 2,5 l pufru se 26 ml barviva)

proplachovací roztok (10 l destilované vody, 10 ml roztoku Triton X100 a 25 ml 25% roztoku amoniaku)

Pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo, poloautomatická mikropipeta na 0,5 ml, vodní lázeň, přístroj Fossomatic 90

Postup:

Nejprve se doplní proplachovací a barvicí roztok do určených nádob. Po zapnutí kompresoru a po natlakování vzduchu se zapne přístroj hlavním vypínačem. Nejprve se provede kontrola slepým měřením, kdy do komory není zaveden vzorek, pouze se naplní barvicím roztokem, který se změří. Pokud hodnota na displeji ukazuje nulu, mohou být dávkovány jednotlivé vzorky v množství do 0,5 ml ruční pipetou. Vzorky musí být vytemperované na 40 ± 2 °C ve vodní lázni a promíchány několikrát manuálním překlopením.

Při měření jednotlivých vzorků s použitím stejné špičky pipety musí být vzorek pokaždé dvakrát nabrán a dvakrát odstříknut do odpadní nádoby. Pak se teprve nabere vzorek a pomalu odstříkne do komory tak, aby pipeta byla řádně vyprázdněná, a pokračuje se postupně po jednotlivých vzorcích.

Testované mléko je po smíchání s tlumivým a barvicím roztokem nanášeno v tenkém filmu na rotující disk v podobě "nekonečného pásu". Obarvené buněčné jádro emituje po vybuzení světelné záření, které je registrováno detektorem jako elektronický impuls, který je po zesílení a filtraci pomocí diskriminačních hladin zachycen jako přítomnost somatické buňky. Počet somatických buněk (PSB) je odečítán v tisících v jednom mililitru mléka na displeji.

Kontrola přístroje Fossomatic se na pracovišti NRL-SM provádí pomocí komerčně dostupných referenčních standardů (SVÚ Praha) čtyřikrát za rok v rámci mezilaboratorních výkonnostních testů.

3.2.10 Stanovení fosforu

V praxi se analýza stanovení fosforu provádí podle ČSN ISO 9874 [43]. Podstatou zkoušky je mineralizace vzorku mléka mokrou cestou s použitím kyseliny sírové a peroxidu vodíku. Molybdenová modř se vytvoří přidáním roztoku molybdenan/kyselina askorbová a měří se absorbance při vlnové délce 820 nm pomocí molekulárního absorpčního spektrometru.

Chemikálie:

kyselina sírová, koncentrovaná, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 18 \text{ mol.l}^{-1}$

peroxid vodíku, $c(\text{H}_2\text{O}_2)$ prostý látek obsahujících fosfor

molybdenan sodný, roztok, $c(\text{Na}_2\text{MoO}_4) \approx 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$

kyselina askorbová, roztok, $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \approx 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$

standardní roztok A (rozpuštěním 0,439 4 g vysušeného KH_2PO_4 v 1 000 ml vody)

Pomůcky a přístroje:

běžné laboratorní sklo, spektrometr SOLAAR S4 s grafitovou kyvetou GFS97, vodní lázeň

Postup:

Do mineralizační baňky se naváží 1,5 g zkušební vzorku, který byl vytemperován na 20 °C. Přidají se tři skleněné perličky a 4 ml koncentrované kyseliny sírové. Baňka se umístí do nakloněné polohy a zahřívá se na elektrickém vařiči v dobře odvětrané digestoři. Směs se udržuje v mírném varu. Jakmile směs přestane pění, zchladí se na vzduchu na teplotu místnosti. Opatrně se přidá 2 ml peroxidu vodíku a směs se znovu zahřeje a občas se obsah promíchá. Až je obsah čitý a bezbarvý, ochladí se směs na teplotu laboratoře a hrdlo baňky se opláchne přibližně 2 ml vody. Znovu se obsah zahřívá, až do odpaření vody.

Kapalina se nechá vřít přibližně 30 minut, aby se rozložily všechny stopy peroxidu. Poté se směs na vzduchu zchladí na teplotu laboratoře. Kapalný obsah se kvantitativně přenesení do 100 ml odměrné baňky a zředí se k rysce vodou a dobře se promíchá. Pipetuje se 2 ml zkušební roztoku do 50 ml odměrné baňky a zředí se přibližně 25 ml vody. Přidá se 2 ml roztoku molybdenan/kyselina askorbové. Zředí se vodou k rysce a dobře se promíchá. Obsah baňky se vaří ve vodní lázni po dobu 15 minut. Směs se zchladí ve studené vodě na teplotu místnosti a spektrometrické stanovení se provede do jedné hodiny.

Kalibrační graf se sestojí pomocí série odměrných baněk, do kterých byl odpipetován standardní roztok B s obsahem fosforu 10 mg.l^{-1} o objemech 0, 1, 2, 3 a 5 ml. Standardní roztok B byl připraven desetinásobným zředěním standardního roztoku A, obsahující $100 \text{ mg fosforu.l}^{-1}$

K obsahu každé odměrné baňky se přidají 2 ml roztoku molybden/kyselina askorbová, který byl přichystán bezprostředně před použitím z 25 ml roztoku molybdenanu sodného a 20 ml roztoku kyseliny askorbové, zředěn do 100 ml vodou a promíchán. Každý roztok se zředí k rysce vodou a dobře se promíchá. Výsledné roztoky obsahují 0, 10, 20, 30 a 50 μg fosforu v 50 ml. Obsah baněk se vaří ve vodní lázni po dobu 15 minut. Roztoky se zchladí ve studené vodě na teplotu místnosti a proměří se absorbance každého kalibračního roztoku proti roztoku, který obsahuje 0 μg fosforu s použitím spektrometru SOLAAR S4 při vlnové délce 820 nm, v kyvetách o optické dráze 10 mm.

Hodnoty absorbance se vynesou do grafu proti hmotnosti fosforu, který obsahují kalibrační roztoky. Spektrometrické měření zkušební roztoku proti slepému pokusu se provádí s použitím spektrometru taktéž při vlnové délce 820 nm v kyvetách o optické dráze 10 mm.

S použitím kalibračního grafu se stanoví hmotnost fosforu odpovídající v grafu hodnotě absorbance zkušební roztoku (m_1). S použitím následující rovnice se vypočítá celkový obsah fosforu w_p vyjádřený jako hmotnostní podíl v procentech.

Výpočet:

$$w_p (\%) = \frac{m_1}{200 m_0} \quad (17)$$

m_0 je hmotnost zkušební dílu v gramech

3.3 Statistické vyhodnocení datových souborů

U jednotlivých mléčných parametrů byl ze souboru naměřených hodnot v programu Microsoft Excel vypočítán aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient, výběrový variační koeficient, výběrová směrodatná odchylka, variační rozpětí, horní a dolní kvartil a medián a byla vyjádřena minimální a maximální hodnota.

V případě neexistence normální frekvenční distribuce dat byly hodnoty některých mléčných ukazatelů hodnoceny vedle původní také v logaritmicky transformované formě s následnou aplikací geometrických průměrů vedle aritmetických.

Tabulka č. 4. Statistické charakteristiky popisující soubory dat

velikost souboru	n
aritmetický průměr	x
geometrický průměr	x _g
výběrová směrodatná odchylka	s _{x_v}
výběrový variační koeficient	v _{x_v}
směrodatná odchylka	s _x
variační koeficient	v _x
minimální hodnota v souboru	min
maximální hodnota v souboru	max
variační rozpětí	R _{max.-min}
medián	medián
horní kvartil	horní q
dolní kvartil	dolní q

Statistické charakteristiky s jednotlivými hodnotami jsou uvedené v přehledné tabulce jako příloha „B“ této práce.

Statistické zpracování dat dále zahrnovalo testování rozdílů mezi naměřenými hodnotami jednotlivých parametrů pomocí ⁶Studentova t-testu mezi jednotlivými soubory dat získaných z ekologických a konvenčních podmínek. Výpočet je založen na rozdílu mezi průměry obou výběrů ($\bar{x}_A, \bar{x}_B$), variabilitě sledované veličiny (sx_A, sx_B) a velikosti obou výběrů (n).

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{n - 1}}{\sqrt{sx_A^2 + sx_B^2}} \quad t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{\sqrt{\frac{sx_A^2}{n_A - 1} + \frac{sx_B^2}{n_B - 1}}} \quad (18, 19)$$

Obrázek č. 6. Rovnice Studentova t-testu pro stejné a rozdílné velikosti souborů

Hladina významnosti rozdílu, která představuje pravděpodobnost chyby, byla získána porovnáním hodnoty t-testu s kritickými hodnotami Studentova rozdělení zjištěných pomocí statistických funkcí programu MS Excel.

Tabulka č. 5. Statistická významnost a její tradiční znázornění hvězdičkami

$P \leq 0,001$	***	velmi významný rozdíl
$P \leq 0,01$	**	vysoce významný rozdíl
$P \leq 0,05$	*	významný rozdíl
$P > 0,05$	ns	nevýznamný rozdíl (ns = no significance)

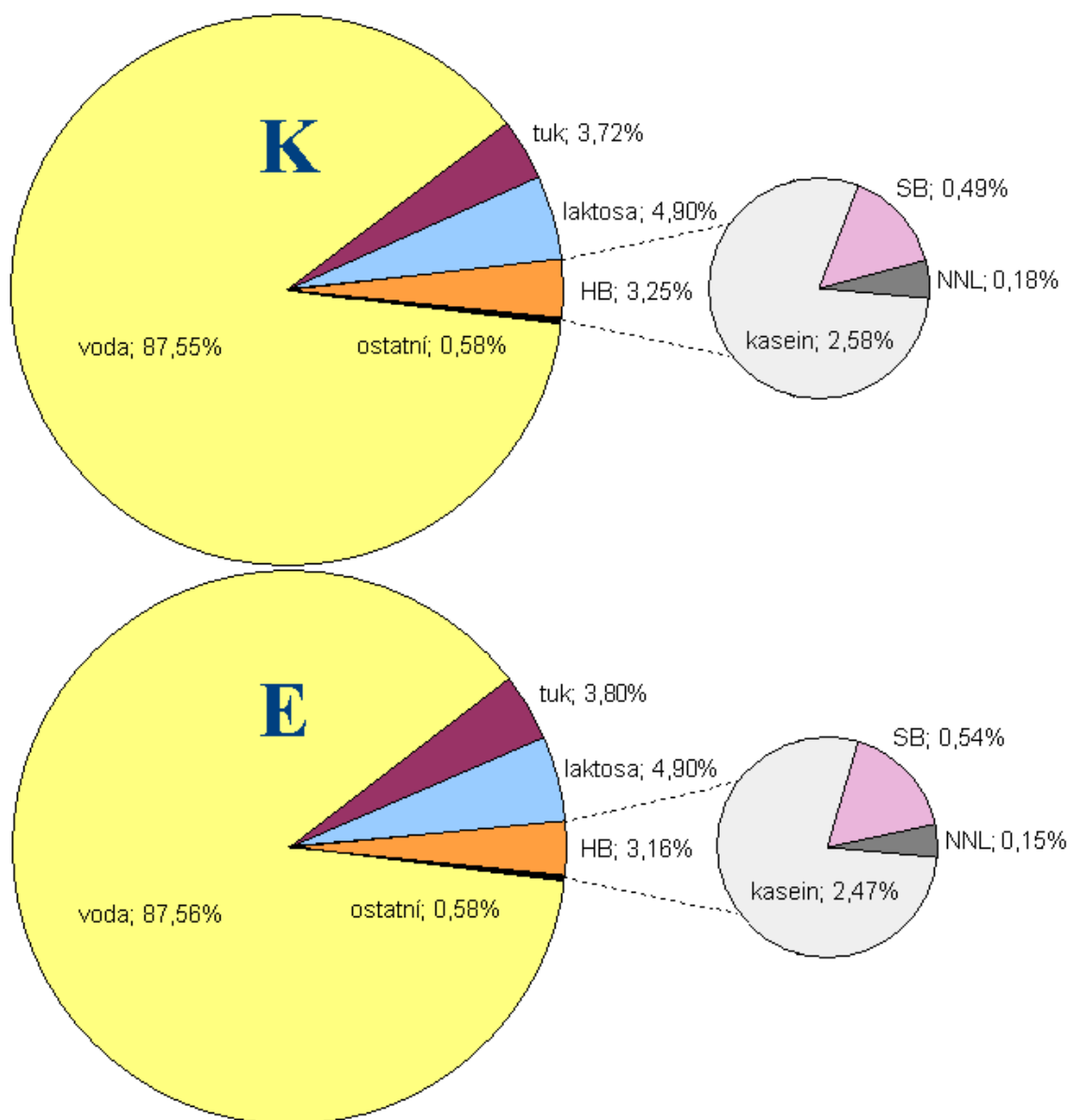
⁶ Studentův t-test – jeden z nejčastěji používaných statistických parametrických testů pro ověřování významnosti rozdílů mezi výběrovými průměry. Pseudonym Student používal William S. Gosset. Byl to chemik pracující ve výzkumné laboratoři irského pivovaru Guinness [44].

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo u bazénových vzorků mléka zjišťováno 96 mléčných parametrů. Rozdíly v obsahu jednotlivých chemických složek mléka produkované mléčnou žlázou odráží životní podmínky dojníc, toto složení dále udává technologické vlastnosti mléka. Způsob chovu také ovlivňuje hygienické vlastnosti mléka. Cílem práce bylo posoudit možný dopad rozdílných způsobů chovu na široké spektrum mléčných složek a vlastností.

4.1 Rozdíl v obsahu majoritních a minoritních složek

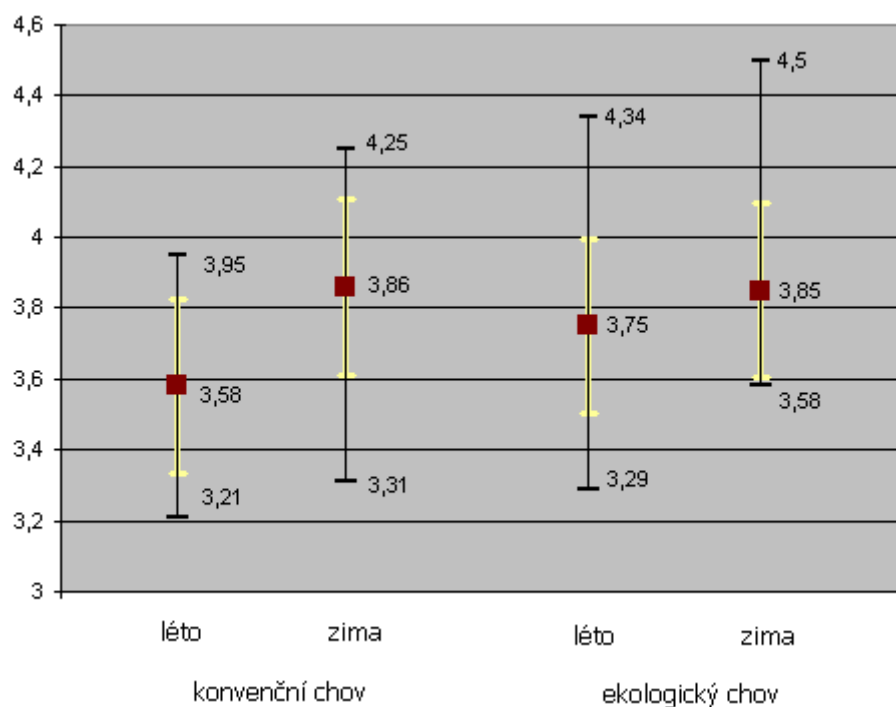
Obsah vody a tedy celkové sušiny nevyšel statisticky významný ($P > 0,05$). Významné rozdíly však byly odhaleny u některých složek sušiny.



Obrázek č. 7. Chemické složení mléka v závislosti na způsobu chovu

4.1.1 Obsah tuku

Obsah tuku v mléce byl stanoven pomocí přístroje MilkoScan 133B, který je pro stanovení tuku pravidelně kalibrován podle výsledků referenčních metod, metody acidometrické nebo gravimetrické. Referenční metody jsou popsány v kapitole 3.2.1 a 3.2.2.



Obrázek č. 8. Graf závislosti obsahu mléčného tuku v % na způsobu chovu a sezóně

Obsah tuku je poměrně variabilní a závisí na skladbě krmiva. Nebyla však zjištěna žádná statistická významnost v obsahu tuku mezi mléky z ekologického a konvenčního chovu. Statistickou významnost lze však sledovat v závislosti na ročním období, a to u vzorků z konvenčního hospodářství. Statisticky významný rozdíl v obsahu tuku mezi létem a zimou vyšel na hladině statistické významnosti $P \leq 0,01$.

Obsah tuku mléka získaného z ekologických hospodářských podmínek, jak je patrné z grafu, se v závislosti na ročním období příliš nelišil. Z obou hospodářských podmínek však vzorky mléka získané v zimním období obsahovaly vyšší procento tuku než vzorky získané v létě.

4.1.2 Obsah laktosy

Obsah laktosy byl také stanoven na přístroji MilkoScan 133B, který je pro stanovení obsahu laktosy pravidelně kalibrován podle výsledku referenční polarimetrické metody, která je popisována v kapitole 3.2.3.

V závislosti na rozdílných způsobech chovu se obsah laktosy statisticky nelišil. Jak bylo uvedeno v úvodu, obsah laktosy je nejméně variabilní složka mléka, způsobená osmotickým působením laktosy [7, 12].

4.1.3 Obsah dusíkatých sloučenin

Pomocí Kjeldahlovy metody popsané v kapitole 3.2.6 byly hodnoceny rozdíly v obsahu sloučenin obsahujících dusík a jejich poměrové vztahy k sobě navzájem nebo jiným složkám mléka. Z tabulky č. 6 jsou patrné průměrné hodnoty s jejich směrodatnými odchylkami, hodnota t-testu a statistická významnost rozdílu daná porovnáním s kritickými hodnotami Studentova rozdělení.

Nejvýznamnější rozdíl byl odhalen v obsahu kaseinu a také v jeho poměrném zastoupení ve frakci čistých bílkovin - kaseinové číslo KACCB. Pro vzorky mléka z konvenčního chovu jsou tyto hodnoty vyšší, a proto je mléko z konvenčního chovu vhodnější pro výrobu sýra. Obsah nebílkovinného dusíku (NNL) i podílu dusíku močoviny na tomto nebílkovinném dusíku (MNN) je statisticky vyšší u mléka z konvenčního chovu.

Tabulka č. 6. Srovnání mléčných ukazatelů obsahujících dusík

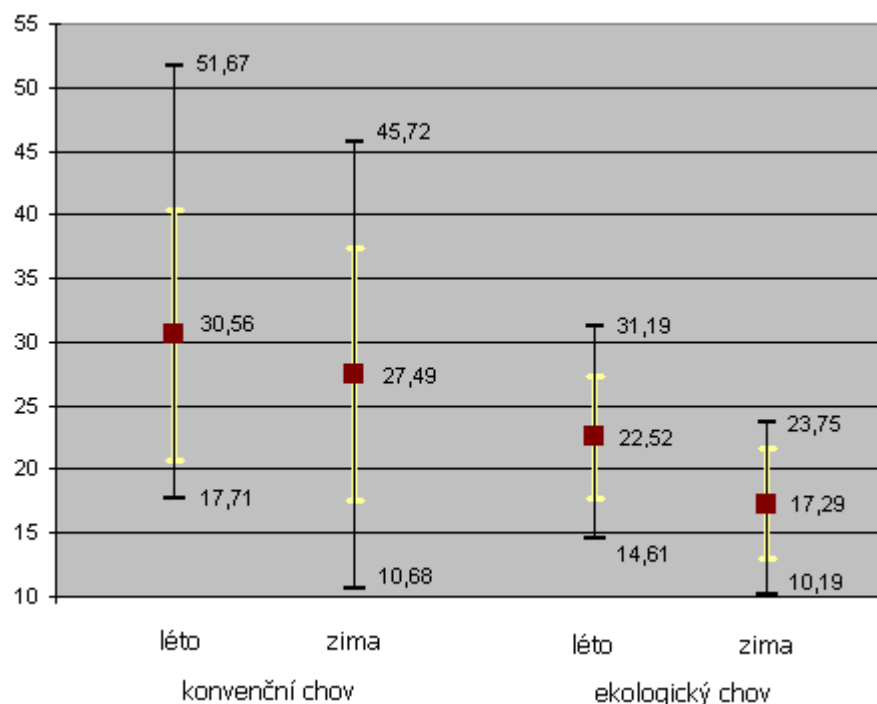
ukazatel	jednotka	konvenční (d ± sx)	ekologický (d ± sx)	t-test	statistická významnost
hrubá bílkovina	%	3,25 ± 0,13	3,16 ± 0,13	2,68	**
kasein	%	2,58 ± 0,11	2,47 ± 0,13	3,58	***
čistá bílkovina	%	3,07 ± 0,11	3,01 ± 0,13	1,89	ns
syrovátková b.	%	0,49 ± 0,07	0,54 ± 0,07	2,77	**
NNL	%	0,18 ± 0,04	0,15 ± 0,04	2,75	**
MNN	%	49,00 ± 16,34	40,81 ± 12,69	2,17	*
T/B	-	1,15 ± 0,08	1,20 ± 0,10	2,15	*
KACHB	%	79,58 ± 2,40	78,12 ± 2,12	2,5	*
KACCB	%	84,11 ± 2,20	81,99 ± 2,21	3,73	***

NNL – nebílkovinné dusíkaté látky; MNN - zastoupení dusíku močoviny v nebílkovinných dusíkatých látkách; T/B poměr tuku a bílkovin; KACHB a KACCB – kaseinové číslo na bázi hrubých (HB) a čistých bílkovin (CB); *** = $P \leq 0,001$; ** = $P \leq 0,01$; * = $P \leq 0,05$; ns = $P > 0,05$

4.1.4 Obsah močoviny

Obsah močoviny v mléce byl stanoven pomocí přístroje Spekol 11. Obsah močoviny ve vzorcích mléka z konvenčních chovů byl statisticky vyšší ($P < 0,001$) oproti mléku z konvenčního hospodářství. To odpovídá naměřenému vyššímu obsahu NNL a MNN u vzorků mléka z konvenčních chovů zmíněného výše. Toto je ve zdánlivém rozporu s fakty v literatuře, popisující vyšší obsah močoviny v mléce od pasených dojníc [24].

Vyšší obsah močoviny v mléce u konvenčních stád může nasvědčovat nevyužití dusíku krmiva tělem dojnice a znamená tedy ztráty, případně může nasvědčovat na katabolismus tělních bílkovin.



Obrázek č. 9. Graf závislosti obsahu močoviny v mg.100 ml^{-1} mléka na způsobu chovu a sezóně

Pro přesnější zdůvodnění srovnáme obsah močoviny v mléce s množstvím čistých bílkovin mléka, konvenčně chovaná stáda měla obsah močoviny průměrně $29,03 \pm 10,02 \text{ mg.100 ml}^{-1}$ a obsah čistých bílkovin $3,07 \pm 0,11 \text{ mg.100 ml}^{-1}$ a ekologicky chovaná stáda měla obsah močoviny průměrně $19,91 \pm 5,23 \text{ mg.100 ml}^{-1}$ a obsah čistých bílkovin nižší $3,01 \pm 0,13 \text{ mg.100 ml}^{-1}$. Pro konvenčně chovaná stáda to znamená lepší konverzi dusíkatých látek do bílkovin mléka při současném přebytku dusíku krmiva. Pro ekologicky chovaná stáda by tyto hodnoty mohly znamenat proteinový a energetický deficit krmiva a nižší schopnost tvorby bílkovin mikrobiální činností [21].

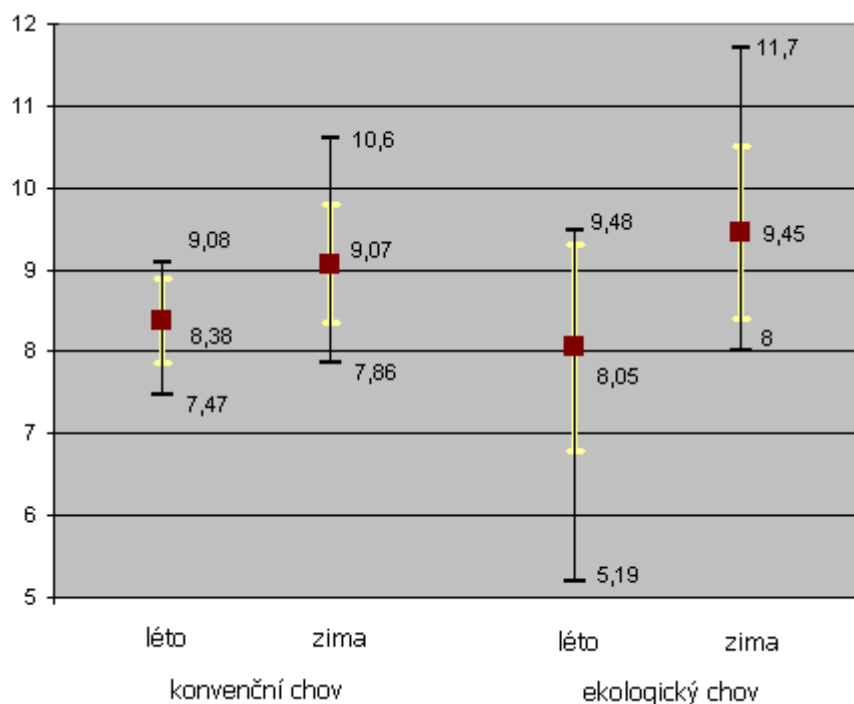
4.1.5 Obsah acetonu a kyseliny citrónové

Stanovení acetonu a kyseliny citrónové bylo provedeno po příslušných úpravách vzorku mléka popsanych v kapitole 3.2 pomocí spektrofotometru Spekol 11. Zjištěné výsledky obsahu acetonu v absolutních hodnotách, pro ekologická stáda průměrná hodnota $6,31 \pm 3,59 \text{ mg.l}^{-1}$ a pro konvenční stáda hodnota $4,66 \pm 3,13 \text{ mg.l}^{-1}$, nevykazovaly významný rozdíl. V logaritmických hodnotách obsahu acetonu byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($P \leq 0,05$) při průměrných hodnotách pro mléko z ekologického chovu $0,732 \pm 0,246$ pro mléko z ekologického chovu a $0,605 \pm 0,223$ pro mléko z konvenčního chovu.

Vyšší koncentrace acetonu v mléce jako zplodiny energetického metabolismu, která se zvyšuje při energetickém deficitu zvířat a tukovém katabolismu, naznačují potřebu řešení energetické výživy dojníc na ekologických farmách a podporu zkrmování přirozených hepatoprotektivních krmiv, např. ostropestřce mariánského [45].

Zjištěný vyšší obsah acetonu v mléce by mohl poukazovat na riziko rozvoje ketózového stavu u dojníc daný energetickým nedostatkem, na který kromě zvýšené ketogeneze může

poukazovat snížení množství meziproduktů cyklu trikarboxylové kyseliny v extracelulárních tekutinách, tedy i snížení obsahu kyseliny citrónové v mléce. Jak se mění obsah kyseliny citrónové v mléce v závislosti na způsobu chovu a ročním období ukazuje následující graf.



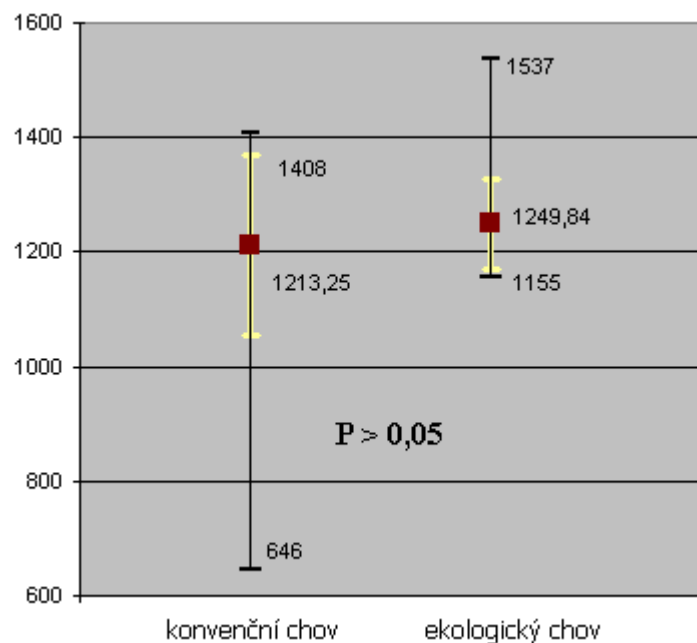
Obrázek č. 10. Graf závislosti obsahu kys. citrónové v mmol.l⁻¹ na způsobu chovu a sezóně

Z grafu je patrný vyšší výskyt kyseliny citrónové ve vzorcích mléka v zimních měsících u obou způsobů chovu, v porovnání chovů navzájem je pak výskyt vyšší ve vzorcích mléka z konvenčního chovu, rozdíl však není statisticky významný. Sledované by mohlo poukazovat na energetický nedostatek dojníc v letních měsících, s vyšším rizikem pro ekologicky chované dojnice.

4.1.6 Obsah minerálních látek a stopových prvků

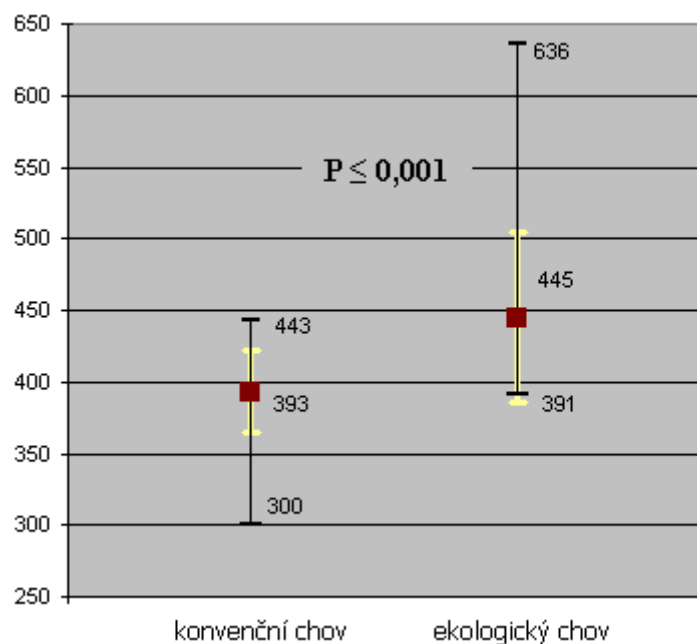
Obsah minerálních látek a stopových prvků v mléce byl stanoveny metodami atomové absorpční spektrometrie po mokré mineralizaci vzorků mléka.

Mléko a mléčné výrobky jsou u široké populace známé svou důležitostí pro příjem minerálního prvku vápníku. Rozdíl v obsahu vápníku ve vzorcích se na způsobu chovu dojníc statisticky nelišil, nelišil se ani v závislosti na ročním období. Dle grafu je patrná poměrně vysoká variabilita v obsahu vápníku vzorků mlék z konvenčního chovu. Absolutně nejvíce vápníku bylo zjištěno u jednoho bazénového vzorku mléka z ekologického chovu přesahující hodnotu 1,5 g.l⁻¹. Vysvětlení této maximální hodnoty by mohlo souviset s faktem, že ekologicky chované dojnice jsou na pastvě častěji vystaveny slunečnímu záření ve srovnání s konvenčně chovanými stády. Ekologicky chované dojnice tak mohou využít vápník z krmiv účinněji s ohledem na fyziologický předpoklad vyšší produkce kalciferolu [46].



Obrázek č. 11. Graf závislosti obsahu vápníku v mg.kg^{-1} mléka na způsobu chovu

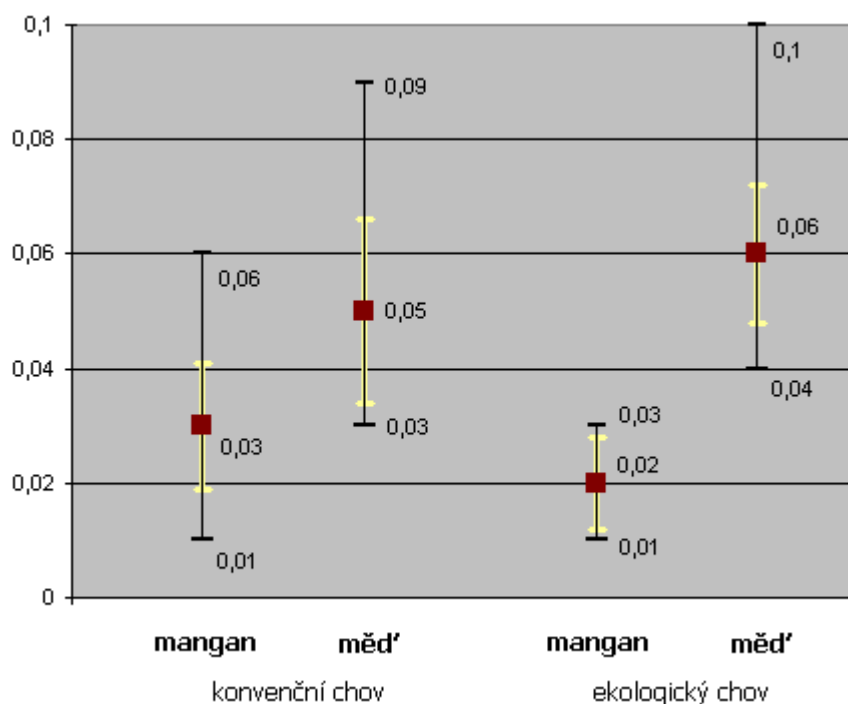
Statisticky významný nebyl ani rozdíl v obsahu fosforu ve vzorcích mléka, který byl stanovován metodou určenou ČSN ISO 9874, zmíněnou v kapitole 3.2.10. Na hladině statistické významnosti $P \leq 0,001$ se lišil obsah sodíku mezi oběma chovy. Na daný rozdíl názorně upozorňuje následující graf. Vyšší obsah sodíku byl odhalen u bazénových vzorků mléka z ekologických chovů, kde se také nacházela maximální hodnota jeho obsahu.



Obrázek č. 12. Graf závislosti obsahu sodíku v mg.kg^{-1} na způsobu chovu

U dalšího důležitého nutričního minerálního prvku hořčíku a draslíku nebyly odhaleny statisticky významné rozdíly v jejich obsahu. Nicméně, zjištěné vyšší hodnoty obsahů minerálních prvků Ca, Na ($P < 0,001$) a Mg v mléce z ekologických hospodářských podmínek potvrzují na v úvodu zmiňovanou hypotézu o zvyšování obsahu těch minerálních prvků z důvodu poklesu NPK hnojení.

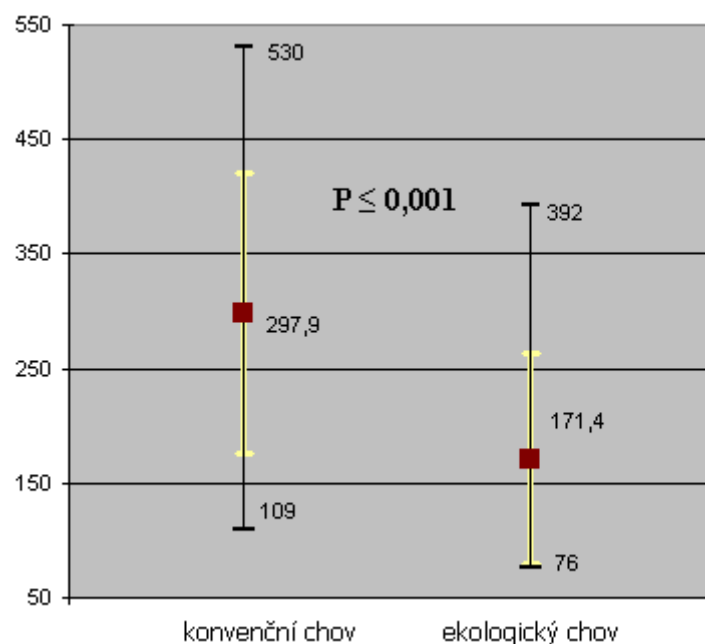
Při porovnání obsahů mikronutrientů byl odhalen rozdíl u obsahu manganu a mědi, jak je patrné z následujícího grafu. Obsah mědi byl u mléka z ekologického chovu vyšší ($P < 0,01$), ale obsah manganu byl nižší ($P < 0,001$).



Obrázek č. 13. Graf závislosti obsahu manganu a mědi v mg.kg^{-1} v mléce na způsobu chovu

Rozdíl v průměrném obsahu jódu v mléce z konvenčního chovu ($297,9 \pm 122,7 \mu\text{g.l}^{-1}$) a z ekologického chovu ($171,4 \pm 91,7 \mu\text{g.l}^{-1}$) je statisticky významný. Vyšší obsah jódu z konvenčních hospodářských podmínek může být vysvětlen častějším použitím jodové dezinfekce při ošetření struků krav (difúze do mléka přes tkáň) a absence tohoto ošetření u krav z ekologického chovu. To potvrzuje také vysoká hodnota směrodatné odchylky a tedy variabilita v obsahu jódu uvnitř souboru, která může být dána jinými technologickými přístupy v průběhu dojení mezi jednotlivými konvenčními chovy. Dalším důvodem může být zkrmování jodovaných krmných směsí, kdy ekologické chovy musí vyjít z nechemizované vlastní produkce jaderného krmení [47].

Jiné vysvětlení by mohlo být takové, že v obsahu jódu v mléce jsou značné regionální rozdíly, v podmínkách ČR je však méně pravděpodobné. Je známo, že v přímořských oblastech je v mléce mnoho jódu, ve vzdálenějších oblastech, zvláště horských, málo [7]. Ekologická stáda jsou chována ve vyšších nadmořských výškách, tzv. méně využitelných oblastech, kde je obsah jódu v půdě, tedy i v rostlinách nižší.



Obrázek č. 14. Graf závislosti obsahu jódu v $\mu\text{g.l}^{-1}$ na způsobu chovu

Doporučená denní dávka jódu ve výši 150 μg na osobu a den je stanovena vyhláškou MZ č. 293/1997 Sb. Horní hranice příjmu se stanovuje obtížně, obvykle se za známku nadměrného přívodu jódu považuje hodnota 300-600 μg , která může mít nepříznivé důsledky v podobě změn funkce štítné žlázy a výskytem autoimunitních tyreopatií [48]. Následující tabulka poukazuje na množství mléka (průměrná, ale také maximální a minimální hodnota obsahu jódu v chovech) z obou chovů, které přispívá k pokrytí DDD jódu pro dospělého člověka. Tabulka poukazuje na překročení této dávky již s jednou sklenicí mléka pocházející z chovu konvenčního, u kterého byla zjištěna maximální hodnota obsahu jódu.

Tabulka č. 7. Srovnání různých aspektů obsahu jódu v mléce z rozdílných způsobů chovu

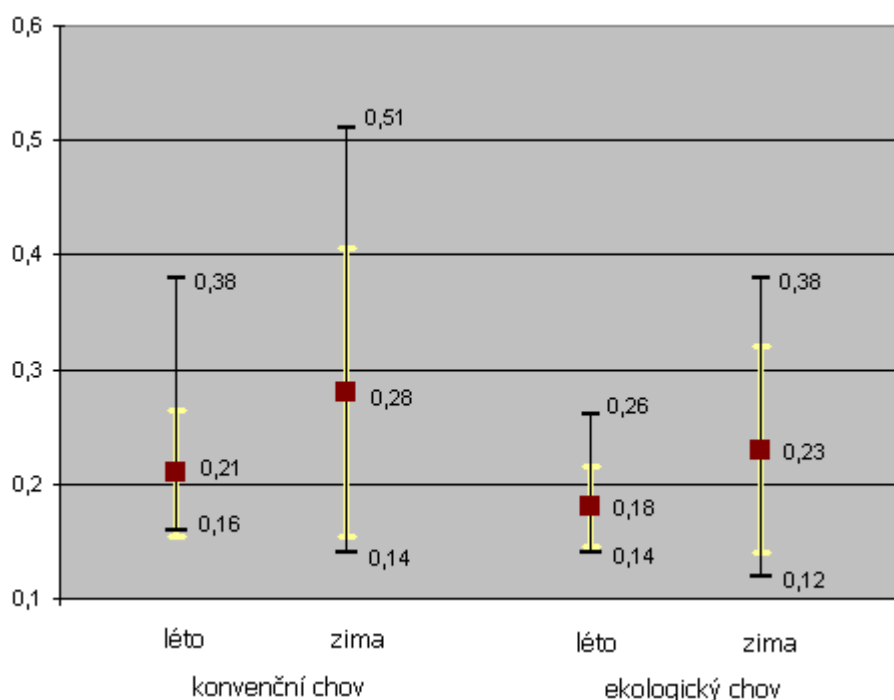
	konvenční	ekologický
průměrná hodnota ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	297,9	171,4
množství mléka s DDD jódu (ml)	504	875
min. hodnota ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	109	76
množství mléka s DDD jódu (ml)	1 376	1 974
max. hodnota ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	530	392
množství mléka s DDD jódu (ml)	283	383

Přítomnost jódu jako esenciálního prvku v potravě je nezbytná pro správné fungování metabolických a regulačních procesů v organismu člověka i zvířat. Česká republika se řadí mezi ty země, kde byl v minulosti zjištěn nedostatečný příjem jódu ve výživě lidí. Díky dlouhodobému provádění monitoringu „spotřebního koše“ potravin byl zjištěn trend k překročení optimálního množství jódu v kravském mléce a vejcích. Na základě požadavku

Ministerstva zemědělství přistoupil Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský k cíleným kontrolám na sledování obsahu jódu v kompletní krmné dávce pro dojnice [26].

Evropský úřad pro bezpečnost potravin ve svém stanovisku navrhl snížit maximální povolené množství jódu v krmivech pro dojnice s cílem omezit riziko nežádoucích účinků jódu na lidské zdraví. Z tohoto důvodu se vydalo nařízení Komise (ES) č. 1459/2005, které snížilo maximální povolený obsah jódu v kompletní krmné dávce pro dojnice z 10 mg I.kg^{-1} na 5 mg I.kg^{-1} (sušina 88 %). Potom by neměla hodnota obsahu jódu v mléce přesáhnout $200 \mu\text{g I.kg}^{-1}$ [26].

Obsah železa v mléce je nízký a statisticky se neliší v závislosti na způsobu chovu ani v závislosti na ročním období jak je patrné následujícího grafu.



Obrázek č. 15. Graf závislosti obsahu železa v mg.kg^{-1} v mléce na způsobu chovu a sezóně

Rozdíl v obsah zinku byl statisticky významný ($P \leq 0,001$) a průměrný obsah pro mléko z chovů konvenčního byl $4,23 \pm 0,47 \text{ mg.kg}^{-1}$ a pro mléko z chovu ekologického byl $3,80 \pm 0,47 \text{ mg.kg}^{-1}$. Uvedené by mohlo být důsledkem vyššího příjmu zinku ze směsných krmných směsí u konvenčně chovaných dojnic.

Na obsah minerálních látek a stopových prvků v mléce a srovnání jejich množství nutričnímu přínosu z hlediska správné výživy obyvatel lze usuzovat tabulky č. 8. Z tabulky je patrné, že je mléko významným zdrojem vápníku, fosforu a draslíku pro lidskou výživu. Naopak krytí doporučených denních dávek prvků manganu, železa, mědi a hořčíku mlékem je i při spotřebě jednoho litru denně nedostatečné.

Mléko, ať je jakéhokoliv živočišného původu, se nehodí jako výhradní potravina pro starší mláďata a dospělé, protože má nevyhovující obsah železa a mědi. Ale také vitamínu D a vitamínu C [27].

Tabulka č. 8. Obsah minerálních látek a stopových prvků v mléce a jejich příspěvek ke krytí DDD

	DDD pro dospělého člověka v mg ⁷	průměrný obsah v mg.kg ⁻¹ v mléce z chovu		příspěvek 1 kg mléka ke krytí DDD v % z chovu	
		konvenčního	ekologického	konvenčního	ekologického
Ca	800	1 213,25	1 249,84	151,7	156,2
P	1 000	1 003,22	999,09	100,3	99,9
Na	1 150	393	445	34,2	38,7
Mg	300	109,94	110,31	36,6	36,8
K	1 500	1 649,06	1 659,81	109,9	110,7
Mn	3	0,03	0,02	1,0	0,7
Fe	12	0,24	0,2	2,0	1,7
Cu	2	0,05	0,06	2,5	3,0
Zn	7	4,23	3,8	60,4	54,3

4.1.7 Profil aminokyselin (AK)

Vzorky mléka na stanovení aminokyselinového složení mléčných bílkovin byly analyzovány na pracovišti Výzkumného ústavu výživy zvířat v Pohořelicích pomocí automatického aminoanalyzátoru AAA 400. O tom, jak se obsahy aminokyselin v absolutních a relativních číslech lišily, vypovídá následující tabulka.

Tabulka č. 9. Aminokyselinový profil mléčných bílkovin

AK	ABSOLUTNÍ HODNOTY v g.kg ⁻¹				RELATIVNÍ HODNOTY v %			
	konvenční	ekologický	t-test	SV	konvenční	ekologický	t-test	SV
k. asparagová	2,26 ± 0,22	2,07 ± 0,14	4,14	***	7,51 ± 0,22	7,78 ± 0,21	4,83	***
threonin	1,24 ± 0,11	1,13 ± 0,08	4,28	***	4,12 ± 0,14	4,25 ± 0,13	3,73	***
serin	1,57 ± 0,15	1,38 ± 0,10	5,98	***	5,22 ± 0,14	5,18 ± 0,16	1,03	ns
k. glutamová	5,83 ± 0,30	4,96 ± 0,37	9,99	***	19,45 ± 0,90	18,66 ± 0,62	3,98	***
prolin	3,11 ± 0,46	2,81 ± 0,36	2,85	**	10,32 ± 1,11	10,54 ± 0,89	0,85	ns
glycin	0,55 ± 0,05	0,50 ± 0,03	5,14	***	1,85 ± 0,06	1,87 ± 0,09	0,98	ns
alanin	0,85 ± 0,06	0,76 ± 0,07	5,76	***	2,84 ± 0,24	2,84 ± 0,14	0,00	ns
valin	1,83 ± 0,15	1,65 ± 0,11	5,40	***	6,09 ± 0,14	6,21 ± 0,19	2,80	**
methionin	0,94 ± 0,22	0,76 ± 0,09	4,14	***	3,11 ± 0,56	2,87 ± 0,29	2,09	*
cystein	0,18 ± 0,04	0,09 ± 0,02	9,83	***	0,59 ± 0,12	0,34 ± 0,08	9,41	***
isoleucin	1,48 ± 0,15	1,39 ± 0,08	2,60	*	4,90 ± 0,20	5,24 ± 0,15	7,51	***
leucin	2,86 ± 0,22	2,57 ± 0,15	6,09	***	9,50 ± 0,18	9,66 ± 0,26	2,74	**
tyrosin	1,42 ± 0,14	1,13 ± 0,08	9,62	***	4,71 ± 0,17	4,27 ± 0,26	7,74	***
fenylalanin	1,42 ± 0,11	1,30 ± 0,07	4,96	***	4,74 ± 0,14	4,91 ± 0,13	4,90	***
histidin	0,86 ± 0,05	0,72 ± 0,04	10,84	***	2,86 ± 0,13	2,73 ± 0,07	4,80	***

⁷ Hodnoty DDD pro dospělého člověka dle publikace Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků [7].

AK	ABSOLUTNÍ HODNOTY v g.kg ⁻¹				RELATIVNÍ HODNOTY v %			
	konvenční	ekologický	t-test	SV	konvenční	ekologický	t-test	SV
lysin	2,44 ± 0,20	2,26 ± 0,14	4,18	***	8,12 ± 0,11	8,51 ± 0,22	8,75	***
arginin	1,23 ± 0,09	1,11 ± 0,08	5,46	***	4,08 ± 0,13	4,16 ± 0,21	1,82	ns
součet	30,07 ± 2,33	26,59 ± 1,69	6,62	***	-	-	-	-
esenciální	13,07 ± 1,11	11,79 ± 0,69	5,39	***	43,43 ± 0,62	44,36 ± 0,85	4,86	***
semiesenc.	1,60 ± 0,17	1,22 ± 0,08	11,03	***	5,30 ± 0,21	4,61 ± 0,24	11,70	***
neesenciální	15,41 ± 1,10	13,58 ± 1,00	6,73	***	51,28 ± 0,77	51,03 ± 0,94	1,13	ns

SV = statistická významnost rozdílu: *** = $P \leq 0,001$; ** = $P \leq 0,01$; * = $P \leq 0,05$; ns = $P > 0,05$

Dle zjištěných hodnot obsahů jednotlivých aminokyselin je patrné, že v mléce z obou způsobů chovu je nejvíce zastoupena neesenciální aminokyselina kyselina glutamová a neesenciální aminokyselina prolin. Z esenciálních aminokyselin je nejvíce zastoupen leucin naopak nejmenší zastoupení má semiesenciální aminokyselina cystein.

Dle provedeného t-testu bylo zjištěno, že rozdíl v obsahu téměř všech analyzovaných aminokyselin v mléce je statisticky významný ($P < 0,001$) - obsah všech aminokyselin byl nižší u mléka z ekologických hospodářských podmínek. Tato skutečnost souvisí s nižším obsahem čistých bílkovin v mléce z tohoto systému hospodářství a znamená, že je mléko z tohoto hlediska nutričně méně výhodné, jak také ukazuje Tab. č. 10. Tabulka také potvrzuje, že limitující aminokyselinou mléčných bílkovin je neesenciální methionin.

Tabulka č. 10. Srovnání mléka z rozdílných hospodářských podmínek jako důležitého zdroje esenciálních aminokyselin a jejich příspěvku v pokrytí DDD

AK	DDD ⁸ v g	obsah AK v g.kg ⁻¹ mléka z chovu		potřeba mléka v kg pro krytí DDD z chovu	
		konvenčního	ekologického	konvenčního	ekologického
valin	1,6	1,83	1,65	0,87	0,97
leucin	2,2	2,86	2,57	0,77	0,86
isoleucin	1,4	1,48	1,39	0,95	1,01
threonin	1,0	1,24	1,13	0,81	0,88
metionin	2,2	0,94	0,76	2,34	2,89
lysin	1,6	2,44	2,26	0,66	0,71
fenylalanin	2,2	1,42	1,30	1,55	1,69

Bílkoviny mléka a mléčných výrobků jsou jako vaječné bílkoviny plnohodnotné, protože obsahují všechny důležité esenciální aminokyseliny, které jsou důležité pro proteosyntézu tělních bílkovin. Pro lepší konkurenceschopnost mléka z ekologických hospodářských podmínek by měl být proto tento významný rozdíl v obsahu jednotlivých aminokyselin vyrovnán, neboť i suma esenciálních aminokyselin $11,79 \pm 0,69 \text{ g.kg}^{-1}$ a semiesenciálních $1,22 \pm 0,08 \text{ g.kg}^{-1}$ obsažených v mléce z ekologických hospodářských je významně nižší ($P < 0,001$) než z mléka konvenčního. Uvedené patrně souvisí se zmíněnou energeticky mírně deficitní výživou krav v ekologických chovech za uvedených podmínek sledování.

⁸ Hodnoty DDD pro dospělého člověka dle publikace Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků [7]

4.2 Rozdíl v technologických vlastnostech

U vzorků mléka z ekologických hospodářských podmínek byla zjištěna vyšší ($P < 0,001$) alkoholová stabilita a také vyšší ($P < 0,05$) titrační kyselost a naopak nižší ($P < 0,001$) elektrická vodivost. Hodnota pH, specifická hmotnost mléka ani hodnota bodu mrznutí vzorků mléka se v závislosti na způsobu chovu statisticky významně nelišila.

Tabulka č. 11. Srovnání technologických ukazatelů mezi dvěma chovy

ukazatel	jednotka	konvenční ($d \pm sx$)	ekologický ($d \pm sx$)	t-test	SV
alkoholová stabilita	ml	$0,44 \pm 0,16$	$0,60 \pm 0,11$	4,47	***
titrační kyselost	ml	$7,82 \pm 0,66$	$8,34 \pm 0,90$	2,55	*
elektrická vodivost	$mS \cdot cm^{-1}$	$4,08 \pm 0,24$	$3,66 \pm 0,29$	6,2	***
pH	-	$6,66 \pm 0,10$	$6,68 \pm 0,03$	1,0	ns
bod mrznutí mléka	°C	$-0,526 \pm 0,004$	$-0,525 \pm 0,009$	0,55	ns
specifická hm. mléka	-	$1,031 \pm 0,001$	$1,031 \pm 0,001$	1,18	ns

SV = statistická významnost rozdílu: *** = $P \leq 0,001$; ** = $P \leq 0,01$; * = $P \leq 0,05$; ns = $P > 0,05$

Mléko získané z ekologických hospodářských podmínek má vyšší alkoholovou stabilitu a proto je vhodnější např. pro výrobu mléčných alkoholických nápojů. Vyšší elektrická vodivost vzorků mléka z konvenčních hospodářských podmínek by mohla poukazovat na vyšší výskyt mastitidních onemocnění u konvenčních dojnic.

Čas koagulace mléka po přidání syřidla byl pro vzorky mléka z ekologického chovu $150,75 \pm 35,74$ sekund a pro vzorky mléka z konvenčního chovu byl $115,03 \pm 20,08$ sekund. To poukazuje na vyšší tepelnou stabilitu bílkovin v ekologických podmínkách ($P < 0,001$). Pro technologické ukazatele kvalita syřeniny a pevnost koláče syřeniny nebyly zjištěny významné rozdíly, pro objem syrovátky vypuzené byl však statistický rozdíl statisticky významný ($P \leq 0,01$).

Objem syrovátky pro mléko z konvenčního chovu byl $34,53 \pm 1,12$ ml a pro mléko z ekologického chovu $32,03 \pm 4,16$ ml. Z hlediska vhodnosti mléka jako suroviny pro syrařství se zdá být vhodnější mléko z ekologického chovu pro nižší objem vypuzené syrovátky a tedy nižší ztráty při výrobě sýra. To je však ve zdánlivém rozporu s výše zmiňovanými horšími vlastnostmi mléka z ekologických hospodářských podmínek dané statisticky nižším obsahem kaseinu.

Kysací schopnost mléka byla určena po klasické kultivační metodě při 30 °C po dobu 72 hodin po přidání termofilní jogurtové kultury YC-180-40-FLEX, obsahující kmeny *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Statisticky významné byly rozdíly pouze v hodnotách titrační a aktivní kyselosti jogurtu, jak ukazuje tabulka č. 12.

Statisticky vyšší hodnoty titrační kyselosti jogurtu získaného z mléka z ekologického chovu nasvědčuje, že je tato surovina výhodnější z hlediska dalšího využití pro fermentační technologie. Toto by mohlo být způsobené absencí reziduí inhibičních látek v mléce pocházející od ekologicky chovaných dojnic, dané legislativou omezenému využívání chemických přípravků a antibiotických léčiv u tohoto způsobu chovu.

Tabulka č. 12. Srovnání kysací schopnosti mléka

parametr	konvenční (d ± sx)	ekologický (d ± sx)	t-test	SV
JSH	22,18 ± 6,75	31,45 ± 4,60	6,22	***
JpH	4,80 ± 0,15	4,71 ± 0,18	2,08	*
Lacto	29 718 750 ± 14 818 135	28 375 000 ± 14 258 221	0,36	ns
logLacto	7,417 ± 0,225	7,405 ± 0,198	0,22	ns
Strepto	776 562 500 ± 354 899 716	727 500 000 ± 243 631 381	0,62	ns
logStrepto	8,861 ± 0,148	8,819 ± 0,235	0,83	ns
CPMUK	806 281 250 ± 357 087 457	755 875 000 ± 248 845 176	0,63	ns
logCPMUK	8,879 ± 0,144	8,839 ± 0,222	0,83	ns
Strepto/Lacto	33,01 ± 20,93	29,90 ± 14,49	0,67	ns

JSH – kysací schopnosti mléka, JpH – aktivní kyselost jogurtu, Lacto – počet *Lactobacillus delbrueckii*, Strepto – počet *Streptococcus thermophilus*, CPMUK – součet Strepto a Lacto, Strepto/Lacto – podíl Strepto a Lacto, SV = statistická významnost rozdílů: *** = $P \leq 0,001$; ** = $P \leq 0,01$; * = $P \leq 0,05$; ns = $P > 0,05$

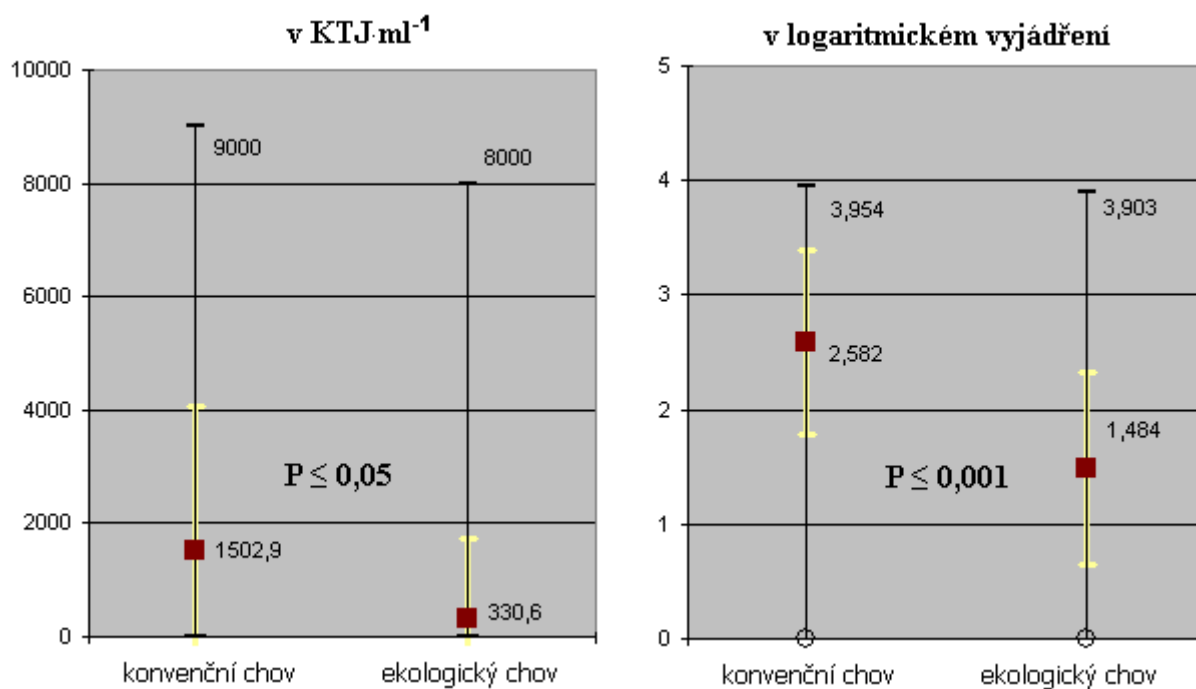
4.3 Rozdíl v hygienických vlastnostech

Počet somatických buněk v bazénových vzorcích mléka je významným jakostním znakem syrového mléka a stanovuje se pomocí přístroje Fossomatic 90, jak je uvedeno v kapitole 3.2.9.

Průměrné hodnoty pro ekologická stáda jsou $260\,880 \pm 108\,896$ a pro konvenční stáda $282\,560 \pm 95\,128$ somatických buněk v jednom ml mléka. Tyto hodnoty odrážejí značnou variační šíři v PSB v bazénových vzorcích mléka. Průměrné hodnoty PSB i jejich logaritmická hodnota však nepředstavují statisticky významný rozdíl dle chovů a dané výsledky naznačují, že ve stádech aktuálně nehrozilo riziko mastitidních onemocnění dojníc. Průměrné hodnoty pro ekologická i konvenčně chovaná stáda nepřevyšují závaznou limitní hodnotu max. 400 000 somatických buněk v jednom ml mléka danou ČSN 57 0529. Oba systémy chovu prokazují schopnost produkovat kvalitní mléko.

Celkový počet mikroorganismů mléka se pohyboval u vzorků z ekologických chovů v rozmezí $106\,678,13 \pm 319\,659,77$ KTJ.ml⁻¹ a v rozmezí $90\,833,33 \pm 95\,818,69$ KTJ.ml⁻¹ u vzorků z konvenčních chovu. Rozdíl nebyl statisticky významný v hodnotách absolutních ani v hodnotách logaritmických. Hodnoty směrodatných odchylek poukazují na značnou variační šíři hodnot získaných z obou typů chovů a také poukazují na to, že u několika vzorků z ekologického chovu došlo k překročení limitní hodnoty CMP 100 000 KTJ.ml⁻¹, která je dána ČSN 57 0529.

Z hygienických ukazatelů byly sledovány rozdíly v počtech koliformních bakterií. ČSN 57 0529 stanovuje limit obsahu koliformních bakterií do hodnoty 1 000 KTJ.ml⁻¹ a jak je patrné z následujícího grafu, k překročení tohoto limitu došlo u několika vzorků z obou chovů. V některých lokalitách, kde byly odhaleny nedostatky v hygienických ukazatelích, bude především nutné zaměřit se na zlepšení hygieny při procesu dojení.



Obrázek č. 16. Graf závislosti obsahu koliformních bakterií v KTJ.ml⁻¹ a v logaritmickém vyjádření na způsobu chovu

Pomocí dalších mikrobiologických stanovování byly zjišťovány obsahy mastitidních kmenů *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*. Nebyl zjištěn výskyt *Streptococcus agalactiae* v žádném ze souboru 64 bazénových vzorků, výskyt *Staphylococcus aureus* byl potvrzen ve vzorcích z obou chovů s průměry pro konvenční chov $60,6 \pm 207,5$ KTJ.ml⁻¹ a ekologický chov $87,8 \pm 98,3$ KTJ.ml⁻¹, rozdíl není statisticky významný. Oba systémy chovu se neprojevily zvýšeným rizikem výskytu mastitidních patogenů pro některý z nich.

5 ZÁVĚR

Na základě analýzy bazénových vzorků mléka získaných od čtyř konvenčně a čtyř ekologicky hospodařících farem v České republice můžeme potvrdit, že jimi produkované mléko je vhodné pro lidskou výživu i jako surovina pro další potravinářské zpracování, protože obsahuje všechny důležité složky v adekvátním množství a protože je vhodné z hlediska hygienických a technologických ukazatelů. Dále byla zjištěna srovnatelná průměrná mléčná užitkovost, vyvážený stav v počtu somatických buněk a v celkovém počtu mikroorganismů a u všech analyzovaných vzorků mléka byl potvrzen nulový výskyt mastitidního patogenu *Streptococcus agalactiae*.

Při porovnání složení a vlastností kravského mléka nebyly odhaleny žádné významné rozdíly v obsahu mléčného tuku, laktosy, celkové sušiny, hodnoty pH, bodu mrznutí mléka ani počtu mastitidního kmenu *Staphylococcus aureus*, při subjektivním porovnání kvality koláče syřeniny nebo při porovnání její pevnosti, významně se nelišila ani hustota mléka.

Tato práce prokázala, že na českých ekologických farmách je produkováno mléko s vyšším obsahem acetonu a nižším obsahem močoviny, kaseinu, hrubé a čisté bílkoviny. Mléko z ekologického chovu vykazuje lepší výsledky, pokud jde o technologickou vhodnost mléka k výrobě fermentovaných mléčných výrobků. Tato významná technologická vlastnost souvisí s nulovým obsahem reziduí inhibičních látek, které mohou zastavit proces fermentace, a je dána zákazem používání antibiotik při léčbě dojnic z ekologického chovu. Podle několika mléčných ukazatelů lze však odhadovat na energickou a bílkovinou podvýživu ekologicky chovaných dojnic a proto bude důležité zaměřit se u ekologického chovu na zajištění dostatečné výživy dojnic.

Jako vhodnější z hlediska výživy člověka se jeví mléko z ekologického chovu pro svůj nižší obsah jódu v období vyřešeného jódového deficitu a naopak hrozby jeho nadbytku, v době zvýšené konzumace mléčných výrobků, používání o jód obohacené kuchyňské soli a zvýšeného příjmu rybích produktů podpořené osvětou. Taktéž by mohlo být ekologické mléko lepším zdrojem vápníku a hořčíku pro lidskou výživu, vzhledem k nízkému NPK hnojení pěstnin v ekologickém hospodářství.

Jako méně vhodné se jeví mléko získané ekologickým chovem pro signifikantně nižší obsah bílkovin a proto i nižší obsahy jednotlivých aminokyselin, a to je z nutričního hlediska méně vhodné. Nižší obsah bílkovin taktéž zhoršuje sýrařskou výtěžnost z mléka. Po vyřešení energetické a bílkovinné podvýživy ekologických dojnic by mělo dojít k zvýšení obsahu bílkovin mléka a tedy vyrovnání obsahu aminokyselin a vhodnosti suroviny pro výrobu sýrů. Poté by měly proběhnout další studie na zjištění rozdílů mezi těmito způsoby chovu, aby jasně prokázaly výhody ekologického chovu mléčného skotu.

Pro porovnání ekologického a konvenčního hospodářství by měly proběhnout další studie také v jiných oblastech zemědělské sféry, aby byly odhaleny výhody ekologického zemědělství a jeho produktů. Významná fakta by měla být předložena široké veřejnosti, aby se podpořilo pozitivní vnímání kvality biopotravin u více spotřebitelů. Zvýšená poptávka po ekologických produktech podpoří rozvoj ekologického zemědělství,lepší životní podmínky zvířat a podpoří globální strategii směrem k udržitelnému rozvoji a ochraně životního prostředí na Zemi.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. HANUŠ, O., et al.: Možné role, pozice, faktory a složky mlékařství v ekologickém zemědělství – rešerše, mapování, přehled a srovnání v České republice. *Výzkum v chovu skotu*. 2008, č. 1, s. 13-37. ISSN 0139-7265.
2. TOLEDO, P., ANDRÉN, A., BJÖRCK, L.: Composition of raw milk from sustainable production systems. *International Dairy Journal*. 2002, 12, s. 75-80.
3. HAJŠLOVÁ, J.: *Porovnání produktů ekologického a konvenčního zemědělství* [online]. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2006. 23 s. Odborná studie. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Dostupné z WWW: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Publikace/Hajslova_Studie%20VSCHT.pdf>. ISBN 80-7271-181-4.
4. ROSATI, A., AUMAITRE, A.: Organic dairy farming in Europe. *Livestock Production Science*. 2004, 90, s. 41-51.
5. *Spotřeba potravin v roce 2009* [databáze online]. Praha: Český statistický úřad, 2010. Dostupné z WWW: <<http://www.czso.cz/csu/2010edicniplan.nsf/p/3004-10>>.
6. BLATTNÁ, J. et al.: *Výživa na začátku 21. století : aneb o výživě aktuálně a se zárukou*. Praha : Společnost pro výživu a Nadace NutriVIT, 2005. 79 s. ISBN: 80-239-6202.
7. ČERNÁ, M.: *Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků*. 1. vyd. Praha : Středisko technických informací potravinářského průmyslu VÚPP, 1979. 141 s.
8. ČERVENÝ, Č.: Vemeno krávy ve světle funkční morfologie. In HOFÍREK, B. *Sborník referátů odborného semináře Diagnostika a terapie poranění mléčné žlázy* [online]. Hradec Králové : Česká buiatrická společnost Klinika chorob přežvýkavců VFU Brno, 2007 [cit. 2011-03-02]. Dostupné z WWW: <http://www.buiatrie.cz/attachments/039_Diagnostika%20a%20terapie%20poran%C4%9Bn%C3%AD%20ml%C3%A9%C4%8Dn%C3%A9%20%C5%BEI%C3%A1zy_1404-2007.pdf>.
9. PETR, J.: *Produkce potravinářských surovin*. 1. vyd. Praha : Vydavatelství VŠCHT, 1998. Chov skotu, s. 225-300. ISBN 80-7080-332-0.
10. ČSN 57 0529. *Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování*. Praha: Český normalizační institut, listopad 1993. 8 s.
11. HANUŠ, O., et al.: Effect of milk yield and cattle breed on amino acid profile of raw milk. Vliv dojivosti a plemene skotu na aminokyselinový profil syrového mléka. *Conference proceedings, Proteiny 2008*, květen, UTB Zlín, ISBN: 978-80-7318-706-4, 40-44.
12. KADLEC, P.: *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha : Vydavatelství VŠCHT, 2008. Technologie mléka a mlékárenských výrobků, s. 9-84. ISBN 978-80-7080-510-7.

13. DOLEŽAL, O., BÍLEK, M., DOLEJŠ, J., MS KIS: Projekt Krajského informačního střediska pro rozvoj zemědělství a venkova Moravskoslezského kraje [online]. Praha : Výzkumný ústav živočišné výroby, 2004 [cit. 2010-10-01]. Zásady welfare a nové standardy EU v chovu skotu. Dostupné z WWW: <http://www.mskis.cz/documents_art/307.pdf>.
14. HANUŠ, O., et al.: Effect of conversion from conventional to organic dairy farm on milk quality and health of dairy cows. In *Folia Veterinaria*. Košice : Univerzita veterinárskeho lekarstva a farmacie, 2008. s. 140-146. ISSN 0015-5748.
15. HILLERTON, J.E., BERRY, E.A.: Treating mastitis in the cow - a tradition or an archaism. *Journal of Applied Microbiology*. 2005, 98, s. 1250-1255.
16. HANUŠ, O., et al.: Vybrané aspekty zdraví dojníc, kvality vody a mléka ekologicky mlékařicích farem v České republice. *Výzkum v chovu skotu*. 2007, č. 3, s. 1-13.
17. DeLaval [online]. Kansas City : 2009, 26.4.2010 [cit. 2011-05-10]. Dostupné z WWW: <http://www.delaval-us.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm>.
18. RAJČEVIČ, M., POTOČNIK, K., LEVSTEK, J.: Correlations between Somatic Cells Count and Milk Composition with Regard to the Season. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2003, 68, 3, s. 221-226. Dostupný také z WWW: <http://www.agr.hr/smotra/pdf_68/acs68_38.pdf>.
19. ČSN 57 0530: 1972. *Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků*. Praha: Český normalizační institut, 100 s.
20. ČSN EN ISO 13366-3: 1998. *Mléko - Stanovení počtu somatických buněk - Část 3: Fluoro-opto-elektronická metoda*. Praha : Český normalizační institut, 16 s.
21. SCHINGOETHE, D.J.: Dietary influence on protein level in milk and milk yield in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 1996, 60, s. 181-190.
22. ELLIS, K., et al.: Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. In *Journal of Dairy Science*. Champaign : American Dairy Science Association, 2006. s. 1938-1950.
23. HURLEY, W.: *Lactation Biology Website* [online]. Department of Animal Sciences University of Illinois, Urbana : 2010 [cit. 2011-03-02]. Dostupné z WWW: <<http://classes.ansci.illinois.edu/ansc438/index.html>>.
24. FOX, P., MCSWEENEY, P.: *Dairy chemistry and biochemistry* [online]. New York : Thomson Science, 1998 [cit. 2011-03-02].
25. KUDRNA, V. , HOMOLKA, P.: Vliv diety, zejména obsahu dusíkatých látek, na množství a kvalitu mléčné bílkoviny a zdraví dojníc. In *Vědecký výbor výživy zvířat* [online]. Praha : Výzkumný ústav živočišné výroby, 2009 [cit. 2011-03-28]. Dostupné z WWW: <<http://www.vuzv.cz/sites/Dojnice.pdf>>.

26. ŠÍMA, P.: *Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský* [online]. 10.2.2010 [cit. 2010-10-01]. Výsledky kontroly sledování obsahu jódu v kompletní krmné dávce pro dojnice. Dostupné z WWW: <www.ukzuz.cz/Uploads/72742-7-Zprava+o+obsahu+jodupdf.aspx>.
27. LEDVINA, M.; STOKLASOVÁ, A.; CERMAN, J. *Biochemie pro studující medicíny : I. díl*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2005. 274 s. ISBN 80-246-0849-9.
28. BATICZ, O., TÖMÖSKÖZI, S., VIDA, L.: Concentrations of citrate and ketone bodies in cow's raw milk. *Periodica polytechnica : Chemical engineering*. 2002, 46, s. 93-104. Dostupný také z WWW: <http://www.pp.bme.hu/ch/2002_1/pdf/ch2002_1_12.pdf>.
29. ŽDÁRSKÝ, P.: Rezidua antibiotik v mléce po léčbě antibiotiky. *Mliekarstvo*. 2005, s. 47. Dostupný také z WWW: <www.bentleyczech.cz/docs/mliekarstvo/rezidua.pdf>.
30. MCSWEENEY, P.L.H., FOW, P.F.: *Advanced Dairy Chemistry : Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*. 3rd ed. New York : Springer, 2009. 784 s. ISBN 978-0-387-84864-8.
31. ČERNÁ, E., MERGL, M.: *Laboratorní kontrolní metody v mlékařství*. Vyd. 1. Praha : Nakladatelství technické literatury, 1971. 264 s.
32. Milcom servis a.s. Praha. *Problematika prvovýroby mléka XVIII : Metody zkoušení syrového kravského mléka. Doporučené metodické postupy zkoušení jakosti nakupovaného mléka a činnosti centrálních laboratoří*. Pardubice : ÚVO PARDUBICE, 1996. 175 s.
33. WHIGHAM, L., COOK, M., ATKINSON, R.: Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacological Research*. 2000, 42, 6, s. 503-510.
34. Ministerstvo zemědělství ČR. *Ekologické zemědělství* [online]. 2004 [cit. 2010-09-28]. Akční plán ekologického zemědělství. Dostupné z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/ekozem/attachments/AP.pdf>>.
35. WINTER, C., DAVIS, S.: Organic Foods. *Journal of Food Science*. 2006, 71, 9, s. 117-124.
36. ZÁKON č. 242/2000 Sb., ze dne 29. 6. 2000, o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Sbírka zákonů ČR, 2000, částka 73, s. 3499.
37. CVAK, Z., PETERKOVÁ, L., ČERNÁ, E.: *Chemické a fyzikálněchemické metody v kontrole jakosti mléka a mlékařských výrobků*. Vyd. 1. Praha : [s.n.], 1992. 221 s. ISBN 8085120364.
38. NORBERG, E., et al.: Electrical Conductivity of Milk for Detection of Mastitis. *Journal of Dairy Science*. 2004, 87, s. 1099-1107.

39. PISULEWSKI, P.M., et al.: Lactational and Systemic Responses of Dairy Cows to Postruminal Infusions of Increasing Amounts of Methionine. *Journal of Dairy Science*. 1996, 79, s. 1781-1791. Dostupný také z WWW:
<http://biblioteca.sp.san.gva.es/biblioteca/publicaciones/MATERIAL/METABUSQUE DAS/MUJER_INFANTIL/8923249.PDF>.
40. HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J.: *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna : Ivan Straka, 2001. 94 s. ISBN 80-86494-02-0.
41. ČSN ISO 6610. *Mléko a mléčné výrobky - Stanovení počtu jednotek mikroorganismů tvořících kolonie - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C*. Praha: Český normalizační institut, 1996. 12 s.
42. ČSN ISO 5541/1: 1996. *Mléko a mléčné výrobky - Stanovení počtu koliformních bakterií - Část 1: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C*. Praha: Český normalizační institut, 16 s.
43. ČSN ISO 9874. *Mléko - Stanovení celkového obsahu fosforu - Metoda s použitím molekulární absorpční spektrometrie*. Praha: Český normalizační institut, září 2008. 12 s.
44. VOKURKA, M., HUGO, J.: *Velký lékařský slovník*. 5. aktualizované. Praha : Maxdorf, 2005. 1001 s. ISBN 80-7345-058-5.
45. HANUŠ, O., et al.: Kvalita mléka v ekologických chovech. *Mlékařské listy – zpravodaj*. 2007, č. 101, s. 15-21. ISSN 1212-950X.
46. HANUŠ, O., et al.: A comparison of selected milk indicators in organic herds with conventional herd as reference. *Folia Veterinaria*. 2008, č. 52, s. 155-159. ISSN 0015-5748.
47. HANUŠ, O., et al.: The impact of organic farming on mineral composition of cow milk. In *Biotechnology 2008*. Jihočeská univerzita České Budějovice : Scientific Pedagogical Publishing, 2008. s. 137–140. ISBN 80-85645-58-0.
48. ZAMRAZIL, V.: Profylaxe jodového deficitu a problematika s ní spojená. *DMEV* [online]. 2007, 1, [cit. 2011-02-11]. Dostupný z WWW:
<http://195.250.138.169/dmev/documents/VYZIVA_Zamrazil.pdf>.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AES	atomová emisní spektroskopie
AFEMA	Arbeitsgruppe zur Förderung von Eutergesundheit und Milchhygiene in den Alpenländern = Pracovní skupina pro podporu zdraví vemene a hygieny mléka v alpských zemích
AK	aminokyselina
ASLAB	Středisko pro posuzování způsobilosti laboratoří
BVM	bazénový vzorek mléka
CECALAIT	Ústav pro kontrolu kvality mlékařských analýz
CLA	conjugated linoleic acid = konjugovaná kyselina linolová
ČSN	Česká státní norma
DDD	doporučená denní dávka
EU	Evropská unie
GMO	geneticky modifikovaný organismus
ICAR	Mezinárodní výbor pro kontrolu užitkovosti zvířat
ISO	International Organization for Standardization = Mezinárodní organizace pro normalizaci
KTJ	kolonie tvořící jednotka
NPK	kombinované hnojivo, které obsahuje dusík, fosfor a draslík
NRL-SM	Národní referenční laboratoř pro syrové mléko
NVS	nadmořská výška chovu
PRT	průměrná roční teplota
RIL	rezidua inhibičních látek
RÚS	roční úhrn srážek
SVÚ	Státní veterinární ústav
UHT	ultra high temperature = velmi vysoká teplota
VRBL	violet red bile lactose = agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktosou
VUCHS	Výzkumný ústav pro chov skotu
VUVZ	Výzkumný ústav výživy zvířat

8 SEZNAM PŘÍLOH

A.	Seznam sledovaných mléčných parametrů s jednotkou a použitou zkratkou	63
B.	Tabulky statistických charakteristik jednotlivých mléčných ukazatelů	65
C.	Mezinárodní mezilaboratorní kruhový test AFEMA červen 2009.....	70

9 PŘÍLOHY

A. Seznam sledovaných mléčných parametrů s jednotkou a použitou zkratkou

- | | |
|--|--|
| 1. T = obsah tuku ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 25. MNN = podíl N močoviny v nebílkovinném N |
| 2. L = obsah laktosy ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 26. THB = poměr tuku a hrubých bílkovin |
| 3. TPS = tuku prostá sušina ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 27. KACCB = kaseinové číslo na bázi CB |
| 4. SUS = sušina ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 28. KACHB = kaseinové číslo na HB |
| 5. PSB = počet somatických buněk ($\text{tisíc} \cdot \text{ml}^{-1}$) | 29. CPM = celkový počet MO ($\text{tis KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 6. log PSH | 30. log CPM |
| 7. Mo = koncentrace močoviny ($\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) | 31. KOLI = počet koliformních bakterií |
| 8. Ac = koncentrace acetonu ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) | 32. log KOLI |
| 9. log Ac | 33. S. aureus = <i>Staphylococcus aureus</i> ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 10. AL = alkoholová stabilita (ml) | 34. Str. agal. = <i>Streptococcus agalactiae</i> ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 11. SH = titrační kyselost ($\text{ml } 0,25 \text{ M} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) | 35. JSH = kysací schopnost mléka ($0,25 \text{ M} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) |
| 12. Vod = elektrická vodivost ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$) | 36. JpH = aktivní kyselost pH jogurtu |
| 13. pH = aktivní kyselost | 37. Lacto = <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 14. BMM = bod mrznutí mléka ($^{\circ}\text{C}$) | 38. logLacto |
| 15. Cas = čas koagulace syřidlem (s) | 39. Strepto = <i>Streptococcus thermophilus</i> ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 16. KV = subjektivní odhad kvality koláče sýřeniny | 40. logStrepto |
| 17. PEV = pevnost sýřeniny (cm) | 41. CPMUK = součet Strepto + Lacto ($\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) |
| 18. SYR = objem syrovátky vypuzené (ml) | 42. logCPMUK |
| 19. SPM = specifická hmotnost mléka | 43. StreptoLacto = podíl Strepto a Lacto |
| 20. HB = hrubé bílkoviny ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 44. KC = konc. kyseliny citrónové ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) |
| 21. KAS = kasein ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 45. KCw = konc. kyseliny citrónové (%) |
| 22. CB = čisté bílkoviny ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 46. Ca ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) |
| 23. SB = syrovátkové bílkoviny ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 47. P ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) |
| 24. NNL = nebílkovinné dusíkaté látky ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; %) | 48. Na ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) |

49. Mg (mg.kg ⁻¹)	73. AMKC (g.kg ⁻¹)
50. K (mg.kg ⁻¹)	74. RelAsp (%)
51. I (μg.l ⁻¹)	75. RelThr (%)
52. Mn (mg.kg ⁻¹)	76. RelSer (%)
53. Fe (mg.kg ⁻¹)	77. RelGlu (%)
54. Cu (mg.kg ⁻¹)	78. RelPro (%)
55. Zn (mg.kg ⁻¹)	79. RelGly (%)
56. Asp = kys. asparagová (g.kg ⁻¹)	80. RelAla (%)
57. Thr = threonin (g.kg ⁻¹)	81. RelVal (%)
58. Ser = serin (g.kg ⁻¹)	82. RelMetS (%)
59. Glu = kys. glutamová (g.kg ⁻¹)	83. RelCysH (%)
60. Pro = prolin (g.kg ⁻¹)	84. RelIle (%)
61. Gly = glycin (g.kg ⁻¹)	85. RelLeu (%)
62. Ala = alanin (g.kg ⁻¹)	86. RelTyr (%)
63. Val = valin (g.kg ⁻¹)	87. RelPhe (%)
64. MetS = methionin (g.kg ⁻¹)	88. RelHis (%)
65. CysH cystein (g.kg ⁻¹)	89. RelLys (%)
66. Ile = izoleucin (g.kg ⁻¹)	90. RelArg (%)
67. Leu = leucin (g.kg ⁻¹)	91. esenciální (g.kg ⁻¹)
68. Tyr = tyrosin (g.kg ⁻¹)	92. semi-esenciální (g.kg ⁻¹)
69. Phe = fenylalanin (g.kg ⁻¹)	93. neesenciální (g.kg ⁻¹)
70. His = histidin (g.kg ⁻¹)	94. Rel-esenciální (%)
71. Lys = lysin (g.kg ⁻¹)	95. Rel-semiesenc. (%)
72. Arg = arginin (g.kg ⁻¹)	96. Rel-neesenciální (%)

Pozn.: za semiesenciální AK jsou v diplomové práci považovány cystein a tyrosin [7]

B. Tabulky statistických charakteristik jednotlivých mléčných ukazatelů

E		T	L	TPS	SUS	PSB	logPSB	Mo	Ac	logAc	AL	SH	Vod
	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	x	3,80	4,90	8,64	12,44	260,88	2,3727	19,91	6,31	0,7321	0,60	8,34	3,66
	xg						236			5,396			
	sx_v	0,251	0,111	0,163	0,259	110,639	0,2081	5,311	3,651	0,2502	0,115	0,911	0,292
	vx_v	6,6	2,3	1,9	2,1	42,4		26,7	57,9		19,2	10,9	8,0
	sx	0,247	0,110	0,160	0,255	108,896	0,2048	5,228	3,594	0,2463	0,113	0,896	0,287
	vx	6,5	2,2	1,9	2,0	41,7		26,3	57,0		18,8	10,7	7,8
	min	3,29	4,70	8,41	12,00	71,00	1,8513	10,19	1,61	0,2068	0,36	6,51	3,05
	max	4,50	5,11	9,01	13,08	454,00	2,6571	31,19	15,08	1,1784	0,85	9,91	4,36
	Rmax.-min.	1,21	0,41	0,60	1,08	383,00	0,8058	21,00	13,47	0,9716	0,49	3,40	1,31
	medián	3,76	4,89	8,63	12,44	231,00	2,3636	19,78	5,50	0,7404	0,61	8,43	3,65
	horní q	3,69	4,83	8,53	12,27	182,50	2,2597	16,33	4,17	0,6197	0,52	7,73	3,48
	dolní q	3,89	4,98	8,72	12,57	333,00	2,5224	23,46	7,28	0,8617	0,69	8,97	3,88
K	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	x	3,72	4,90	8,73	12,45	282,56	2,4260	29,03	4,66	0,6048	0,44	7,82	4,08
	xg						267			4,025			
	sx_v	0,293	0,082	0,130	0,343	96,650	0,1529	10,182	3,178	0,2269	0,163	0,675	0,239
	vx_v	7,9	1,7	1,5	2,8	34,2		35,1	68,2		37,0	8,6	5,9
	sx	0,289	0,080	0,128	0,338	95,128	0,1505	10,021	3,128	0,2233	0,160	0,664	0,236
	vx	7,8	1,6	1,5	2,7	33,7		34,5	67,1		36,4	8,5	5,8
	min	3,21	4,68	8,49	11,78	122,00	2,0864	10,68	1,35	0,1303	0,17	6,71	3,59
	max	4,25	5,02	9,01	12,99	559,00	2,7474	51,67	19,60	1,2923	0,90	9,85	4,57
	Rmax.-min.	1,04	0,34	0,52	1,21	437,00	0,6610	40,99	18,25	1,1620	0,73	3,14	0,98
	medián	3,68	4,92	8,72	12,43	284,50	2,4541	30,07	3,89	0,5894	0,40	7,80	4,11
	horní q	3,54	4,85	8,66	12,23	213,00	2,3284	19,56	2,96	0,4710	0,33	7,39	3,93
	dolní q	3,95	4,96	8,80	12,80	343,50	2,5359	36,45	5,43	0,7342	0,52	8,30	4,19
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
t	1,15	0,00	2,40	0,13	0,82	1,15	4,42	1,90	2,10	4,47	2,55	6,20	
	ns	ns	*	ns	ns	ns	***	ns	*	***	*	***	
E		pH	BMM	Cas	KV	PEV	SYR	SPM	HB	KAS	CB	SB	
	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	x	6,68	-0,5249	150,75	2,69	1,82	32,03	1,0311	3,16	2,47	3,01	0,54	
	xg												
	sx_v	0,035	0,0094	36,316	0,738	0,051	4,231	0,0010	0,133	0,130	0,133	0,069	
	vx_v	0,5	1,8	24,1	27,4	2,8	13,2	0,1	4,2	5,3	4,4	12,8	
	sx	0,034	0,0092	35,744	0,726	0,051	4,164	0,0010	0,131	0,128	0,131	0,068	
	vx	0,5	1,8	23,7	27,0	2,8	13,0	0,1	4,1	5,2	4,4	12,6	
	min	6,61	-0,5530	107,00	1,00	1,70	22,00	1,0290	2,90	2,20	2,72	0,31	
	max	6,78	-0,5167	253,00	4,00	1,90	37,00	1,0335	3,40	2,71	3,24	0,66	
	Rmax.-min.	0,17	0,0363	146,00	3,00	0,20	15,00	0,0045	0,50	0,51	0,52	0,35	
	medián	6,68	-0,5223	138,50	3,00	1,80	34,50	1,0310	3,20	2,49	3,03	0,54	
	horní q	6,67	-0,5248	127,50	2,00	1,80	28,00	1,0304	3,09	2,40	2,92	0,52	
	dolní q	6,70	-0,5194	160,50	3,00	1,80	35,00	1,0319	3,24	2,56	3,09	0,58	
K	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	x	6,66	-0,5259	115,03	2,56	1,83	34,53	1,0308	3,25	2,58	3,07	0,49	
	xg												
	sx_v	0,106	0,0038	20,400	0,669	0,059	1,135	0,0010	0,131	0,111	0,116	0,073	
	vx_v	1,6	0,7	17,7	26,1	3,2	3,3	0,1	4,0	4,3	3,8	14,9	
	sx	0,104	0,0037	20,079	0,658	0,058	1,118	0,0010	0,129	0,109	0,114	0,071	
	vx	1,6	0,7	17,5	25,7	3,2	3,2	0,1	4,0	4,2	3,7	14,5	
	min	6,46	-0,5340	70,00	2,00	1,70	32,00	1,0288	3,04	2,38	2,86	0,32	
	max	6,90	-0,5197	155,00	4,00	1,90	37,00	1,0326	3,51	2,85	3,35	0,64	
	Rmax.-min.	0,44	0,0143	85,00	2,00	0,20	5,00	0,0038	0,47	0,47	0,49	0,32	
	medián	6,64	-0,5258	120,00	2,00	1,80	34,50	1,0310	3,25	2,57	3,08	0,50	
	horní q	6,60	-0,5281	104,75	2,00	1,80	34,00	1,0301	3,13	2,51	3,00	0,45	
	dolní q	6,69	-0,5226	130,50	3,00	1,90	35,00	1,0315	3,34	2,66	3,12	0,52	
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
t	1,00	0,55	4,77	0,73	0,71	3,18	1,18	2,68	3,58	1,89	2,77		
	ns	ns	***	ns	ns	**	ns	**	***	ns	**		

E		NNL	MNN	THB	KACHB	KACCB	CPM	logCPM	KOLI	logKOLI
	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	0,15	40,81	1,20	78,12	81,99	106678,13	4,3132	330,56	1,4840
	<i>xg</i>							20568,376		30,479
	<i>sx_v</i>	0,043	12,897	0,098	2,149	2,245	324774,658	0,7260	1407,362	0,8572
	<i>vx_v</i>	28,7	31,6	8,2	2,8	2,7	304,4		425,8	
	<i>sx</i>	0,042	12,694	0,096	2,115	2,209	319659,777	0,7146	1385,197	0,8437
	<i>vx</i>	28,0	31,1	8,0	2,7	2,7	299,6		419,0	
	<i>min</i>	0,08	18,80	0,97	74,58	78,29	500,00	2,6990	0,00	0,0001
	<i>max</i>	0,23	69,81	1,47	83,71	89,24	1800000,00	6,2553	8000,00	3,9031
	<i>Rmax.-min.</i>	0,15	51,01	0,50	9,13	10,95	1799500,00	3,5563	8000,00	3,9030
	<i>medián</i>	0,15	37,42	1,19	77,81	81,97	20000,00	4,3010	21,50	1,3323
	<i>horní q</i>	0,11	31,16	1,15	76,83	80,54	9750,00	3,9886	10,00	1,0000
	<i>dolní q</i>	0,18	47,65	1,25	78,88	83,45	40000,00	4,6021	85,00	1,9273

K										
	celk n	32	32	32	32	32	24	24	24	23
	<i>x</i>	0,18	49,00	1,15	79,58	84,11	90833,33	4,6651	1502,92	2,5823
	<i>xg</i>							46248,750		382,208
	<i>sx_v</i>	0,043	16,600	0,085	2,439	2,232	97879,547	0,5495	2618,874	0,8192
	<i>vx_v</i>	23,9	33,9	7,4	3,1	2,7	107,8		174,3	
	<i>sx</i>	0,042	16,339	0,083	2,401	2,197	95818,695	0,5380	2563,733	0,8012
	<i>vx</i>	23,3	33,3	7,2	3,0	2,6	105,5		170,6	
	<i>min</i>	0,10	23,42	0,97	72,86	79,22	5000,00	3,6990	0,00	1,0000
	<i>max</i>	0,29	84,81	1,33	85,53	89,26	300000,00	5,4771	9000,00	3,9542
	<i>Rmax.-min.</i>	0,19	61,39	0,36	12,67	10,04	295000,00	1,7781	9000,00	2,9542
	<i>medián</i>	0,17	49,61	1,14	79,79	84,05	46500,00	4,6672	295,00	2,5185
	<i>horní q</i>	0,15	37,86	1,09	78,52	83,03	14750,00	4,1686	75,00	1,9031
	<i>dolní q</i>	0,21	58,79	1,21	80,93	85,52	135000,00	5,1232	1050,00	3,0396
	nt	64	64	64	64	64	56	56	56	55
	t	2,75	2,17	2,15	2,50	3,73	0,23	1,95	2,11	4,69
		**	*	*	*	***	ns	ns	*	***

E		S.aureus	Str.agal	JSH	JpH	Lacto	logLacto	Strepto	logStrep
	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	87,81	0,00	31,45	4,71	28375000	7,4054	727500000	8,8191
	<i>xg</i>						25433141		659325693
	<i>sx_v</i>	99,895	0,000	4,678	0,185	14486367,340	0,2011	247529731,026	0,2395
	<i>vx_v</i>	113,8		14,9	3,9	51,1		34,0	
	<i>sx</i>	98,321	0,000	4,604	0,182	14258221,313	0,1979	243631381,394	0,2357
	<i>vx</i>	112,0		14,6	3,9	50,2		33,5	
	<i>min</i>	0,00	0,00	22,33	4,46	13000000	7,1139	60000000	7,7782
	<i>max</i>	450,00	0,00	39,10	5,16	62000000	7,7924	1100000000	9,0414
	<i>Rmax.-min.</i>	450,00	0,00	16,77	0,70	49000000	0,6785	1040000000	1,2632
	<i>medián</i>	50,00	0,00	32,21	4,66	26000000	7,4150	760000000	8,8808
	<i>horní q</i>	17,50	0,00	28,17	4,57	17750000	7,2491	580000000	8,7634
	<i>dolní q</i>	150,00	0,00	35,05	4,84	33000000	7,5185	942500000	8,9743

K									
	celk n	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	60,63	35,00	22,18	4,80	29718750	7,4173	776562500	8,8613
	<i>xg</i>						26139664		726607707
	<i>sx_v</i>	210,819	149,429	6,859	0,155	15055241,023	0,2287	360578472,288	0,1498
	<i>vx_v</i>	347,7	426,9	30,9	3,2	50,7		46,4	
	<i>sx</i>	207,499	147,076	6,751	0,152	14818135,795	0,2251	354899716,249	0,1475
	<i>vx</i>	342,2	420,2	30,4	3,2	49,9		45,7	
	<i>min</i>	0,00	0,00	9,85	4,47	10000000	7,0000	310000000	8,4914
	<i>max</i>	1200,00	840,00	32,37	5,13	64000000	7,8062	2500000000	9,3979
	<i>Rmax.-min.</i>	1200,00	840,00	22,52	0,66	54000000	0,8062	2190000000	0,9065
	<i>medián</i>	0,00	0,00	21,22	4,80	29000000	7,4624	710000000	8,8513
	<i>horní q</i>	0,00	0,00	16,05	4,72	17750000	7,2491	620000000	8,7924
	<i>dolní q</i>	42,50	0,00	28,76	4,91	37000000	7,5682	830000000	8,9190
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64
	t	0,65	1,30	6,22	2,08	0,36	0,22	0,62	0,83
		ns	ns	***	*	ns	ns	ns	ns

E		CPMUK	logCPMUK	StreptoLacto	KC*	KCw**	Ca	P	Na	Mg
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	755875000	8,8390	29,9039	8,75	0,16	1249,84	999,09	445,00	110,31
	<i>xg</i>		690239804							
	<i>sx_v</i>	252826952,167	0,2256	14,7182	1,376	0,025	79,948	65,586	59,558	6,468
	<i>vx_v</i>	33,4		49,2	15,7	15,6	6,4	6,6	13,4	5,9
	<i>sx</i>	248845176,515	0,2221	14,4864	1,354	0,025	78,689	64,553	58,620	6,366
	<i>vx</i>	32,9		48,4	15,5	15,6	6,3	6,5	13,2	5,8
	<i>min</i>	76000000	7,8808	3,7500	5,19	0,10	1155,00	882,00	391,00	100,00
	<i>max</i>	1126000000	9,0515	67,6923	11,70	0,22	1537,00	1129,00	636,00	123,00
	<i>Rmax.-min.</i>	1050000000	1,1707	63,9423	6,51	0,12	382,00	247,00	245,00	23,00
	<i>medián</i>	819500000	8,9136	27,5288	8,74	0,17	1231,00	993,00	430,50	110,50
	<i>horní q</i>	594000000	8,7738	17,7598	8,30	0,16	1203,50	954,25	404,00	104,75
	<i>dolní q</i>	982000000	8,9921	41,3571	9,50	0,18	1278,00	1041,00	458,75	115,00

K										
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	806281250	8,8790	33,0103	8,72	0,16	1213,25	1003,22	393,00	109,94
	<i>xg</i>		756832895							
	<i>sx_v</i>	362801219,400	0,1465	21,2635	0,719	0,015	159,966	113,209	28,685	7,804
	<i>vx_v</i>	45,0		64,4	8,2	9,4	13,2	11,3	7,3	7,1
	<i>sx</i>	357087457,282	0,1442	20,9286	0,708	0,015	157,447	111,426	28,233	7,681
	<i>vx</i>	44,3		63,4	8,1	9,4	13,0	11,1	7,2	7,0
	<i>min</i>	327000000	8,5145	9,6875	7,47	0,14	646,00	523,00	300,00	90,00
	<i>max</i>	2539000000	9,4047	90,9091	10,60	0,20	1408,00	1275,00	443,00	130,00
	<i>Rmax.-min.</i>	2212000000	0,8902	81,2216	3,13	0,06	762,00	752,00	143,00	40,00
	<i>medián</i>	737000000	8,8675	26,5705	8,74	0,16	1244,50	1017,50	390,50	110,50
	<i>horní q</i>	668500000	8,8251	18,8735	8,23	0,15	1176,75	970,00	378,75	105,00
	<i>dolní q</i>	865000000	8,9370	41,7857	9,04	0,17	1303,25	1034,25	407,25	113,25
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64
	t	0,63	0,83	0,67	0,11	0,00	1,14	0,18	4,38	0,20
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns

E		K	I	Mn	Fe	Cu	Zn	Asp	Thr	Ser
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	1659,81	171,44	0,02	0,20	0,06	3,80	2,0694	1,1290	1,3767
	<i>xg</i>									
	<i>sx_v</i>	66,936	93,191	0,008	0,075	0,013	0,473	0,1378	0,0841	0,0995
	<i>vx_v</i>	4,0	54,4	40,0	37,5	21,7	12,4	6,7	7,4	7,2
	<i>sx</i>	65,882	91,723	0,008	0,074	0,012	0,466	0,1356	0,0828	0,0979
	<i>vx</i>	4,0	53,5	40,0	37,0	20,0	12,3	6,6	7,3	7,1
	<i>min</i>	1512,00	76,00	0,01	0,12	0,04	2,92	1,7360	0,9720	1,1049
	<i>max</i>	1789,00	392,00	0,03	0,38	0,10	5,02	2,3543	1,2753	1,5225
	<i>Rmax.-min.</i>	277,00	316,00	0,02	0,26	0,06	2,10	0,6183	0,3033	0,4176
	<i>medián</i>	1652,00	147,50	0,02	0,17	0,06	3,74	2,0760	1,1294	1,3838
	<i>horní q</i>	1621,50	96,75	0,02	0,15	0,06	3,46	1,9663	1,0726	1,3051
	<i>dolní q</i>	1695,75	218,25	0,03	0,25	0,07	3,99	2,1522	1,1946	1,4457

K										
	celk <i>n</i>	32	31	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	1649,06	297,90	0,03	0,24	0,05	4,23	2,2617	1,2384	1,5717
	<i>xg</i>									
	<i>sx_v</i>	78,186	124,735	0,011	0,105	0,016	0,479	0,2188	0,1147	0,1520
	<i>vx_v</i>	4,7	41,9	36,7	43,8	32,0	11,3	9,7	9,3	9,7
	<i>sx</i>	76,955	122,707	0,011	0,103	0,016	0,471	0,2154	0,1129	0,1496
	<i>vx</i>	4,7	41,2	36,7	42,9	32,0	11,1	9,5	9,1	9,5
	<i>min</i>	1475,00	109,00	0,01	0,14	0,03	2,71	1,9094	1,0326	1,2866
	<i>max</i>	1798,00	530,00	0,06	0,51	0,09	5,76	2,7300	1,4858	1,8663
	<i>Rmax.-min.</i>	323,00	421,00	0,05	0,37	0,06	3,05	0,8206	0,4532	0,5797
	<i>medián</i>	1650,00	295,00	0,03	0,20	0,05	4,26	2,1826	1,1932	1,5341
	<i>horní q</i>	1618,50	188,50	0,02	0,18	0,04	4,08	2,0937	1,1584	1,4823
	<i>dolní q</i>	1681,75	395,50	0,04	0,24	0,06	4,44	2,4370	1,3251	1,6889
	nt	64	63	64	64	64	64	64	64	64
	t	0,58	4,50	4,09	1,73	2,70	3,56	4,14	4,28	5,98
		ns	***	***	ns	**	***	***	***	***

E		Glu	Pro	Gly	Ala	Val	MetS	CysH	Ile	Leu
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	4,9625	2,8090	0,4982	0,7552	1,6506	0,7628	0,0899	1,3916	2,5656
	<i>xg</i>									
	<i>sx_v</i>	0,3754	0,3611	0,0344	0,0693	0,1094	0,0890	0,0240	0,0855	0,1516
	<i>vx_v</i>	7,6	12,9	6,9	9,2	6,6	11,7	26,7	6,1	5,9
	<i>sx</i>	0,3695	0,3554	0,0338	0,0682	0,1077	0,0876	0,0236	0,0841	0,1493
	<i>vx</i>	7,4	12,7	6,8	9,0	6,5	11,5	26,3	6,0	5,8
	<i>min</i>	3,8792	2,2243	0,4282	0,6172	1,3962	0,5593	0,0439	1,2009	2,2818
	<i>max</i>	5,5863	3,5182	0,5482	0,8939	1,8203	0,9154	0,1336	1,5457	2,8388
	<i>Rmax.-min.</i>	1,7071	1,2939	0,1200	0,2767	0,4241	0,3561	0,0897	0,3448	0,5570
	<i>medián</i>	4,9916	2,8589	0,5041	0,7657	1,6662	0,7736	0,0874	1,3848	2,5748
	<i>horní q</i>	4,7175	2,4705	0,4723	0,6898	1,5815	0,7029	0,0735	1,3282	2,4455
	<i>dolní q</i>	5,2551	3,0780	0,5281	0,8041	1,7375	0,8302	0,1039	1,4516	2,6905

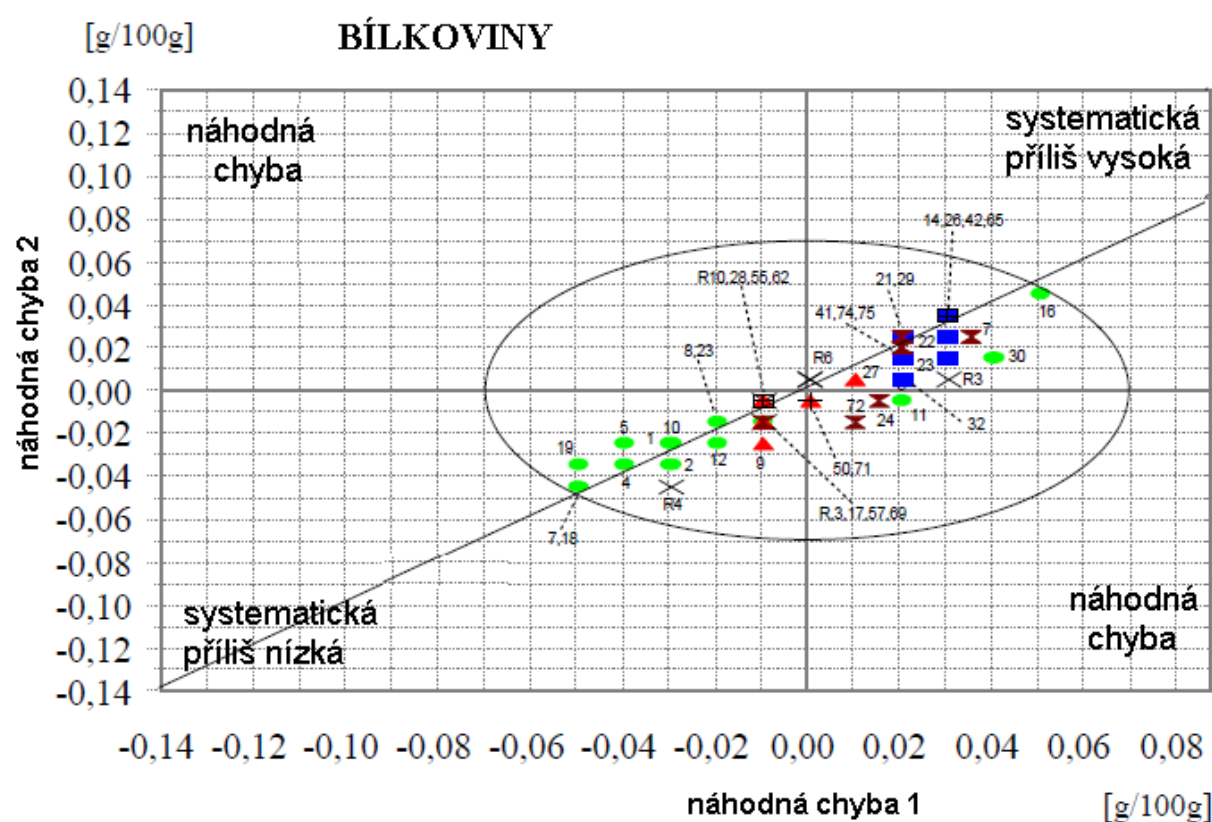
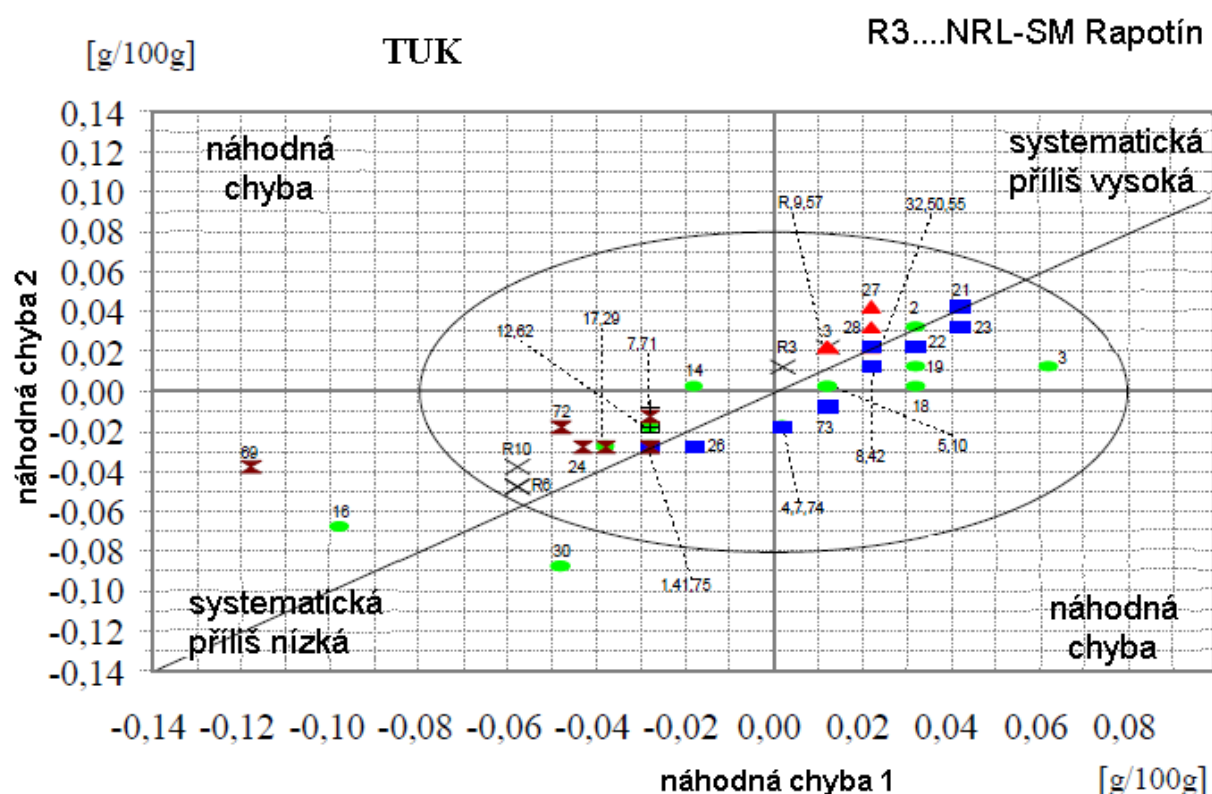
K										
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	5,8345	3,1122	0,5549	0,8516	1,8326	0,9394	0,1787	1,4750	2,8567
	<i>xg</i>									
	<i>sx_v</i>	0,3085	0,4701	0,0509	0,0623	0,1525	0,2205	0,0442	0,1569	0,2188
	<i>vx_v</i>	5,3	15,1	9,2	7,3	8,3	23,5	24,7	10,6	7,7
	<i>sx</i>	0,3036	0,4627	0,0501	0,0613	0,1501	0,2171	0,0436	0,1545	0,2153
	<i>vx</i>	5,2	14,9	9,0	7,2	8,2	23,1	24,4	10,5	7,5
	<i>min</i>	5,2350	2,2677	0,4661	0,7352	1,5391	0,5098	0,1002	1,1654	2,3955
	<i>max</i>	6,3830	4,0058	0,6686	1,0030	2,1391	1,4845	0,2840	1,7499	3,2744
	<i>Rmax.-min.</i>	1,1480	1,7381	0,2025	0,2678	0,6000	0,9747	0,1838	0,5845	0,8789
	<i>medián</i>	5,8007	3,2239	0,5399	0,8447	1,7958	0,8706	0,1730	1,4352	2,8496
	<i>horní q</i>	5,6849	2,6055	0,5186	0,8104	1,7153	0,8240	0,1543	1,3670	2,7188
	<i>dolní q</i>	6,0589	3,4693	0,5942	0,8854	1,9464	0,9782	0,1975	1,5945	3,0146
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64
	t	9,99	2,85	5,14	5,76	5,40	4,14	9,83	2,60	6,09
		***	**	***	***	***	***	***	*	***

E		Tyr	Phe	His	Lys	Arg	AMKC	RelAsp	RelThr	RelSer	RelGlu
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	1,1335	1,3045	0,7245	2,2605	1,1068	26,5901	7,78	4,25	5,18	18,66
	<i>xg</i>										
	<i>sx_v</i>	0,0817	0,0754	0,0426	0,1375	0,0806	1,7179	0,215	0,129	0,160	0,625
	<i>vx_v</i>	7,2	5,8	5,9	6,1	7,3	6,5	2,8	3,0	3,1	3,3
	<i>sx</i>	0,0804	0,0742	0,0419	0,1353	0,0793	1,6908	0,212	0,127	0,158	0,615
	<i>vx</i>	7,1	5,7	5,8	6,0	7,2	6,4	2,7	3,0	3,1	3,3
	<i>min</i>	0,9520	1,1431	0,6393	1,9657	0,9195	23,4205	7,35	4,01	4,63	16,26
	<i>max</i>	1,2959	1,4360	0,8029	2,5298	1,2751	29,8581	8,25	4,62	5,51	19,73
	<i>Rmax.-min.</i>	0,3439	0,2929	0,1636	0,5641	0,3556	6,4376	0,90	0,61	0,88	3,47
	<i>medián</i>	1,1440	1,3205	0,7310	2,2552	1,0959	26,8377	7,80	4,25	5,21	18,66
	<i>horní q</i>	1,0648	1,2481	0,6985	2,1823	1,0571	25,0973	7,65	4,16	5,10	18,35
	<i>dolní q</i>	1,1929	1,3503	0,7594	2,3758	1,1753	27,7367	7,93	4,32	5,26	19,01

K	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32	
	<i>x</i>	1,4175	1,4232	0,8567	2,4427	1,2266	30,0742	7,51	4,12	5,22	19,45
	<i>xg</i>										
	<i>sx_v</i>	0,1426	0,1097	0,0529	0,1997	0,0917	2,3712	0,225	0,145	0,146	0,911
	<i>vx_v</i>	10,1	7,7	6,2	8,2	7,5	7,9	3,0	3,5	2,8	4,7
	<i>sx</i>	0,1404	0,1080	0,0521	0,1965	0,0902	2,3338	0,222	0,142	0,143	0,897
	<i>vx</i>	9,9	7,6	6,1	8,0	7,4	7,8	3,0	3,4	2,7	4,6
	<i>min</i>	1,1615	1,2231	0,7388	2,0290	1,0552	25,5364	6,89	3,70	4,87	17,84
	<i>max</i>	1,7278	1,6819	0,9601	2,8198	1,4487	34,3650	8,08	4,43	5,52	21,04
	<i>Rmax.-min.</i>	0,5663	0,4588	0,2213	0,7908	0,3935	8,8286	1,19	0,73	0,65	3,20
	<i>medián</i>	1,3808	1,3979	0,8464	2,4053	1,2120	29,4413	7,53	4,12	5,24	19,49
	<i>horní q</i>	1,3271	1,3540	0,8309	2,3035	1,1666	28,3131	7,40	4,04	5,16	18,73
	<i>dolní q</i>	1,4824	1,4733	0,8920	2,5910	1,2813	32,1744	7,63	4,21	5,31	20,15
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
	t	9,62	4,96	10,84	4,18	5,46	6,62	4,83	3,73	1,03	3,98
		***	***	***	***	***	***	***	***	ns	***

E		RelPro	RelGly	RelAla	RelVal	RelMetS	RelCysH	RelIle	RelLeu	RelTyr	RelPhe	RelHis
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	10,54	1,87	2,84	6,21	2,87	0,34	5,24	9,66	4,27	4,91	2,73
	<i>xg</i>											
	<i>sx_v</i>	0,899	0,093	0,141	0,195	0,299	0,085	0,151	0,268	0,263	0,135	0,071
	<i>vx_v</i>	8,5	5,0	5,0	3,1	10,4	25,0	2,9	2,8	6,2	2,7	2,6
	<i>sx</i>	0,885	0,092	0,139	0,191	0,294	0,083	0,149	0,264	0,258	0,133	0,070
	<i>vx</i>	8,4	4,9	4,9	3,1	10,2	24,4	2,8	2,7	6,0	2,7	2,6
	<i>min</i>	8,97	1,67	2,59	5,89	2,32	0,18	4,96	9,08	3,85	4,59	2,53
	<i>max</i>	12,47	2,30	3,16	6,89	3,39	0,48	5,76	10,49	4,97	5,24	2,89
	<i>Rmax.-min.</i>	3,50	0,63	0,57	1,00	1,07	0,30	0,80	1,41	1,12	0,65	0,36
	<i>medián</i>	10,72	1,87	2,82	6,21	2,91	0,34	5,23	9,63	4,20	4,89	2,73
	<i>horní q</i>	9,73	1,83	2,75	6,08	2,69	0,28	5,14	9,52	4,10	4,84	2,69
<i>dolní q</i>	11,17	1,89	2,92	6,28	3,09	0,41	5,29	9,80	4,43	4,98	2,77	
K												
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	<i>x</i>	10,32	1,85	2,84	6,09	3,11	0,59	4,90	9,50	4,71	4,74	2,86
	<i>xg</i>											
	<i>sx_v</i>	1,133	0,065	0,238	0,138	0,564	0,121	0,202	0,184	0,176	0,138	0,133
	<i>vx_v</i>	11,0	3,5	8,4	2,3	18,1	20,5	4,1	1,9	3,7	2,9	4,7
	<i>sx</i>	1,115	0,064	0,235	0,136	0,555	0,119	0,199	0,181	0,173	0,136	0,131
	<i>vx</i>	10,8	3,5	8,3	2,2	17,8	20,2	4,1	1,9	3,7	2,9	4,6
	<i>min</i>	8,16	1,66	2,36	5,72	1,93	0,38	4,19	9,13	4,44	4,44	2,60
	<i>max</i>	12,50	1,96	3,15	6,37	4,61	0,87	5,44	9,85	5,05	4,99	3,07
	<i>Rmax.-min.</i>	4,34	0,30	0,79	0,65	2,68	0,49	1,25	0,72	0,61	0,55	0,47
	<i>medián</i>	10,32	1,85	2,93	6,09	3,06	0,59	4,91	9,50	4,68	4,76	2,88
	<i>horní q</i>	9,58	1,81	2,70	6,04	2,81	0,51	4,82	9,40	4,55	4,66	2,76
<i>dolní q</i>	11,31	1,88	3,02	6,18	3,21	0,63	4,99	9,63	4,84	4,83	2,96	
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
	t	0,85	0,98	0,00	2,80	2,09	9,41	7,51	2,74	7,74	4,90	4,80
		ns	ns	ns	**	*	***	***	**	***	***	***
E		RelLys	RelArg	Essential	Semi-essential	Non-essential	RelEssential	RelSemi-essential	RelNon-essential			
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32			
	<i>x</i>	8,51	4,16	11,79	1,22	13,58	44,36	4,61	51,03			
	<i>xg</i>											
	<i>sx_v</i>	0,222	0,209	0,696	0,085	1,017	0,861	0,248	0,954			
	<i>vx_v</i>	2,6	5,0	5,9	7,0	7,5	1,9	5,4	1,9			
	<i>sx</i>	0,219	0,206	0,685	0,083	1,001	0,847	0,244	0,939			
	<i>vx</i>	2,6	5,0	5,8	6,8	7,4	1,9	5,3	1,8			
	<i>min</i>	8,16	3,85	10,39	1,02	11,36	43,27	4,28	47,62			
	<i>max</i>	9,03	4,65	13,00	1,37	15,56	47,63	5,27	52,31			
	<i>Rmax.-min.</i>	0,87	0,80	2,61	0,35	4,20	4,36	0,99	4,69			
	<i>medián</i>	8,50	4,19	11,81	1,23	13,77	44,23	4,57	51,29			
	<i>horní q</i>	8,33	3,98	11,34	1,16	12,68	43,83	4,42	50,68			
<i>dolní q</i>	8,66	4,29	12,26	1,28	14,23	44,71	4,76	51,54				
K												
	celk <i>n</i>	32	32	32	32	32	32	32	32			
	<i>x</i>	8,12	4,08	13,07	1,60	15,41	43,43	5,30	51,28			
	<i>xg</i>											
	<i>sx_v</i>	0,111	0,127	1,124	0,172	1,122	0,629	0,215	0,785			
	<i>vx_v</i>	1,4	3,1	8,6	10,8	7,3	1,4	4,1	1,5			
	<i>sx</i>	0,109	0,125	1,106	0,170	1,104	0,619	0,212	0,772			
	<i>vx</i>	1,3	3,1	8,5	10,6	7,2	1,4	4,0	1,5			
	<i>min</i>	7,89	3,80	10,97	1,30	13,27	42,24	4,93	49,46			
	<i>max</i>	8,38	4,36	15,23	2,01	17,13	44,81	5,85	52,55			
	<i>Rmax.-min.</i>	0,49	0,56	4,26	0,71	3,86	2,57	0,92	3,09			
	<i>medián</i>	8,14	4,08	12,74	1,56	15,18	43,33	5,28	51,39			
	<i>horní q</i>	8,02	4,00	12,31	1,49	14,49	42,99	5,17	50,85			
<i>dolní q</i>	8,18	4,14	13,84	1,68	16,33	43,80	5,37	51,94				
	nt	64	64	64	64	64	64	64	64			
	t	8,75	1,82	5,39	11,03	6,73	4,86	11,70	1,13			
		***	ns	***	***	***	***	***	ns			

C. Mezinárodní mezilaboratorní kruhový test AFEMA červen 2009



● A × R ▲ D ■ C ⊞ I ⚡ H + S