



## MOŽNOSTI IDENTIFIKACE FALŠOVÁNÍ SYROVÉHO MLÉKA

Oto Hanuš<sup>1</sup>, Irena Němečková<sup>1</sup>, Lucie Rysová<sup>2</sup>,  
Veronika Legarová<sup>2</sup>, Jaroslav Kopecký<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

<sup>2</sup> Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů

### Possibilities of identification of adulteration of raw milk

#### Abstrakt

Příspěvek uvádí potřebu vývoje metod pro odhalování falšování syrového mléka. Podrobněji je zmíněna pravděpodobnostní, statistická metoda identifikace falšování ovčího mléka vodou podle dynamiky vybraných složek mléka a bodu mrznutí mléka během sezóny. Jsou uvedeny metodické postupy a výsledky řešení současného projektu vývoje metod pro odhalování falšovaného mléka malých přeživkavců přidávkem kravského mléka. V závěru je zdůvodněna akutní potřeba urychleného výzkumu a vývoje analytických metod pro odhalování falšování mléka, především kravského, umělým snižováním počtu somatických buněk, jako postupu prevence zhoršování kvality potravinového řetězce a podpory ochrany zdraví konzumentů.

**Klíčová slova:** analýza, bílkoviny, bod mrznutí mléka, falšování, identifikace, koza, kráva, laktóza, mléko, ovce, počet somatických buněk, tuk

#### Abstract

The paper mentions the need to develop methods for detecting raw milk adulteration. The probabilistic, statistical method of identification of adulteration of sheep milk by water according to the dynamics of selected milk components and the freezing point of milk during the season is mentioned in more details. Methodological procedures and results of the current project of deve-

lopment of methods for detection of adulterated milk of small ruminants by adding cow's milk are presented. In conclusion, there is expressed an urgent need for accelerated research and development of analytical methods for detecting milk adulteration, especially cow milk, by artificially reducing the somatic cell count as a way of preventing deterioration in the quality of the food chain and promoting consumer health protection.

**Keywords:** adulteration, analysis, cow, fat, goat, identification, lactose, milk, milk freezing point, protein, sheep, somatic cell count

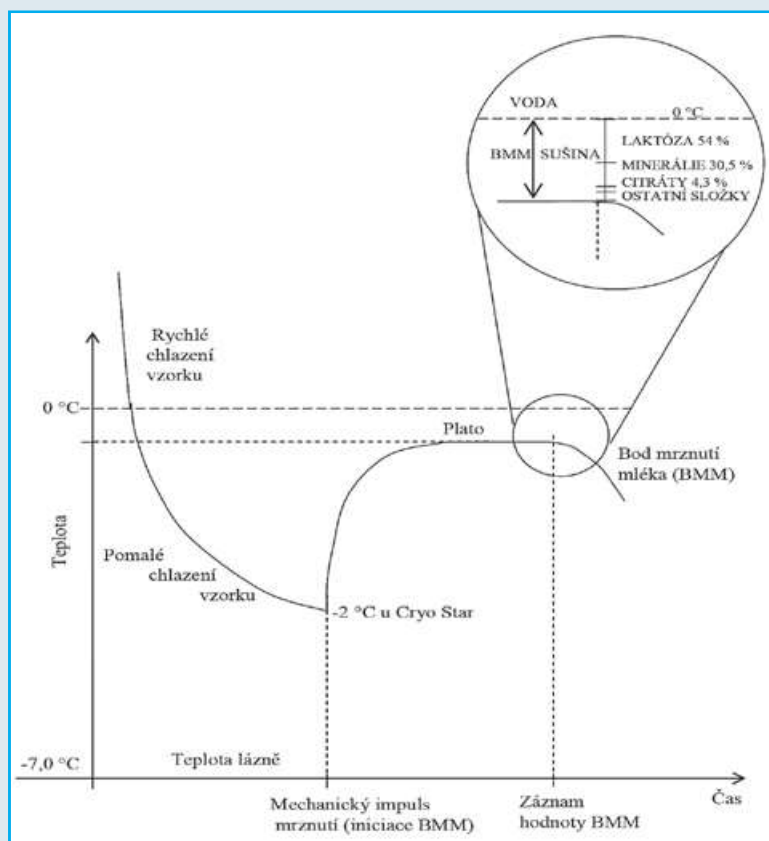
### Současný přístup ke kontrole zvodnění mléka

Falšování je obecně rozšířená lidská činnost motivovaná komerčními zájmy, vedoucí obvykle k přisouzení neadekvátní hodnoty za domnělou kvalitu. Nejinak je tomu v mlékařství. Poškozována jsou tím tedy zejména kvalitativní hlediska produkce.

Sledování a vyhodnocování kvality syrového mléka pomáhá plnit důležitou společenskou zakázku (BAUMGARTNER et al., 2000). Bezpečnost a kvalita mléčného potravinového řetězce jsou důležitými aspekty ochrany veřejného zdraví, jak mimo jiné dokládají i popisy vývoje vyšetřovacích analytických metod a systémů dohledatelnosti rizikových zdrojů (MILLÁN-VERDÚ et al., 2003; MARTÍNEZ de la VARA et al., 2018).

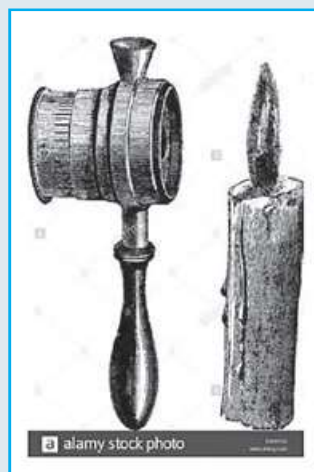
Ke kontrole falšování mléka zvodněním byly postupně vyvíjeny metody jako acidobutyrometrické stanovení tuku (dle Gerbera), okoskopická fotometrie (Obr. 2; A. F. Donné; laktoskop držný proti svíče k odhadu složení mléka (specifická hmotnost mléka, nebo obsahu tuku); MILLÁN-VERDÚ et al., 2003), laktodenzitometrická kontrola až posléze stanovení sušiny tukuprosté gravimetricky a bodu mrznutí mléka kryoskopicky (Obr. 1). Dnes lze dále využít různé clustrové analýzy a také simultánní stanovení většiny základních složek mléka na bázi infračervené spektroskopie (ve středové oblasti IR s filtrovou technologií (MIR) nebo s měřením celého IR spektra Michelsonovým interferometrem a vyhodnocení výtěžnosti signálu prostřednictvím Fourierovy transformace (MIR-FT) a případně další postupy v oblasti blízké IR (NIR): TSENKOVA et al., 1999, 2000;

KUKAČKOVÁ et al., 2000; JANKOVSKÁ a ŠUSTOVÁ, 2003; ŠUSTOVÁ et al., 2007; DVORAK et al., 2016; MLCEK et al., 2016; KALA et al., 2018 a 2019). Skutečností aktuálně je, že kontrola zvodnění kravského mléka pozbývá na významu, neboť platba kvality mléka je realizována také, mimo jiné, podle obsahu tuku a bílkovin, a tak úmyslné falšování pro zisk navýšením objemu postrádá smysl a jev se vyskytuje řídkce, pouze jako důsledek nějaké technologické poruchy při dojení nebo zpracování. Jinak je tomu ovšem u mléka malých přežvýkavců (MP). Důvodem je vyšší, tři až šestkrát, cena litru mléka oproti kravskému. Při velké variabilitě složení kozího a ovčího mléka podle plemen lze ke kontrole použít složky jen omezeně, limity selhávají a např. na Slovensku, kde se mléko ovčí dodává do větších mlékáren (což v ČR absentuje), je možnost zvětšit objem vodou stále lákavá. Proto byl na Slovensku problém identifikace porušení ovčího mléka vodou před nedávnem řešen. Závěry byly následující (HANUŠ et al., 2015, 2016): mléko MP je vnímáno zdravotně jako vhodná alternativa případných problémů s konzumací mléka kravského. Cena syrového mléka MP je výrazně vyšší než mléka kravského. Cena ovčího mléka je faktorem potřeby kontroly jeho případného zvodnění (ZM; falšování). ZM může představovat technologické a představuje ekonomické riziko pro zpracovatele mléka. Cílem bylo realizovat zpřesnění detekčního limitu bodu mrznutí (BMM) pro ZM u ovčí. Použity byly bazénové vzorky. Laktóza tvoří 55,0, 46,95 a 48,18 % BMM u krav, ovčí a koz. Průměr BMM u ovčí byl  $-0,559 \pm 0,029$  °C ( $n = 811$ ).



Obr. 1 Definice bodu mrznutí (BMM) na teplotní křivce ochlazování mléka

Vysoké korelace byly mezi BMM a složkami:  $-0,228$ ,  $-0,231$ ,  $-0,219$  ( $P < 0,01$ ),  $-0,497$  a  $-0,341$  ( $P < 0,001$ ) pro tuk, bílkoviny, laktózu, sušinu tukuprostou a sušinu celkovou. Korelace mezi BMM (přímá kryoskopie) a jeho ekvivalentem (nepřímé určení) byla  $0,945$  ( $P < 0,001$ ). 1 % ZM zvyšuje BMM o  $0,006$  a  $0,0072$  °C u krav a ovčí. Změny (zvýšení) v obsahu tuku (např. chyba odběru vzorku) o 5,75 % změnily (snížily) BMM u ovčí o  $0,005$  °C. Odhad měsíčních limitů BMM a složek pro ZM u ovčí byl: průměr ( $x$ ) + směrodatná odchylka ( $sd$ )  $\times 1,64$  a  $x - sd \times 1,64$  (95 % jednostranného intervalu spolehlivosti). Limitní rovnice pro BMM podle měsíců (sezóny,



Obr. 2 Donného laktoskop drženy proti svíčke (Wikipedie)

laktace) byla:  $y = 0,0044x - 0,5436$ ;  $r = 0,864$ ;  $P < 0,05$ . Byl vytvořen hierarchický model aplikace limitních rovnic BMM a složek pro identifikaci ZM ovčí k redukci falešně pozitivních a negativních nálezů podle vztahů složek k BMM. Výsledky jsou prakticky použitelné na Slovensku i v České republice. Tato metoda existuje v ČR jako Certifikovaná metodika (RO1416 CM 28) VÚM Praha a na Slovensku jako Uživatelský vzor (UV 5067-2016 (č. 7928)) Výzkumného ústavu mlékárenského v Žilině.

## Metody a výsledky úvodu projektu studia falšování mléka 2019

Výrazně vyšší cena mléka malých přežvýkavců může být důvodem snahy o vylepšení objemu přidavkem mléka kravského. Odhalování možného falšování je proto významným postupem kontroly kvality (PSATHAS a TZAMALOUKAS, 2017). Tato skutečnost je příčinou existence projektu kladoucího si za cíl vyvinout metodu spolehlivé identifikace takto falšovaného mléka. Zájem odborné i konzumentské veřejnosti o tuto tematiku je dnes zřejmý rovněž ze sdělovacích prostředků. Projekt (spolupráce ČZU v Praze a VÚM Praha – Nové spolehlivé metody detekce falšování kozího a ovčího mléka a mléčných výrobků) je v metodickém úvodu a zde jsou uvedeny výsledky podmínek prováděného testování.

Nejvyužívanější jsou v současné době metody založené na analýze DNA, z nich je nejvíce užívána metoda PCR techniky. Tyto metody rozeznávají jednotlivé druhy mléka, zachy-

Tab. 1 Výsledky analýz použitých vzorků kravského mléka pro účely vývoje predikční metody indikace falšování mléka.

Ukazatel	CPM	log CPM	PSB	log PSB	Tuk	Bílkoviny	Kasein	Laktóza	STP	SC	Močovina	BMM	pH	SH	Čas ko.	KSM
jednotka	tisíc CFU/ml		tisíc/ ml		g/ 100 ml	g/ 100 g	g/ 100 g	g/ 100 g	g/ 100 g	g/ 100 g	mg/ 100 ml	°C × -1 000		°SH	s	°SH
n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
x	53	4,1034	223	2,1821	4,25	3,39	2,71	5,05	9,02	13,17	34,57	546,58	6,65	7,0	487	30,84
g	13		152													
sx	123	0,7086	247	0,3929	0,931	0,215	0,242	0,08	0,23	0,93	7,6	5,346	0,033	1,05	54,0	3,24
vx (%)	231		111		21,9	6,3	8,9	1,6	2,5	7,1	22,0	1,0	0,5	15,0	11,1	10,5
min	1	3	13	1,1139	2,11	2,85	1,95	4,85	8,33	10,77	22,23	554,0	6,59	4,72	356	25,35
max	570	5,7559	1 190	3,0755	6,32	3,76	3,12	5,26	9,37	14,61	48,83	535,0	6,72	8,82	579	39,62
m	9	3,9527	170	2,2292	4,34	3,39	2,75	5,04	8,98	13,42	33,54	547,25	6,65	7,04	493	29,61

CPM = celkový počet mezofilních mikroorganismů; PSB = počet somatických buněk; Bílkoviny = obsah hrubých bílkovin; Laktóza = obsah monohydrátu laktózy; STP obsah sušiny tukuprostě; SC = sušina celková; BMM = bod mrznutí mléka, hodnota BMM ve °C krát -1 000 (např. -0,525 = 525,0); SH = titrační kyselost v ml spotřeby 0,25 N (M) roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela); Čas ko. = syřitelnost jako čas koagulace mléka syřidlem v sekundách (s); KSM = kysací schopnost mléka jako kyselost (spotřeba 0,25 N (M) v ml roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela)); n = počet případů; x = aritmetický průměr; g = geometrický průměr; sx = směrodatná odchylka; vx = variační koeficient v % pro n-1; min = minimum; max = maximum; m = medián.

cují přídavek od 0,5 nebo 1 %, ale již nejsou schopny identifikovat procentuální zastoupení jednotlivých druhů, což neumožňuje rozeznávat kontaminaci od falšování (BORKOVÁ a SNÁŠELOVÁ, 2005; ZACHAR et al., 2011; DI PINTO et al., 2017; KALOGIANNI, 2018; TSAKALI et al., 2019). Další práce považují infračervené spektrum (IR) falšovaného mléka za biochemický fingerprinting pro přídavky cizorodého druhu mléka do základu jako například ovčí, kozí (malí přežvýkavci) nebo buvolí mléko. Proto uvažují o metodě infračervené spektroskopie v celé středové oblasti IR záření se záznamem spektra Michelsonovým interferometrem a Fourierovou transformací při vyhodnocení získaného signálu (MIR-FT) za perspektivní metodu pro možnost detekce falšování mléka, nicméně, obvykle zachycené schopnosti detekce se zatím pohybují kolem 5 nebo i 10 % přídavku cizorodého mléka (NICOLAOU et al., 2010; CIRAK et al., 2018), což sice pro praktickou detekci falšování může stačit, protože méně již nepřináší žádný podstatný ekonomický efekt z této činnosti, přesto je třeba nalézt metodicky i nižší hladiny rozlišení a kvantifikace.

Byla provedena rekognoscace terénu mlékařicích farem skotu, koz a ovcí v Olomouckém, Moravskoslezském a Zlínském kraji podle plemen, dojivosti, technologie, ale i lokalizace pro možnost řešení dopravního problému pro vzorkování mléka. Vybraná stáda, 5 stád dojníc, 5 stád koz a 4 stáda ovcí, pak byla vzorkována v květnu a srpnu 2019. Vzorkování bazénového mléka zohledňovalo jednak průběh mléčné sezóny v závislosti na sezónnosti reprodukčního cyklu a termíny odstavu mláďat u malých přežvýkavců, dále fyziologický fakt změn složení mléka s laktací a také skutečnost poklesu dojivosti koncem léta u malých přežvýkavců. Vždy, čtyřikrát po sobě, bylo odebráno 5 vzorků kravského, pět vzorků kozího a 4 vzorky ovčího mléka, kde 5. vzorek byl připraven náhodným mísením všech předchozích. Vybraná stáda se nacházela v nadmořské výšce: krávy 339±100 m (od 227 m do 474 m); ovce 425±80 m (od 300 m do 498 m); kozy

337±89 m (od 240 m do 474 m). Pokud jde o vyjádření faktoru plemene, je tento kalkulován jako relativní plemenné zastoupení v mléce opakovaně použité vzorkové sady při známých poměrech modifikace (falšování) mléka pro příslušný biologický druh mléka. Tento způsob byl zvolen zejména proto, že především stáda malých přežvýkavců nebyla jednotná z hlediska plemene, nezřídka zahrnovala zvířata i tři plemen. Dalším faktorem byla přítomnost četných meziplenných kříženců ve stádech. Nicméně, taková je praxe v ČR a tomu také logicky odpovídaly poměry provedeného testování - krávy: 83 % Holštýn a 17 % České strakaté (celkem 100 %); - ovce: 70 % Lacaune, 20 % Cigája, 10 % Východofriřská ovce (celkem 100 %); - kozy: 59 % Bílá krátkosrstá koza, 29 % Hnědá krátkosrstá koza, 12 % Anglonúbijská koza (celkem 100 %).

Pro derivaci analytické metody identifikace falšování mléka (na bázi protonové NMR (nukleární magnetická rezonance) spektroskopie a hmotnostní spektrometrické analýzy MALDI-TOF) malých přežvýkavců je logicky velmi významné metodicky uvést podmínky, za kterých metoda vznikla a že jsou reprezentativní pro podmínky aplikace. Proto byly analyzovány relevantní vzorky mléka základními mlékařskými analytickými metodami a byly následně vypočteny střední hodnoty (aritmetické a geometrické průměry a mediány) a další statistické charakteristiky (směrodatné odchylky, variační koeficienty, minima a maxima) základních ukazatelů mléka všech původních druhů mléka zahrnutých v testování (kravské, ovčí, kozí). Tyto výsledky demonstrují podmínky a limity, za kterých výsledky případné metody identifikace falšování mléka malých přežvýkavců zejména platí. Je tomu tak proto, že mléko může být, jako ryze biologický materiál, značně variabilní ve svém složení podle klimatických, geografických a produkčních podmínek a při skutečně výrazných odchylkách může spolehlivost predikční metody indikace falšování slábnout. Výsledky analýz použitých vzorkových sad krav-

**Tab. 2** Výsledky analýz použitých vzorků kozího mléka pro účely vývoje predikční metody indikace falšování mléka

Ukazatel	CPM	log CPM	PSB	log PSB	Tuk	Bílkoviny	Kasein	Laktóza	STP	SC	Močovina	pH	SH	Čas ko.	KSM
jednotka	tisíc CFU/ml		tisíc/ml		g/100ml	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	mg/100ml		°SH	s	°SH
n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
x	766	4,8843	1 361	3,0005	3,83	3,12	2,99	4,62	8,55	12,27	64,39	6,59	5,97	98	33,37
g	77		1 001												
sx	2 296	0,8355	984	0,3748	0734	0,273	0,264	0,178	0,35	0,88	19,55	0,09	1,38	78	5,82
vx (%)	300		72,3		19,2	8,8	8,8	3,9	4,1	7,2	30,4	1,3	23,0	79,5	17,4
min	2	3,301	195	2,29	2,6	2,61	2,54	4,38	8,02	10,52	34,15	6,47	3,67	44	17,39
max	9 000	6,9542	3 824	3,5825	6,09	4,03	3,85	5,07	9,35	14,13	114,77	6,83	8,95	430	41,19
m	84	4,9204	988	2,9938	3,68	3,08	3,0	4,62	8,54	12,2	62,18	6,58	5,67	74	34,45

Zkratky vysvětleny pod Tab. 1.

**Tab. 3** Výsledky analýz použitých vzorků ovčího mléka pro účely vývoje predikční metody indikace falšování mléka

Ukazatel	CPM	log CPM	PSB	log PSB	Tuk	Bílkoviny	Kasein	Laktóza	STP	SC	Močovina	pH	SH	Čas ko.	KSM
jednotka	tisíc CFU/ml		tisíc/ml		g/100ml	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	mg/100ml		°SH	s	°SH
n	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
x	421	5,1705	974	2,8627	6,71	6,0	4,92	4,74	11,63	18,34	96,11	6,59	10,15	160	50,43
g	148		729												
sx	841	0,6217	699	0,3654	1,029	0,533	0,45	0,282	0,4	1,239	18,79	0,063	1,69	73	4,39
vx (%)	199,7		71,8		15,3	8,9	9,1	5,9	3,4	6,8	19,5	1,0	16,7	45,5	8,7
min	12	4,0792	166	2,2201	4,73	4,63	3,72	4,15	10,47	15,53	57,48	6,48	7,09	92	38,07
max	4 050	6,6075	2 781	3,4442	9,01	6,76	5,56	5,18	12,32	20,81	131,1	6,69	13,24	452	56,38
m	149	5,1696	817	2,9122	6,73	6,07	4,96	4,8	11,68	18,25	97,38	6,59	10,21	143	51,7

Zkratky vysvětleny pod Tab. 1.

ského, kozího a ovčího mléka jsou vedeny v příslušných tabulkách 1, 2 a 3. S ohledem na uvedené výsledky lze mléka jednotlivých druhů považovat za typická pro podmínky ČR, jak byly i jinde podobně zaznamenány (KUCHTÍK a SEDLÁČKOVÁ, 2003; HANUŠ et al., 2007, 2008, 2009; JANŮ et al., 2007 a, b; NOVOTNÁ et al., 2007; SOJKOVÁ et al., 2010 a, b; KRÁLÍČKOVÁ et al., 2013; BUCEK et al., 2018; ORAVCOVÁ et al., 2018; KVAPILÍK et al., 2019) a tím za vhodný materiál pro hledání metody identifikace falšování mléka malých přežvýkavců. Mléko malých přežvýkavců bylo dále metodicky porušeno falšováním mlékem kravským podle schéma s koncentrační škálou v tabulce 4 pro hledání využitelného vztahu výsledků uvedených indikačních metod ke skutečnosti falšování suroviny. Výsledky jsou nyní ve fázi hodnocení.

### Urgentní potřeba studia a vývoje analytických metod odhalování falšování mléka pomocí umělé redukce počtu somatických buněk (PSB)

V posledním období se v EU včetně ČR poměrně rozšířila separační metoda (centrifugační a filtrační oddělení PSB) pro zdánlivé vylepšování kvality mléka. Z pohledu nezávazné dřívější normy ČSN 57 0529, nejde sice v podstatě přímo o falšování suroviny, neboť dřívější pasáž definice, že syrovému mléku jako

**Tab. 4** Poměry kravského a kozího/ovčího mléka při falšování – základní škála pro vývoj metod detekce falšování

	Kravské (%)	objem	Kozí/Ovčí (%)	objem
1	0	0 ml	100	250 ml
2	0,5	1,25	99,5	248,75
3	1	2,5	99	247,5
4	5	12,5	95	237,5
5	10	25	90	225
6	100	250 ml	0	0 ml

surovině nesmí být nic odebráno ani přidáno, zde není uvedena, přesto se jedná o závažný a kvalitu ohrožující postup. Z důvodu dodržení komerční kvality je obvykle, za normálních okolností, abnormální mléko s vysokým PSB a pravděpodobnou mastitidou z dodávky do mlékárny ke zpracování nějakým způsobem vyloučeno již v prvovýrobě (na základě výsledků monitorovacích metod: Schalmův test; individuální počet somatických buněk; vizuální kontrola; kontrola aplikace antibiotik dojnícím). Pokud jsou však odstraněny jen somatické buňky (nikoliv příčiny mastitidních projevů – prevence a profylaxe onemocnění) a mléko je dodáno, zhoršená kvalita suroviny vlivem mastitidy zůstane velmi pravděpodobně nezměněna. Dojde pak k absenci technologické kvality suroviny, což limituje zpracování a výrobu s vyšší přidanou hodnotou, která je pro další pozitivní vývoj

mlékařství nezbytná. Takové dodávky mohou ohrozit technologické zpracování (na sýr a fermentované mléčné výrobky) a kvalitu mléčného potravinového řetězce vůbec. Podle naší dřívější studie zhoršoval rostoucí PSB významně syřitelnost a kysací schopnost mléka. Ačkoliv se z uvedených důvodů celá mlékařská odborná veřejnost shoduje v názoru, že tato praktika musí být kontrolována a eliminována, posun nenastal doposud žádný, neboť neexistuje postup (metoda), jak provést praktický důkaz.

Falšování a manipulace mléka je současným problémem kontroly kvality této potravinové suroviny. Děje se tak jednak z důvodů zvyšování cen vstupů do prvovýroby, jednak z důvodu tlaku na výkupní cenu mléka a zpřísnujících se požadavků na jeho hygienickou i technologickou kvalitu.

Manipulace mléka lze podle výše uvedených důvodů rozdělit do několika základních oblastí:

- ředění mléka (vodou, mlékem jiných živočišných druhů, než je deklarováno) za účelem zvýšení jeho výkupního objemu při eliminaci nákladů;
- centrifugace či jiná úprava mléka za účelem eliminace somatických buněk jako základního ukazatele hygienické kvality mléka;
- adice různých cizorodých komponent do mléka za účelem jeho lepšího zpeněžení za předpokladu existence takových složek mléka.

Výše zmíněné manipulace mléka nejsou zpravidla v souladu s platnou legislativou, která za syrové mléko považuje surovinu získanou dojením hospodářských zvířat a také s očekáváním spotřebitele, který je de facto tímto způsobem klamán. Vyjmenované manipulace s mlékem také často znamenají změnu jeho předpokládaných technologických vlastností pro další zpracování – sýření, výroba mléčných produktů založených na přirozených vlastnostech mléčného tuku a proteinů apod., která není předpokládána.

Je urgentně potřebné řešení projektu pro vývoj metody pro zjištění manipulace s cílem snížení PSB. Negativní vliv PSB na dojivost a technologické vlastnosti mléka je znám (FEAGAN et al., 1966; JANZEN, 1970; GAJDŮŠEK a ŠEBELA, 1971; POLITIS a NG-KWAHANG, 1988 a, b; GAJDŮŠEK, 1989; KVAPILÍK et al., 2014, 2015, 2016, 2017; BOBBO, et al., 2016, 2017; JINGAR et al., 2017). PSB je snadno prakticky kontrolovatelný, např. NK testem, a tak abnormální mléko je vyřazeno při postupu dojení a nepoškozuje pak technologické zpracování. To je situace předchozích 20 roků aplikace přiměřeného legislativního tlaku na lepší kvalitu mléka. Nyní se umělým snižováním PSB situace pozměnila. Nelegálním snížením PSB se jedná o nežádoucí a neúnosnou intervenci do systému kontroly potravinářské kvality, kterou je nutno řešit. Je proto třeba:

- vyvinout novou pravděpodobnostní metodu a postup odhadu falšování syrového mléka redukcí PSB prostřednictvím komparace výsledků enzymatických aktivit (ŠUSTOVÁ, 2015; ŠUSTOVÁ a KUČTÍK, 2015);

- vyvinout novou metodu a postup odhadu falšování syrového mléka redukcí PSB prostřednictvím skenování a interpretace infračervených spekter (kalibrace MIR-FT pro clustrovou analýzu);
- posoudit rovněž praktické možnosti nových analytických metod (na bázi protonové NMR spektroskopie a hmotnostní spektrometrické analýzy MALDI-TOF) k odhalování umělé redukce PSB pro nelegální dosahování domněle vyšší kvality syrového mléka;
- implementovat vyvinuté metody do mlékařského analytického prostředí pro podporu kvality a bezpečnosti mléčného potravinového řetězce;
- přispět k autenticitě suroviny v mlékařství k vyšší kvalitě obecně, k podpoře produktů s vyšší přidanou hodnotou, včetně ochrany zdraví konzumenta.

## Závěr

Řešení projektu přispívá k výzkumu, vývoji a validaci moderních analytických metodických postupů k odhalování případů falšování mléka malých přežvýkavců ve smyslu podchycení co nejnižší hladiny možného přídatku biologicky jiného mléka. Příspěvek dále uvádí možnost odhalování zvodnění ovčího mléka na základě hierarchického posouzení hodnot bazénových vzorků podle bodu mrznutí a dalších složek mléka. K současným znalostem a metodám pro indikaci falšování mléka je rovněž třeba urychleného výzkumu a vývoje analytických metod pro odhalování falšování mléka, především kravského, umělým snižováním počtu somatických buněk, jako postupu prevence zhoršování kvality potravinového řetězce a podpory ochrany zdraví konzumentů.

## Poděkování

Práce byla podporována projektem MZe ZEMĚ QK 1920222.

## Seznam literatury

- BAUMGARTNER, CH. und Expertengruppe für Qualitätssicherung und Qualitätsmanagement: Qualitäts (2000): Leitfaden für den Betrieb von Routine – Untersuchungsgeräten in Rohmilch – Prüfungslaboratorien, 1. Ausgabe, Oktober, s. 32.
- BOBBO, T., RUEGG, P. L., STOCCO, G., FIORE, E., GIANESELLA, M., MORGANTE, M., PASOTTO, D., BITTANTE, G., CECCHINATO, A. (2017): Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, s. 1-16.
- BOBBO, T., CIPOLAT-GOTET, C., BITTANTE, G., CECCHINATO, A. (2016): The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield, and curd nutrient recovery. *Journal of Dairy Science*, 99, s. 5104-5119.
- BORKOVÁ, M. a SNÁŠELOVÁ, J. (2005): Possibilities of Different Animal Milk Detection in Milk and Dairy Products – a Review. *Czech Journal of Food Sciences*, 23, 2, s. 41-50.
- BUCEK, P., MILERSKI, M., MAREŠ, V., KONRÁD, R., ROUBALOVÁ, M., ŠKARYD, V., RUCKI, J., HAKL, P. (2018): Ročenka chovu ovcí a koz c České republiky za rok 2017. Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Svaz chovatelů ovcí a koz, z.s., Dorper Asociace CZ, s. 96.
- CIRAK, O., ICYER, N. C., DURAK, M. Z. (2018): Rapid detection of adulteration of milks from different species using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). *Journal of Dairy Research*, 85, 2, s. 222-225. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029918000201>

- DI PINTO, A., TERIO, V., MARCHETTI, P., BOTTARO, M., MOTTOLA, A., BOZZO, G., BONERBA, E., CECI, E., TANTILLO, G. (2017): DNA-based approach for species identification of goat-milk products. *Food Chemistry*, 15, 229, s. 93-97. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.02.067
- DVORAK, L., MLCEK, J., SUSTOVA, K. (2016): Comparison of FT-NIR Spectroscopy and ELISA for Detection of Adulteration of Goat Cheeses with Cow's Milk. *Journal of AOAC International*, 99, 1, s. 180-186.
- FEAGAN, J. T., GRIFFIN, A. T., LLOYD, G.T. (1966): Effects of subclinical mastitis on heat stability of fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 49, s. 933-939.
- GAJDŮŠEK, S. (1989): Kysací schopnost, syřitelnost a alkoholová stabilita kravského mléka a jejich vztah ke složení mléka. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 34, s. 413-422.
- GAJDŮŠEK, S. a ŠEBELA, F. (1971): Změny technologické využitelnosti mléka při subklinické mastitidě. *Průmysl Potravin*, 22, s. 286-288.
- HANUŠ, O., FRELICH, J., JANŮ, L., MACEK, A., ZAJÍČKOVÁ, I., GENČUROVÁ, V., JEDELSKÁ, R. (2007): Impact of different milk yields of cows on milk quality in Bohemian spotted cattle. *Acta Veterinaria Brno*, 76, 4, ISSN 1801-7576, s. 563-571.
- HANUŠ, O., GENČUROVÁ, V., VYLETĚLOVÁ, M., KUČERA, J., TRÍNÁCTÝ, J. (2009): The effects of milk indicators of sheep mammary gland health state on some milk composition and properties. *Folia Veterinaria*, 53, 4, ISSN 0015-5748, s. 208-216.
- HANUŠ, O., GENČUROVÁ, V., VYLETĚLOVÁ, M., LANDOVÁ, H., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. (2008): The effect of goat udder health on composition and properties of raw milk. *Folia Veterinaria*, 52, ISSN 0015-5748, 3-4, s. 149-154.
- HANUŠ, O., TOMÁŠKA, M., HOFERICOVÁ, M., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., KLAPÁČOVÁ, L., JEDELSKÁ, R., KOLOŠTA, M. (2015): Relationship between freezing point and raw ewes' milk components as a possible tool for estimation of milk adulteration with added water. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54, 4, ISSN 1336-8672, s. 281-288.
- HANUŠ, O., TOMÁŠKA, M., KLIMEŠOVÁ, M., HOFERICOVÁ, M., VORLOVÁ, L., NĚMEČKOVÁ, I., KOLOŠTA, M., ROUBAL, P., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2016): Odhad proporcí podílů složek na bodu mrznutí mléka krav, ovcí a koz a identifikace pravděpodobného zvodnění ovčího mléka. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 27, 159, 6, ISSN 1212-950X, s. 11-17.
- JANKOVSKÁ, R. a ŠUSTOVÁ, K. (2003): Analysis of cow milk by near-infrared spectroscopy. *Czech Journal of Food Sciences*, 21, 4, s. 123-128.
- JANŮ, L., HANUŠ, O., BAUMGARTNER, C., MACEK, A., JEDELSKÁ, R. (2007 a): The analysis of state, dynamics and properties of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootecnica*, 10, 3, ISSN 1335-258X, s. 74-85.
- JANŮ, L., HANUŠ, O., FRELICH, J., MACEK, A., ZAJÍČKOVÁ, I., GENČUROVÁ, V., JEDELSKÁ, R. (2007 b): Influences of different milk yields of Holstein cows on milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 76, 4, 2007, ISSN 1801-7576, s. 553-561.
- JANZEN, J. J. (1970): Economic losses resulting from mastitis. A review. *Journal of Dairy Science*, 53, 9, s. 1151-1160. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(70\)86361-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(70)86361-5).
- JINGAR, S. C., SINGH, M., ROY, A. K. (2017): Economic losses due to clinical mastitis in cross-bred cows. *Dairy and Veterinary Science Journal*, 3, 2, ISSN: 2573-2196, s. 001-006.
- KALA, R., SAMKOVÁ, E., HANUŠ, O., PECOVÁ, L., SEKMOKAS, K., RIAUKIENĚ, D. (2019): Milk protein analysis: An overview of the methods – development and application. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67, 1, ISSN 1211-8516, s. 345-359.
- KALA, R., SAMKOVÁ, E., PECOVÁ, L., HANUŠ, O., SEKMOKAS, K., RIAUKIENĚ, D. (2018): An overview of determination of milk fat: development, quality control measures, and application. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 66, 4, ISSN 1211-8516, s. 1055-1064.
- KALOGIANNI, D. P. (2018): DNA-based analytical methods for milk authentication. *European Food Research and Technology*, 244, 5, s. 775-793.
- KRÁLÍČKOVÁ, Š., KUČTÍK, J., FLIPČÍK, R., LUŽOVÁ, T., ŠUSTOVÁ, K. (2013): Effect of chosen factors on milk yield, basic composition and somatic cell count of organic milk of Brown short-haired goats. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LXI, 1, s. 99-105.
- KUCHTÍK, J. a SEDLÁČKOVÁ, H. (2003): Composition and properties of milk in white short-haired goats on the third lactation. *Czech Journal of Animal Science*, 48, 12, s. 540-550.
- KUKAČKOVÁ, O., ČURDA, L., JINDŘICH, J. (2000): Multivariate calibration of raw cow milk using NIR spectroscopy. *Czech Journal of Food Sciences*, 18, 1, s. 1-4.
- KVAPILÍK, J., BUCEK, P., KUČERA, J. et al. (2019): Chov skotu v České republice. Ročenka 2018. ČMSCH a.s. Praha, s. 78.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., BARTOŇ, L., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2015): Mastitis of dairy cows and financial losses: an economic meta-analysis and model calculation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21, 5, ISSN 1310-0351, s. 1092-1105.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., ROUBAL, P., ŘÍHA, J., URBAN, P., JEDELSKÁ, R., SEYDLOVÁ, R., KLIMEŠOVÁ, M., KOPUNECZ, P. (2017): Somatic cells in bulk samples and purchase prices of cow milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65, 3, ISSN 1211-8516, s. 879-892.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., SYRŮČEK, J., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2014): The economic importance of the losses of cow milk due to mastitis: a meta-analysis. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, 6, ISSN 1310-0351, s. 1501-1515.
- KVAPILÍK, J., JEDELSKÁ, R., HANUŠ, O., URBAN, P., ŘÍHA, J., KOPUNECZ, P., SEYDLOVÁ, R., ROUBAL, P., ZLATNÍČEK, J., KLIMEŠ, M. (2016): Somatické buňky v mléce individuálních krav a vybrané ukazatele. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 27, 158, 5, ISSN 1212-950X, s. 5-12.
- MARTÍNEZ DE LA VARA, J. A., HIGUERA, A. G., ESTEBAN, M. R., ASENSIO, J. R., DELGADO, M. C., BERRUGA, I., MOLINA, A. (2018): Monitoring bulk milk quality by an integral traceability system of milk. *Journal of Applied Animal Research*, 46, 1, s. 784-790.
- MILLÁN-VERDÚ, C., GARRIGÓS-OLTRA, L., BLANES-NADAL, G., DOMINGO-BELTRÁN, M. (2003): The History of Optical Analysis of Milk: The Development and Use of Lactoscopes. *Journal of Chemical Education*, 80, 7, s. 762-767.
- MLCEK, J., DVORAK, L., SUSTOVA, K., SZWEDZIAK, K. (2016): Accuracy of the FT-NIR Method in Evaluating the Fat Content of Milk Using Calibration Models Developed for the Reference Methods According to Röse-Gottlieb and Gerber. *Journal of AOAC International*, 99, 5, s. 1305-1309.
- NICOLAOU, N., XU, Y., GOODACRE, R. (2010): Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species. *Journal of Dairy Science*, 93, 12, 5651-5660. doi: 10.3168/jds.2010-3619
- NOVOTNÁ, L., KUČTÍK, J., DOBEŠ, K., ŠUSTOVÁ, K., ZAJÍČKOVÁ, P. (2007): Effect of somatic cell count on ewe's milk composition, its properties and quality of rennet curdling. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LV, 2, s. 59-64.
- ORAVCOVÁ, M., MAHUČOVÁ, L., TANČIN, V. (2018): The relationship between somatic cells and milk traits, and their variation in dairy sheep breeds in Slovakia. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27, s. 97-104.
- POLITIS, I. a NG-KWAI-HANG, K. F. (1988 a): Effects of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheese making efficiency. *Journal of Dairy Science*, 71, 7, s. 1711-1719.
- POLITIS, I. a NG-KWAI-HANG, K. F. (1988 b): Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 71, 7, s. 1740-1746.
- PSATHAS, G. a TZAMALOUKAS, O. (2017): Novel analytical technologies of Quality in the Sheep and Goat Dairy Sector. *Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry*, 5, 2, ISSN: 2348-9790, s. 1-10. <http://www.annepublishers.com/articles/JVSAH/5205-Novel-analytical-technologies-of-Quality-in-the-Sheep-&-Goat-Dairy-Sector.pdf>
- SOJKOVÁ, K., HANUŠ, O., ŘÍHA, J., GENČUROVÁ, V., HULOVÁ, I., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2010 a): Impacts of lactation physiology at higher and average yield on composition, properties and health indicators of milk in Holstein breed. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 41, 1, ISSN 1211-3174, s. 21-28.
- SOJKOVÁ, K., HANUŠ, O., ŘÍHA, J., YONG, T., HULOVÁ, I., VYLETĚLOVÁ, M., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2010 b): A comparison of lactation physiology effects at high and lower yield on components, properties and health state indicators of milk in Czech Fleckvieh. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 41, 2, ISSN 1211-3174, s. 84-91.

- ŠUSTOVÁ, K. a KUČHTÍK, J. (2015): Využití enzymu laktátdehydrogenázy k zachycení mléka s vyšším počtem somatických buněk. In: *Jakost a zdravotní nezávadnost syrového mléka*. VFU Brno, ISBN 978-80-7305-764-0, s. 20-25.
- ŠUSTOVÁ, K., POLÁČKOVÁ, M., KUČHTÍK, J. (2015): Možnosti detekce mastitid měřením enzymatické aktivity. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 149, ISSN 1212-950X, s. I-VII.
- ŠUSTOVÁ, K., RŮŽIČKOVÁ, J., KUČHTÍK, J. (2007): Application of FT near spectroscopy for determination of true protein and casein in milk. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 9, s. 284-291.
- TSAKALI, E., AGKASTRA, C., KOLIAKI, C., LIVANIOS, D., BOUTRIS, G., CHRISTOPOULOU, M. I., KOULOURIS, S., KOUSSISSIS, M., VAN IMPE, J. F. M., HOUHOU, D. (2019): Milk Adulteration: Detection of Bovine Milk in Caprine Dairy Products by Real Time PCR. *Journal of Food Research*, 8, 4, ISSN 1927-0887, s. 52-57.
- TSENKOVA, R., ATANASSOVA, S., ITOH, K., OZAKI, Y., TOYODA, K. (2000): Near infrared spectroscopy for biomonitoring: Cow milk composition measurement in a spectral region from 1,100 to 2,400 nanometers. *Journal of Animal Science*, 78, s. 515-522.
- TSENKOVA, R., ATANASSOVA, S., TOYODA, K., OZAKI, Y., ITOH, K., FEARN, T. (1999): Near-infrared spectroscopy for dairy management: Measurement of unhomogenized milk composition. *Journal of Dairy Science*, 82, s. 2344-2351.
- ZACHAR, P., ŠOLTĚS, M., KASARDA, R., NOVOTNÝ, J., NOVIKMECOVÁ, M., MARCINČÁKOVÁ, D. (2011): Analytical methods for the species identification of milk and milk products. *Mlékarstvo*, 61, 3, s. 199-207.

**Korespondující autor:** Dr. Ing. Oto Hanuš,  
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke dvoru 12a,  
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

*Přijato do tisku: 5. 11. 2019  
Lektorováno: 27. 11. 2019*

## SBÍRKA MLÉKÁRENSKÝCH A PEKÁRENSKÝCH KONTAMINANTŮ - CCDBC

Zuzana Dlouhá<sup>1</sup>, Miloslava Kavková<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MILCOM a.s., Tábor

<sup>2</sup> Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Tábor

### Culture collection of dairy and bakery contaminants - CCDBC

#### Abstrakt

Sbírka mlékárenských a pekárenských kontaminantů (CCDBC) vznikla v roce 2019 s podporou Ministerstva zemědělství ČR jako součást Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství (NPGZ). Sbírka uchovává kmeny bakterií, kvasinek i vláknitých hub, které kontaminují mlékárenské a pekárenské produkty, ale vzhledem k jejich vlastnostem mají i potenciál pro využití v dalším výzkumu. Účelem tohoto příspěvku je představit CCDBC obecně a uvést bakteriál-

ní kmeny, vláknité houby a kvasinky, které byly zařazeny do sbírky v roce 2019. Jsou zde nastíněny způsoby jejich kultivace a uchovávání a plány, jakým způsobem se bude sbírka rozšiřovat v budoucnu.

**Klíčová slova:** uchovávání mikroorganismů, potravinářské kontaminanty, metody identifikace

#### Abstract

The Culture Collection of Dairy and Bakery Contaminants (CCDBC) was established in 2019 on request and support from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic in the Czech national program of conservation and utilization of plant, animal and microorganism genetic resources. The collection preserves strains of bacteria, yeasts, and molds, that represent important dairy and bakery contaminants. This article introduces the CCDBC in general and bacterial strains that were deposited in the collection during the year 2019 including means of their cultivation and storage.

**Key words:** storage of microorganisms, food contaminants, methods of identification

#### Úvod

V roce 2019 vznikla na žádost a za podpory MZE ČR a NPGZ Sbírka mlékárenských a pekárenských kontaminantů, která bude tyto kmeny kontaminantů dlouhodobě uchovávat a poskytovat zájemcům pro další vědecké účely. Smyslem této sbírky je deponovat bakteriální a fungální kontaminanty, především za účelem testování různých eliminačních metod a mikrobiálních interakcí vůči těmto kontaminantům, s cílem získat zdravé a bezpečné potraviny s minimálním množstvím nebo bez chemických konzervantů. Za mikrobiální kontaminant lze považovat technologicky nežádoucí a cizorodý mikroorganismus, jenž sensoricky a nutričně znehodnocuje výchozí produkt, znemožňuje jeho skladování a může s sebou nést i zdravotní rizika (alergeny, toxiny). Mikroorganismus, který je u definovaného výrobku považován za kontaminující a nežádoucí, nemusí být nutně nežádoucí kontaminant u všech potravin např. *Penicillium roqueforti* nebo *Rhizopus oryzae*. Mnohé jejich nežádoucí vlastnosti, jako například produkce sekundárních metabolitů a enzymatická aktivita, mohou být využitelné v jiných odvětvích. Některé kmeny kontaminantů (bakterie *Bacillus subtilis*, kvasinka *Trichosporon coremiiforme* a jiné) se například na našem pracovišti využívají v rámci projektových aktivit ke studiu antimikrobiálních interakcí a funkčních vlastností kmenů, zejména bakterií mléčného kvašení.

Do sbírky CCDBC bylo pro začátek vybráno celkem 20 bakterií – 16 bakterií izolovaných z různých druhů sýrů a 4 bakterie z mléka a mlékárenského prostředí (tabulka č. 1). Rovněž bylo deponováno 20 druhů plísní a 9 druhů kvasinek převážně ze sýrů a solných lázní. Každý kmen má své identifikační číslo a záznam v karto-