

- Jagielski, T., Bakula, Z., Gawor, J., Maciszewski, K., Kusber, W. H., Dyla, M., ... & Karnkowska, A. (2019). The genus *Prototheca* (*Trebouxiophyceae*, *Chlorophyta*) revisited: Implications from molecular taxonomic studies. *Algal Research*, 43, 101639.
- RAPUNTEAN, S., RAPUNTEAN, G., FIT, N. I., CUC, C., & NADAS, G. C. (1). Morphological and Cultural Characterization of some Strains of Unicellular Algae of the Genus *Prototheca* Sampled from Mastitic Cow Milk. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(1), 31-40. <https://doi.org/10.15835/nbha3713091>
- DUBRAVKA MILANOV1*, BOJANA PRUNIŠ1, MAJA VELHNER1, J. BOJKOVSKI Diagnosis of yeast mastitis in dairy cows. *LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE MEDICINĂ VETERINARĂ VOL. XLVII(1)*, 2014, TIMIȘOARA. https://www.researchgate.net/publication/264976829_DIAGNOSIS_OF_YEAST_MASTITIS_IN_DAIRY_COWS
- LASS-FLÖRL C. and MAYR A.: Human Protothecosis, *Clin Microbiol Rev*. 2007 Apr; 20(2): 230-242. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1865593/>
- PENGOV A. (2002), Prevalence of mycotic mastitis in cows, *Acta Veterinaria* (Beograd), Vol. 52. No. 2-3, 133-136., UDK 619:618.19-002:636.2
- BAUMGARTNER M, SPERGGER J., SCHODER G., WINTER P (2008): Ausbruch akuter Hefemastitiden in einem österreichischen Milchviehbetrieb nach kombinierter Antibiotika-Prednisolon-Behandlung, *Vet. Med. Austria / Wien. Tierärztl. Mschr.* 95, 15-21. <https://vetline.de/ausbruch-akuter-hefemastitiden-in-einem-oesterreichischen-milchviehbetrieb-nach-kombinierter-antibiotika-prednisolon-behandlung/150/3252/68135>
- TODD J.R. et al (2018), Medical mycology 2017, *Medical Mycology*, Volume 56, Issue suppl_1, 1 April 2018, Pages S188-S204, <https://doi.org/10.1093/mmy/mjx>

Korespondující autor: MVDr. Šimon Friedrich
Státní veterinární ústav Jihlava, Rantířovská 93/20, Horní
Kosov, 586 01 Jihlava, e-mail: friedrich@svujihlava.cz

Přijato do tisku: 14. 10. 2020

Lektorováno: 4. 11. 2020

ZMĚNY TECHNOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ MLÉKA MALÝCH PŘEŽVÝKAVCŮ V DŮSLEDKU FALŠOVÁNÍ MLÉKEM KRAVSKÝM

Oto Hanuš¹, Lucie Rysová², Irena Němečková¹,
Veronika Legarová², Josef Kučera³, Marcela Klimešová¹,
Radoslava Jedelská¹, Jaroslav Kopecký¹,
Ludmila Nejeschlebová¹

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

² Katedra kvality a bezpečnosti potravin,
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů,
Česká zemědělská univerzita v Praze

³ Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Hradištko

**Changes in the technological properties
of small ruminant milk as a result
of adulteration by cow milk**

Abstrakt

Rostoucí poptávka konzumentů po kozím (KOM) a ovčím mléku (OVM) a jeho výrazně vyšší cena v po-

rovnání s kravským mlékem (KRM) představují zásadní podněty k falšování. Proto jsou významné analytické metody pro identifikaci takového neetického jednání. V současnosti (projekt *MZe ZEMĚ QK 1920222*) jsou v této souvislosti studovány možnosti analytických metod MALDI-TOF a nukleární magnetické rezonance (NMR). Relevantní výzkum poukazuje na identifikační potenciál těchto metod ve smyslu prevence zhoršování kvality potravinového řetězce a podpory ochrany zdraví konzumentů. Uvedeným postupem falšování mohou být, podle intenzity faktoru, ovlivněny nejen nutriční, ale i technologické vlastnosti mléčné suroviny. Bylo vzorkováno 6, 5 a 6 stád koz, ovcí a krav dvakrát v roce (květen a srpen). Plemenná struktura stád zvířat odpovídala podmínkám ČR. Do experimentu bylo zařazeno celkově 24 bazénových vzorků mléka pro každý druh. Následně bylo kozí a ovčí mléko záměrně narušeno kravským mlékem v poměrech 0,5, 1, 5 a 10 % a ošetřeno vysokou pasterací. Vedle složek a hygienických vlastností byly stanoveny i technologické vlastnosti mléka: aktivní kyselost (pH); titrační kyselost (SH); čas enzymatické koagulace laktoproteinů (ČK); pevnost syřeniny (PS); kvalita syřeniny (KS); objem vypuzené syrovátky po synerézi (OS); kysací schopnost mléka (KSM); počet streptokoků po fermentaci (STR); počet laktobacilů po fermentaci (LAC). Analyzováno bylo nativní i porušené mléko. Technologické vlastnosti byly testovány u kozího a ovčího mléka při porušení 5 a 10 % KRM. Mezdruhové rozdíly nebyly výrazné pro geometrické průměry (xg) celkového počtu mikroorganismů 53, 77 a 148 tisíc KTJ/ml pro KRM, KOM a OVM. Tyto výsledky naznačily srovnatelné hygienické situace při dojení ve stádech. Tyto rozdíly byly nevýznamné ($P > 0,05$) mezi malými přežvýkavci a převážně významné mezi malými přežvýkavci a KRM ($P > 0,05$ až $P \leq 0,001$). Mezdruhové diference u počtu somatických buněk (xg; 152, 1001 a 729 tisíc/ml) byly opět nevýznamné ($P > 0,05$) mezi malými přežvýkavci a významné mezi malými přežvýkavci a KRM ($P \leq 0,001$). Pro obsah tuku a bílkovin nebyly významné rozdíly mezi kozou a krávou ($P > 0,05$), ale byly vždy významné pro rozdíly u OVM ($P \leq 0,001$). Obsah laktózy malých přežvýkavců je vždy nižší (KRM 5,05, KOM 4,62 a OVM 4,74 %). Výrazné rozdíly byly u obsahu močoviny, která se zvyšovala v pořadí KRM, KOM a OVM ($P \leq 0,001$) 34,57, 64,39 a 96,11 mg/100ml. To zřejmě odpovídá specifické druhové fyziologii metabolismu zvířat. U falšování KOM (10 % KRM) byl významný ($P \leq 0,05$) vliv na SH: z 5,97 na 6,14 °SH (v důsledku vyššího obsahu bílkovin u KRM, které jsou zdrojem (kasein) cca 2/5 SH mléka. U falšování OVM (10 % KRM) byl významný vliv na: SH z 10,15 na 9,91 °SH ($P \leq 0,001$); KS ($P \leq 0,05$); KSM z 50,43 na 48,39 °SH ($P \leq 0,001$). Falšování do 10 % mění technologické vlastnosti mléka malých přežvýkavců jen omezeně. Za druhově nejvýraznější, statisticky významné rozdíly v technologických vlastnostech mléka lze považovat diference pro SH (KOM

5,97, OVM 10,15 a KRM 7 °SH) z důvodů složkových odlišností, pro ČK (KOM 98,1, OVM 160,4 a KRM 487 a 456 vteřin) a pro KSM (KOM 33,37, OVM 50,43 a KRM 30,84 a 32,58 °SH).

Klíčová slova: falšování, kozí mléko, ovčí mléko, kravské mléko, složení mléka, technologické vlastnosti

Abstract

The growing consumer demand for goat milk (KOM) and sheep milk (OVM) and its significantly higher price as compared to cow milk (KRM) are fundamental stimuli for adulteration. Therefore, analytical methods for identifying such unethical behavior are important. Currently (project *MZe ZEMĚ QK 1920222*), the possibilities of analytical methods such as MALDI-TOF and nuclear magnetic resonance (NMR) are being studied in this context. Relevant research points to the identifying potential of these methods in terms of preventing the deterioration of the quality of the food chain and promoting consumer health protection. Depending on the intensity of this factor, the above-mentioned adulteration process may be affected not only by the nutritional but also by the technological properties of the raw milk. 6 and 5 flocks and 6 herds of goats, sheep and cows were sampled twice a year (May and August). The breeding structure of the animal herds and flocks corresponded to the conditions of the Czech Republic. A total of 24 bulk tank milk samples for each species were included in the experiment. Subsequently, goat and sheep milk was intentionally adulterated with cow milk in ratios of 0.5, 1, 5 and 10% and treated with high pasteurization. In addition to components and hygienic properties, the technological properties of milk were also determined: active acidity (pH); titration acidity (SH); rennet coagulation time for lactoproteins (ČK); curd fitness (PS); curd quality (KS); volume of whey expelled after syneresis (OS); milk fermentation ability (KSM); number of streptococci after fermentation (STR); number of lactobacilli after fermentation (LAC). Both native and adulterated milk samples were analyzed. Technological properties were tested in goat and sheep milk at 5 and 10% adulteration by KRM. Interspecies differences were insignificant for geometric means (xg) of the total count of microorganisms 53, 77 and 148 thousands CFU/ml for KRM, KOM and OVM. These results indicated comparable hygienic situations during milking in herds and flocks. These differences were insignificant ($P > 0.05$) between small ruminants and predominantly significant between small ruminants and KRM (from $P > 0.05$ to $P \leq 0.001$). Cross-species differences in somatic cell counts (xg; 152, 1001 and 729 thousand/ml) were again insignificant ($P > 0.05$) between small ruminants and significant between small ruminants and KRM ($P \leq 0.001$). For fat and protein content, there were insignificant differences between goat and cow ($P > 0.05$), but they were always significant for differences in OVM ($P \leq 0.001$). The lactose content of small ruminants is

always lower (KRM 5.05, KOM 4.62 and OVM 4.74%). There were significant differences in urea concentrations, which increased in the order of KRM, KOM and OVM ($P \leq 0.001$), 34.57, 64.39 and 96.11 mg/100 ml. This seems to correspond to the specific species physiology of animal metabolism. The KOM adulteration (10% KRM) had a significant ($P \leq 0.05$) effect on SH: from 5.97 to 6.14 °SH (due to higher protein content in KRM, which is a source (casein) of about 2/5 milk SH). The OVM adulteration (10% KRM) had a significant effect on: SH from 10.15 to 9.91 °SH ($P \leq 0.001$); KS ($P \leq 0.05$); KSM from 50.43 to 48.39 °SH ($P \leq 0.001$). Adulteration up to 10% changes the technological properties of the milk of small ruminants only to a limited extent. Differences for SH (KOM 5.97, OVM 10.15 and KRM 7 °SH) can be considered to be the most important, statistically significant changes in the technological properties of milk due to component differences, similarly as for ČK (KOM 98.1, OVM 160.4 and KRM 487 and 456 seconds) and for KSM (KOM 33.37, OVM 50.43 and KRM 30.84 and 32.58 °SH).

Keywords: adulteration, goat milk, sheep milk, cow milk, milk composition, technological properties

Význam a možné vlivy falšování mléčné suroviny a případné detekční metody

Výrazně rozdílné ceny mléka mez malými přežvýkavci a dojnícemi (skot) mohou být obecným faktorem pokusů o falšování mléka koz a ovcí mlékem kravským. Proto je významný vývoj optimální analytické metody pro identifikaci takového neetického jednání. V současnosti jsou v této souvislosti studovány možnosti metod MALDI-TOF a nukleární magnetická rezonance (NMR). Relevantní výzkum poukazuje na identifikační potenciál těchto metod ve smyslu prevence zhoršování kvality potravinového řetězce a podpory ochrany zdraví konzumentů (HANUŠ et al., 2015, 2016, 2019).

Mléka malých přežvýkavců jsou z hlediska domestikace pravděpodobně prvními kaseinovými mléky, která byla v neolitickém zemědělství systematicky využita v lidské výživě, jak dosvědčují četné archeologické nálezy z Catal Hüyük (Turecko) a Levanty (Sýrie) z oblasti úrodného púlměsíce. K uvedení došlo cca před 10 tisíci lety. Tato mléka jsou významnou potravinou i dnes pro svůj obsah lehce stravitelných základních majoritních složek (tuk, bílkoviny) a zejména své nízké alergenní účinky v lidské výživě (zejména kozí mléko).

Zákony trestající falšování potravin na trhu jsou známé již z Chammurapiho zákoníku (1792 – 1750 př. n. l., období Starobabylonské říše). Falšování potravin je proto logicky postizitelné i dnes. Falšování mléka v kontextu nedávné historie komentují KADEČKA a ROZMAN (2006). Falšování je tedy 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 v potravinářství zejména kvalitativní hlediska produkce a konzumenta ve smyslu výživy. Z uvedených důvodů jsou proto důležité metody pro detekci falšování levnějším mlékem, neboť autenticita potravinového produktu je významnou tržní charakteristikou (KALOGIANNI, 2018).

Bezpečnost a kvalita 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). Sledování a vyhodnocování kvality syrového mléka pomáhá plnit důležitou společenskou zakázku (BAUMGARTNER et al., 2000). Odhalování možného falšování je významným postupem kontroly kvality (PSATHAS a TZAMALOUKAS, 2017).

Popisem, vývojem a hodnocením čítných analytických metod kontroly falšování mléka se zabývaly četné práce s obvyklým výsledkem spolehlivosti kolem 5 až 10 % (v určitých případech i nižší) přidavku cizorodého mléka (LEVIEUX a VENIEN, (1994) 2009; BORKOVÁ a SNÁŠELOVÁ, 2005; NICOLAOU et al., 2010; ZACHAR et al., 2011; SANTOS et al., 2013; DVORAK et al., 2016; DI PINTO et al., 2017; CIRAK et al., 2018; KALOGIANNI, 2018; TSAKALI et al., 2019; JAMNIK et al., 2019). Nejčastěji se jednalo o postupy založené na analýze DNA, z nichž byla nejvíce užívána metoda PCR techniky, taktéž imunologická metoda ELISA nebo infračervená spektroskopie v blízké (NIR) nebo celé středové oblasti IR záření se záznamem spektra Michelsonovým interferometrem a Fourierovou transformací při vyhodnocení získaného signálu (MIR-FT). Tyto limity ovšem, v podstatě, docela stačí pro praktickou detekci falšování, neboť použití nižšího stupně porušení již nepřináší žádný podstatný ekonomický efekt z této případně neetické činnosti. Nicméně, spíše z oficiálních důvodů kontroly kvality, by bylo potřebné získat metodickou věrohodnost i v nižších oblastech porušení mléka. Proto je třeba nalézt metodicky i nižší hladiny rozlišení a kvantifikace.

Uvedeným postupem falšování mohou být však, podle intenzity faktoru, ovlivněny nejen nutriční, ale i technologické vlastnosti mléčné suroviny, což může mít význam při faremním nebo průmyslovém zpracování mléka. Proto cílem příspěvku bylo analyzovat možné vlivy falšování mléka malých přežvýkavců mlékem kravským, za kontrolované hladiny faktoru, na variabilitu významných technologických vlastností jako informaci pro odbornou komunitu.

Materiál a metody

Pokusné podmínky

Byly vybrány vhodné farmy malých přežvýkavců a krav, které reprezentovaly typické podmínky České republiky, pokud jde o chovné prostředí, systém chovu, plemennou skladbu stád zvířat a výši produkce mléka

(detaily v předchozí práci HANUŠ et al., 2019). Vzorkování (4 krát ročně) mléka zohledňovalo jednak průběh mléčné sezóny v závislosti na sezónnosti reprodukčního cyklu a termíny odstavu mláďat u malých přežvýkavců, dále fyziologický fakt změny složení mléka s laktací a také skutečnost poklesu dojivosti koncem léta u malých přežvýkavců (HERING et al., 2005; BUCEK et al., 2018; KVAPILÍK et al., 2019). Bylo vzorkováno 6, 5 a 6 stád koz, ovcí a krav. Použity byly bazénové vzorky mléka. Plemenný poměr, stanovený pro použité experimentální vzorky mléka, činil: - pro kozy = 59 % Bílá krátkosrstá koza, 29 % Hnědá krátkosrstá koza, 12 % Anglonúbijská koza; - pro ovce = 70 % Lacaune, 20 % Cighája, 10 % Východofříská ovce; - pro krávy = 83 % Holštýn a 17 % České strakaté. Celkem bylo čtyřikrát opakovaně ve sledování zahrnuto cca 750, 290 a 350 zvířat (krávy, kozy a ovce).

Model porušení mléčné suroviny a její ošetření

Byl navržen model porušování mléčné suroviny, který následuje v Tab. 1. Tato škála koncentrací byla zvolena s ohledem na potřebu hledat spolehlivý detekovatelný limit falšování spíše v nižších hodnotách z titulu ochrany zájmů spotřebitele.

Tab. 1 Poměry kravského a kozího/ovčího mléka při falšování – základní škála pro vývoj metod detekce falšování (podle HANUŠ et al., 2019). Tato škála koncentrací byla zvolena s ohledem na potřebu hledat spolehlivý detekovatelný limit falšování spíše v nižších položkách z titulu ochrany zájmů spotřebitele.

	Kravské (%)	objem (ml)	Kozí/Ovčí (%)	objem (ml)
1	0	0	100	250
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	0	0

V České republice musí být veškeré konzumní mléko k lidské spotřebě pasterováno. V daném případě byla zvolena vysoká pasterace. 250 ml každého vzorku mléka bylo pasterováno vsádkovým způsobem ve vodní lázni k dosažení 72 °C během 20 minut a pak bylo mléko chlazené na 25 °C za 12 minut k další manipulaci. Kombinace času a teploty, aby odpovídala technickým možnostem, je náročnější než uvádějí PLOCKOVÁ a HORÁČKOVÁ (2019; 72 °C / 15 sekund, HTST, high temperature short time, pro konzumní mléko). Nepředpokládá se, že by uvedený rozdíl v kombinaci (teplota/čas) měl mít podstatný metodický vliv na výsledky analýz mléka, nebo použité metody indikace falšování. Předpokládá se, že vysoká pasterace zhorší hodnoty technologických ukazatelů, zejména syřitelnosti (HANUŠ et al., 1995). Naopak je pasterace při posuzování kysací schopnosti mléka regulérní součástí kontrolního postupu (85 °C s výdrží 5 minut; ČSN EN ISO 1211 (ON 57 0534)).

Analytické a statistické metody

Pro kontrolu složení původního a vybraných vzorků falšovaného mléka byly použity běžné, vybrané, mlékařské, analytické metody stanovení kvality, složení mléka a jeho vlastností, zejména technologických. Seznam stanovovaných mléčných ukazatelů s vysvětlivkami použitých zkratk a metodickými poznámkami je uveden jednak pod Tab. 2, a také byl publikován s metodickými, prováděcími detaily v dřívější práci HANUŠ et al. (2011). Tam jsou uvedeny v seznamu také související standardy k provedení relevantních metodických postupů, zejména u technologických vlastností mléka. Vzorky původního kozího, ovčího a kravského mléka byly analyzovány k určení jejich základního složení a vlastností, aby byla popsána základní mléčná matrice, na jejímž pozadí byla prováděna identifikace porušení kozího mléka kravským mlékem.

Pro stanovení celkového počtu mezofilních mikroorganismů (CPM) byla použita klasická plotnová metoda podle ČSN ISO EN 4833-1 (2014). Vzorek mléka (jeho příslušné ředění) byl inokulován na Petriho misku o objemu 1 ml a zalit agarem. Pro kultivaci byl použit GTKM agar (Milcom, Tábor) a kultivace proběhla při 30 °C po dobu 72 hodin. Počet kolonií byl vyjádřen jako KTJ v 1 ml vzorkovaného mléka podle normy ČSN EN ISO 7218 (2008).

Počet somatických buněk (PSB) byl stanoven fluoro-opto-elektronickou metodou průtokové cytometrie na zařízení Somacount 300 (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA). Přístroj byl pravidelně kalibrován podle výsledků referenční metody a kontrolován referenčními vzorky. Rozšířená kombinovaná výsledková nejistota (na hladině pravděpodobnosti 95 %) $\pm 9,3$ % pro PSB $<900 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$. Při kalibrační a kontrolní činnosti bylo postupováno v rámci norem: ČSN EN ISO/IEC 17025; ČSN EN ISO 13366-1 (57 0531); ČSN EN ISO 13366-2 (57 0531).

Složení mléka (obsah tuku, hrubých bílkovin, kaseinu, monohydrátu laktózy, celkové sušiny, tukuprosté sušiny a močoviny) bylo stanoveno nepřímou metodou infračervené spektroskopie MIR-FT (s Michelsonovým interferometrem a Fourierovou transformací) na přístroji Bentley DairySpec (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA). Přístroj byl pravidelně kalibrován (na kravské mléko měsíčně, na kozí a ovčí mléko po dvou měsících) podle výsledků relevantních referenčních metod. Výsledky analýz byly pravidelně kontrolovány prostřednictvím testů výkonnosti analytické způsobilosti. Rozšířené kombinované nejistoty základních výsledků (na hladině pravděpodobnosti 95 %) byly: $\pm 2,77$ % pro tuk ($\pm 0,101$ % pro původní jednotky g/100 ml); $\pm 2,59$ % pro hrubé (obsah celkového dusíku $\times 6,38$) bílkoviny ($\pm 0,085$ %); $\pm 2,77$ % pro monohydrát laktózy ($\pm 0,115$ %). Při kalibrační a kontrolní činnosti bylo postupováno v rámci norem: ČSN EN ISO/IEC 17025; ČSN 57 0536; ČSN 57 0530; ČSN ISO 8196-2 (570536); ČSN ISO 8196-1 (570536); ČSN ISO 8196-3 (570536).

Aktivní kyselost mléka (pH) byla měřena použitím pH-metru 1100L (VWR pHEnomenal pH, Darmstadt, Germany), který byl pravidelně před každým měřením sady vzorků kalibrován na roztoky standardních pufrů (pH 4,0 a 7,0) při 20 °C. Titrační kyselost (SH) mléka byla měřena prostřednictvím titrace 100 ml mléka (Soxhlet-Henkel) za použití alkalického roztoku NaOH 0,25 N v prostředí indikátoru (fenolftalein) podle normy ČSN 57 0530 (ve °SH = ml $\times 2,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$).

Kysací schopnost (KSM) mléka (jogurtový test) byla stanovena formou titrační kyselosti (Soxhlet-Henkel (°SH)) za použití alkalického roztoku NaOH 0,25 N (M) v prostředí indikátoru (fenolftalein) podle ČSN EN ISO 1211 (ON 57 0534). Test byl proveden s termofilní jogurtovou kulturou YC-180, 50U (Chr. Hansen, Denmark), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, navážka 0,24 g, 150 ml pasterované mléko, teplota 43 °C, míchání 15 min., 2 ml do každého vzorku o 25 ml, čas inkubace 3,5 hodiny při 43 °C.

Sýřitelnost mléka, jako čas koagulace (ČK) laktoproteinů (vteřin, do vytvoření viditelných vloček bílkovin), byla stanovena s přidavkem bakteriálního (*Rhizomucor Miehei*) sýřicího enzymu Fromáza (Fromase® 220 TL BF, Royal DSM, Heerlen, Netherlands; www.tomscheese.cz) v 50 ml mléka při 32 °C ve vodní lázni. Čas byl adjustován empiricky na přibližně 5 minut působení. Po hodině syneréze byl zaznamenán objem vypuzené syrovátky (OS; ml) a byla kontrolována kvalita sýřeniny (KS; podle empirické škály, aspekci a palpací; 1 = výborná až 4 = špatná) a pevnost vytvořeného koláče sýřeniny (PS; propadem vhozeného tělíška za standardizovaných podmínek v cm (čím menší hodnota, tím lepší kvalita (vyšší pevnost)).

Následně byly 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). Mikrobiologická a hygienická data s obvykle chybějící normální frekvenční distribucí dat, jako jsou hodnoty CPM, PSB a mikroorganismy jogurtové kultury, byla logaritmičtě transformována (log₁₀) pro obdržení přibližně normální frekvenční distribuce (JANŮ et al., 2007 a) a rovněž pro výpočty geometrických (xg) průměrů. Pro testování rozdílů v průměrných hodnotách mléčných ukazatelů a platnosti nulových hypotéz byl použit párový (falšování KOM a OVM) a nepárový (druhy mléka, KOM, OVM a KRM) klasický t-test (MS Excel, Microsoft, Redmond, Washington, USA).

Výsledky a diskuse

Základní složky a vlastnosti původního kozího, ovčího a kravského mléka byly shrnuty v předchozí práci HANUŠ et al. (2019). V Tab. 2 jsou uvedeny zkráceně nejdůležitější statistické parametry sledovaných mléčných ukazatelů. Bylo konstatováno, že mlé-

Tab. 2 Základní statistické parametry sledovaných mléčných ukazatelů čistého kozího, ovčího a kravského mléka

Ukazatel	CPM	log CPM	PSB	log PSB	T	HB	L	STP	SC	M	pH	SH	ČK	KSM
jednotka	tisíc KTJ/ml	-	tisíc/ml	-	g/100 ml	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g	mg/100 ml	-	°SH	s	°SH
KRM														
n	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	5,05	9,02	13,17	34,57	6,65	7,0	487	30,84
xg	13		152											
sx	123	0,7086	247	0,3929	0,931	0,215	0,08	0,23	0,93	7,6	0,033	1,05	54,0	3,24
KOM														
n	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	4,62	8,55	12,27	64,39	6,59	5,97	98	33,37
xg	77		1 001											
sx	2 296	0,8355	984	0,3748	0,734	0,273	0,178	0,35	0,88	19,55	0,09	1,38	78	5,82
OVM														
n	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	4,74	11,63	18,34	96,11	6,59	10,15	160	50,43
xg	148		729											
sx	841	0,6217	699	0,3654	1,029	0,533	0,282	0,4	1,239	18,79	0,063	1,69	73	4,39
I, t	1,49	3,42	5,38	7,23	1,7	1,66	10,57	5,38	3,37	6,82	-	-	-	-
P	ns	**	***	***	ns	ns	***	***	**	***	-	-	-	-
II, t	2,08	5,43	4,86	6,08	8,5	21,78	5,07	27,13	16	14,56	-	-	-	-
P	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	-	-	-	-
III, t	0,68	1,32	1,54	1,26	10,93	21,86	1,73	27,79	19,16	5,61	-	-	-	-
P	ns	ns	ns	ns	***	***	ns	***	***	***	-	-	-	-

KRM = kravské mléko; KOM = kozí mléko; OVM = ovčí mléko; CPM = celkový počet mezofilních mikroorganismů; KTJ = kolonii tvořící jednotka; PSB = počet somatických buněk; T = obsah tuku; HB = obsah hrubých bílkovin; L = obsah monohydrátu laktózy; STP obsah sušiny tukuprosté; SC = obsah sušiny celkové; M = koncentrace močoviny; pH = aktivní kyselost; SH = titrační kyselost v ml spotřeby 0,25 N (M) roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela); ČK = syřitelnost jako čas koagulace mléka syřidlem v sekundách (s); KSM = kysací schopnost mléka jako kyselost SH (spotřeba 0,25 N (M) v ml roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela)); n = počet případů (vzorků); x = aritmetický průměr; xg = geometrický průměr; sx = směrodatná odchylka. Nepárový t-test (hodnota t) pro rozdíly mezi kozím, ovčím a kravským mlékem (100 %), pravděpodobnost nulové hypotézy (P): P > 0,05 = ns (nevýznamné); P ≤ 0,05 = * (významné); P ≤ 0,01 = **; P ≤ 0,001 = ***. I = KOM – KRM, t; II = OVM – KRM, t; III = KOM – OVM, t.

ka jednotlivých druhů lze mít za typická (zejména pro PSB a složkové ukazatele) pro podmínky ČR, obdobné výsledky jsou publikovány i v následujících publikacích (GAJDŮŠEK et al. 1996; KUČTÍK a SEDLÁČKOVÁ, 2003; HANUŠ et al., 2007, 2008, 2009; JANŮ et al., 2007 a, b; NOVOTNÁ et al., 2007; GENČUROVÁ et al., 2008; SOJKOVÁ et al., 2010 a, b; KRÁLÍČKOVÁ et al., 2013; BUCEK et al., 2018; ORAVCOVÁ et al., 2018; KVAPILÍK et al., 2019), lze je tedy považovat za vhodný materiál pro vývoj metody identifikace falšování mléka malých přežvýkavců příměsí druhově cizího mléka (např. na bázi MALDI-TOF a NMR).

Nebyly zaznamenány (Tab. 2) příliš výrazné rozdíly v xg pro CPM (53, 77 a 148 tisíc CFU/ml, kráva, koza a ovce), což svědčí o srovnatelné hygienické situaci při dojení v chovech, jakkoliv rozdíly mezi aritmetickými průměry CPM byly logicky výraznější. Tyto rozdíly byly nevýznamné (P > 0,05) mezi malými přežvýkavci a převážně významné mezi malými přežvýkavci a KRM (P > 0,05 až P ≤ 0,001). Mezdruhové diference, pokud se jedná o PSB v xg (Tab. 2; 152, 1001 a 729 tisíc/ml, kráva, koza a ovce), pak odpovídají charakteristikám u nás chovaných domácích přežvýkavců na mléko, podle výsledků shora zmíněných literárních pramenů, a vedle hygienických podmínek chovů těchto hospodářských zvířat jsou zčásti závislé i na jejich genetickém základu a tím na jejich typických fyziologických ukazatelích. Přičemž opět

tyto rozdíly byly nevýznamné (P > 0,05) mezi malými přežvýkavci a významné mezi malými přežvýkavci a KRM (P ≤ 0,001).

Ostatní složkové rozdíly (Tab. 2) jsou známé z výše uvedené literatury a pro tuk a bílkoviny nebyly významně rozdílné mezi kozou a krávou (P > 0,05), ale byly vždy významné pro rozdíly u OVM (P ≤ 0,001). Mezdruhové rozdíly v obsahu laktózy, sušiny tukuprosté a celkové byly vždy významné (P ≤ 0,01 až P ≤ 0,001) s výjimkou rozdílu KOM – OVM u laktózy (P > 0,05), kde obsah laktózy malých přežvýkavců je vždy výrazně nižší (KRM 5,05, KOM 4,62 a OVM 4,74 %), což trendově odpovídá dřívějším výsledkům (GENČUROVÁ et al., 2008). Výrazné mezdruhové rozdíly jsou prezentovány u koncentrace močoviny v mléce, která roste v pořadí KRM, KOM a OVM (P ≤ 0,001; Tab. 2; Obr. 1) 34,57, 64,39 a 96,11 mg/100ml, což jsou výrazné nárůsty, zřejmě odpovídající specifické druhové fyziologii metabolismu zvířat a jsou rovněž trendově v souladu s předchozími nálezy (GENČUROVÁ et al., 2008).

Výsledky složení (T, HB, L, STP, SC, U) falšovaných vzorků, stejně jako mikrobiologických a hygienických ukazatelů (PSB a CPM), lze pro tyto vzorky kalkulovat z výchozích hodnot původního mléka při znalosti % klíče porušení (Tab. 1). Dále je zřejmé, že mlékařská analytická technika disponuje obvykle specifickými druhovými kalibracemi pro kravské, kozí a ovčí mléko, nicméně,

Tab. 3 Modelová demonstrace změn průměrných hodnot mléčných ukazatelů podle falšovací škály v Tab. 1

Mléko	% falšování	Mléčné ukazatele							
		CPM	PSB	T	HB	L	STP	SC	M
		tisíc KTJ/ml	tisíc/ml	g/100 ml	g/100 g	g/100 g	g/100g	g/100 g	mg/100 ml
Koza	100	766	1 361	3,83	3,12	4,62	8,55	12,27	64,39
	99,5	762	1 355	3,83	3,12	4,62	8,55	12,27	64,24
	99	759	1 350	3,83	3,12	4,62	8,55	12,28	64,09
	95	730	1 304	3,85	3,13	4,64	8,57	12,32	62,9
	90	695	1 247	3,87	3,15	4,66	8,6	12,36	61,41
Kráva	0	53	223	4,25	3,39	5,05	9,02	13,17	34,57
Ovce	100	421	974	6,71	6,0	4,74	11,63	18,34	96,11
	99,5	419	970	9,7	5,99	4,74	11,62	18,31	95,8
	99	417	966	6,69	5,97	4,74	11,6	18,29	95,49
	95	403	936	6,59	5,87	4,76	11,5	18,08	93,0
	90	384	899	6,46	5,74	4,77	11,37	17,82	89,96
Kráva	0	53	223	4,25	3,39	5,05	9,02	13,17	34,57

Tab. 4 Změny technologických vlastností kozího mléka v důsledku porušení mlékem kravským v koncentraci 5 a 10 % (n = 24, koza, kráva)

Parametr	Ukazatel										
	pH	SH	ČK	PS	KS	OS	KSM	STR	log STR	LAC	log LAC
KOM 100											
x	6,59	5,97	98,1	1,87	3,33	32	33,37	661 666 667	8,7205	79 750 000	7,8162
xg								525 412 015		65 493 771	
sx	0,088	1,375	78	0,075	0,868	5,82	5,819	480 250 538	0,3425	61 133 674	0,2584
vx (%)	1,3	23	79,5	4	26,1	18,2	17,4	72,6		76,7	
m	6,58	5,67	74	1,9	4	33,5	34,45	545 000 000	8,7364	60 000 000	7,7782
KOM 95 KRM 5											
x	6,6	5,99	80	1,86	3,17	33	34,3	732 500 000	8,7976	78 583 333	7,804
xg								627 480 162		63 679 552	
sx	0,079	1,346	32,2	0,077	0,816	5	6,033	317 274 398	0,3112	53 343 772	0,2943
vx (%)	1,2	22,5	40,3	4,1	25,7	15,2	17,6	43,3		67,9	
m	6,6	5,66	69,5	1,9	3	35	35,44	760 000 000	8,8808	65 500 000	7,8159
KOM 90 KRM 10											
x	6,59	6,14	87,7	1,88	3,29	32,9	34,31	827 500 000	8,8384	88 500 000	7,8509
xg								689 286 861		70 941 440	
sx	0,075	1,287	36,2	0,068	0,751	5,24	6,092	447 293 795	0,3243	72 319 941	0,277
vx (%)	1,1	21	41,2	3,6	22,8	15,9	17,8	54,1		81,7	
m	6,59	5,98	77,5	1,9	3	33,5	35,74	700 000 000	8,8449	68 500 000	7,8351
KRM 100											
x	6,65	7	487	1,9	3,46	17,8	30,84	741 666 667	8,8421	73 708 333	7,809
xg								695 184 371		64 416 927	
sx	0,033	1,05	54	0,042	0,779	11,4	3,238	257 169 656	0,1693	42 924 078	0,2231
vx (%)	0,5	15	11,1	2,2	22,5	64,1	10,5	34,7		58,2	
m	6,65	7,04	492,5	1,9	4	17	29,61	690 000 000	8,8388	65 000 000	7,8129
l; t	2,18	0,28	1,65	1,17	1,69	1,54	1,92	0,66	1,22	0,15	0,28
P	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ll; t	0	2,54	0,92	0	0,31	1,59	1,5	1,34	1,93	0,57	0,6
P	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

KOM = kozí mléko; KRM = kravské mléko. pH = aktivní kyselost; SH = titrační kyselost v ml spotřeby 0,25 N (M) roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela ("SH")); ČK = syřitelnost jako čas koagulace mléka syřidlem v sekundách (s); PS = pevnost syřeniny v cm (čím menší hodnota, tím lepší kvalita (vyšší pevnost)); KS = kvalita syřeniny (1 = výborná až 4 = špatná); OS = objem syrovátky po synerézi v ml; KSM = kysací schopnost mléka jako kyselost SH (spotřeba 0,25 N (M) roztoku NaOH v ml (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela ("SH"))); STR = počet streptokoků po kultivaci KSM jako KTJ; KTJ = kolonii tvořící jednotka; LAC = počet laktobacilů po kultivaci KSM jako KTJ. x = aritmetický průměr; xg = geometrický průměr; sx = směrodatná odchylka; vx = variační koeficient (%); m = medián. Párový t-test (hodnota t) pro rozdíl mezi kozím mlékem (100 %) a falšovaným kozím mlékem z 5 % a 10 % kravským mlékem (I = KOM 100 – (KOM 95 a KRM 5); II = KOM 100 – (KOM 90 a KRM 10)), pravděpodobnost nulové hypotézy (P; vliv falšovacího faktoru), P > 0,05 = ns (nevýznamné), P ≤ 0,05 = * (významné), P ≤ 0,01 = **, P ≤ 0,001 = ***.

nikoliv pro jejich směsné poměry. Jednoduché měření porušených vzorků by proto bylo zatíženo určitými (vzhledem ke změnám v ředění ve škále v Tab. 1 také ne-

konstantními) chybami z neodpovídající kalibrace. Proto je relevantní metodou jejich kalkulace. Výsledky získané kalkulací jsou tak jasné, logicky předem dané a netřeba

je nijak složitěji konfrontovat. Pro názornou představu jsou tyto hodnoty demonstrovány v Tab. 3. Změny průměrných hodnot mléčných ukazatelů, způsobené simulací falšování (Tab. 1) mléka malých přežvýkavců mlékem kravským, byly tedy u všech ukazatelů relativně stejné, ale absolutně, z mlékařského hlediska (praktické indikační hodnoty), minimální (T, HB, L, STP, SC a M) podél celé procentní škály ředění, vyjma ukazatelů mikrobiologických a hygienických (CPM, PSB), které jsou z absolutního pohledu zřetelnější. Tato interpretace je však spíše kvalifikovaným odhadem.

Nicméně, u technologických vlastností si takto jednoduše z principiálních důvodů (interních složkových a strukturálních molekulových relací a složitějších reciprokých interakcí a interferencí v multikomponentním médiu, jako je mléko), počínat nelze. Lze tak usuzovat podle faktů a výsledků shrnutých v pracích GAJDŮŠEK (1989) a ALBENZIO a SANTILLO (2011), především ohledně složkových a biochemických faktorů ovlivňujících syřitelnost mléka kravského, kozího i ovčího. Technologické vlastnosti byly proto u vybraných koncentrací (u malých koncentrací nebyl předpokládán významný vliv) porušení ovčího a kozího

mléka (95 a 90 %) kravským (5 a 10 %) stanoveny přímo, analyticky a výsledky byly porovnány k původnímu mléku. Také byly porovnány technologické vlastnosti mezi čistými mléky (koza/kráva, ovce/kráva). Lze zmínit, že o přímých mezidruhových rozdílech v technologických vlastnostech mléka, prováděných stejným metodickým postupem, je v literatuře, dle našich zkušeností, minimum zmínek. Některé jsou uvedeny v pracích RAYNAL-LJUTOVAC et al. (2007; ohledně tepelné stability laktoproteinů) nebo GENČUROVÁ et al. (2008; ohledně syřařských vlastností, titrační kyselosti a alkoholové stability mléka).

Jakkoliv se metodicky hledá, z oficiálně-administrativních důvodů, co nejnižší, spolehlivý, analytický limit pro identifikaci porušení mléka malých přežvýkavců, je přesto zřejmé, že ekonomickou motivaci (a profit), která je zřejmě prakticky rozhodující, může mít jen falšování až od vyšších hodnot porušení, cca 10 % a více. Proto model testu změny technologických vlastností mléka až od 5 % falšování (s absencí výsledků pro 0,5 a 1 %; Tab. 1) dobře vyhovuje tomuto závěru (Tab. 4 a 5), nehledě na předpoklad uvedený výše, že nižší porušení změnu technologických vlastností příliš neovlivní.

Tab. 5 Změny technologických vlastností ovčího mléka v důsledku porušení mlékem kravským v koncentraci 5 a 10 % (n = 24, ovce, kráva)

Parametr	Ukazatel										
	pH	SH	ČK	PS	KS	OS	KSM	STR	log STR	LAC	log LAC
OVM 100											
x	6,59	10,15	160,4	1,9	3,5	18	50,43	1 242 916 667	8,997	113 083 333	7,9353
xg								993 116 048		86 158 871	
sx	0,063	1,69	72,9	0,098	0,659	6,81	4,394	931 826 067	0,287	79 708 663	0,3563
vx (%)	1	16,7	45,5	5,2	18,8	37,9	8,7	75		70,5	
m	6,59	10,21	142,5	1,9	4	17,5	51,7	825 000 000	8,9165	95 000 000	7,9771
OVM 95 KRM 5											
x	6,56	10,08	163,6	1,89	3,25	17,8	49,06	1 039 583 333	8,9158	102 833 333	7,8897
xg								823 758 673		77 571 109	
sx	0,07	1,844	59,4	0,13	0,737	6,32	3,679	602 277 122	0,3582	99 351 666	0,3172
vx (%)	1,1	18,3	36,3	6,9	22,7	35,5	7,5	57,9		96,6	
m	6,58	10,02	146	1,9	3	18	50,25	920 000 000	8,9634	85 000 000	7,9287
OVM 90 KRM 10											
x	6,57	9,91	165,3	1,89	3,29	18,5	48,39	1 145 833 333	8,9917	107 416 667	7,9292
xg								981 070 010		84 957 163	
sx	0,057	1,641	58,6	0,074	0,751	5,85	3,612	671 474 152	0,2506	80 456803	0,2975
vx (%)	0,9	16,6	35,4	3,9	22,8	31,7	7,5	58,6		74,9	
m	6,56	10,04	152	1,9	3	19,5	49,37	990 000 000	8,9955	80 500 000	7,9058
KRM 100											
x	6,61	7	456	1,9	3,25	20,3	32,58	777 916 667	8,8579	75 458 333	7,7777
xg								720 941 457		59 937 690	
sx	0,058	0,967	100,2	0,055	0,737	7,83	2,312	350 465 270	0,1659	53 160 936	0,3118
vx (%)	0,9	13,8	22	2,9	22,7	38,5	7,1	45,1		70,5	
m	6,63	7,14	492	1,9	3	21,5	32,98	700 000 000	8,8451	60 000 000	7,7782
l; t	1,97	0,62	0,22	0,71	2,25	0,2	4,13	1,18	0,98	0,79	0,87
P	ns	ns	ns	ns	*	ns	***	ns	ns	ns	ns
ll; t	1,57	3,77	0,29	0,79	1,29	0,47	5,4	0,62	0,12	0,37	0,11
P	ns	***	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns

Vysvětlivky podle Tab. 4. OVM = ovčí mléko; KRM = kravské mléko. Párový t-test (hodnota t) pro rozdíl mezi ovčím mlékem (100 %) a falšovaným ovčím mlékem z 5 % a 10 % kravským mlékem (I = OVM 100 – (OVM 95 a KRM 5); II = OVM 100 – (OVM 90 a KRM 10)).

Tab. 6 Významnost rozdílů mezi technologickými vlastnostmi původních, výchozích druhů mléka (výsledky podle Tab. 4 a 5; $n = 24$ pro kozí, ovčí i kravské mléko)

Parametr	Ukazatel										
	pH	SH	ČK	PS	KS	OS	KSM	STR	log STR	LAC	log LAC
KOM – KRM; t	3,06	2,86	19,66	1,67	0,53	5,34	1,82	0,7	1,53	0,39	0,1
P	**	**	***	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns
OVM – KRM; t	1,12	7,76	11,44	0	1,21	1,1	17,24	2,24	2,01	1,88	1,6
P	ns	***	***	ns	ns	ns	***	*	ns	ns	ns
KOM – OVM; t	0	9,2	2,8	1,17	0,75	7,54	11,22	2,66	2,97	1,59	1,3
P	ns	***	**	ns	ns	***	***	*	**	ns	ns

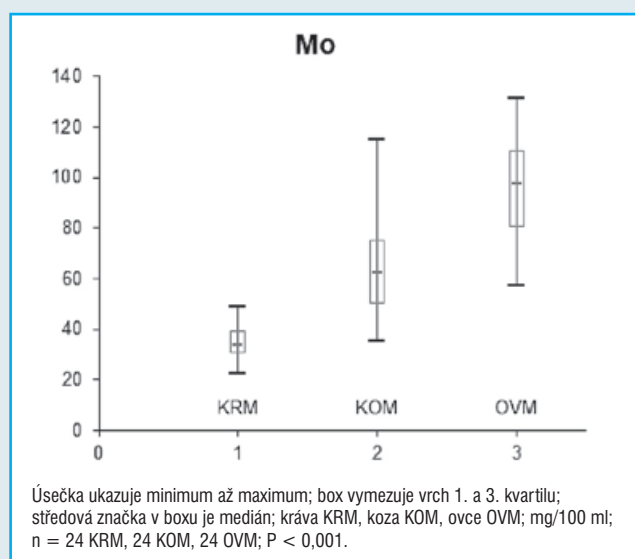
Vysvětlivky podle Tab. 4 a 5. Nepárový t-test (hodnota t) pro rozdíly mezi kozím, ovčím a kravským mlékem (100 %), pravděpodobnost nulové hypotézy (P): $P > 0,05 = ns$ (nevýznamné); $P \leq 0,05 = *$ (významné); $P \leq 0,01 = **$; $P \leq 0,001 = ***$.

V Tab. 4 je uveden vliv falšování kozího mléka kravským (5 a 10 %) na technologické vlastnosti mléka. Z důvodu relativní složkové podobnosti kozího a kravského mléka (Tab. 2; větší než u ovčího a kravského) je většina vlivů porušením statisticky nevýznamná ($P > 0,05$). Trend případných posunů hodnot je logicky většinou ve směru ke kravskému mléku, ale za prakticky významnější lze označit jen významný ($P \leq 0,05$) vliv porušení (KRM 10 %) u titrační kyselosti (SH), který znamenal změnu z 5,97 na 6,14 °SH, pravděpodobně z důvodu vyššího obsahu bílkovin u kravského mléka (Tab. 2) jako zdroje cca 2/5 SH mléka. Tato skutečnost znamená, že do hladiny 10 % porušení není změněna technologická zpracovatelnost mléka.

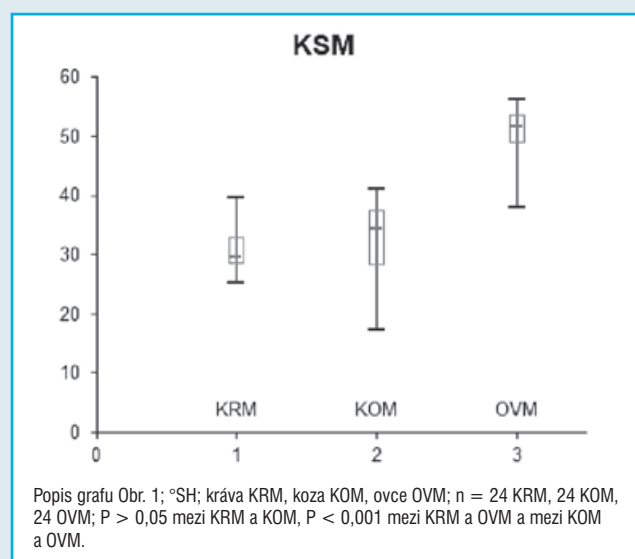
V Tab. 5 je uveden vliv falšování ovčího mléka kravským (5 a 10 %) na technologické vlastnosti mléka. Na rozdíl od kozího mléka zde je více významných změn v důsledku větší složkové odlišnosti ovčího a kravského mléka (Tab. 2). I zde je trend případných posunů hodnot logicky ve směru ke kravskému mléku, jak se zvyšoval jeho přírůstek. Nicméně, překvapivě, ani v tomto případě není významných změn nijak mnoho. Z důvodu 2/5 vlivu obsahu hrubých bílkovin (zejména jejich složky kaseinu) na SH byl i zde tento efekt významný ($P \leq 0,001$).

Zmíněný vliv znamenal posun z 10,15 na 9,91 °SH při porušení KRM 10 %. Další prakticky zanedbatelný efekt byl zaznamenán v mírném zlepšení při subjektivním posouzení kvality syřeniny. Ovšem, nutno uvést, že tato byla celkově pro všechna mléka zhoršena vysokou pasterací (HANUŠ et al., 1995) oproti syrovému mléku. Významnější vliv ($P \leq 0,001$) byl zachycen u KSM, statisticky i prakticky. Tento vliv znamenal posun z 50,43 na 48,39 °SH při KRM 10 %. Uvedené znamená, že u ovčího mléka může již při 10 % porušení dojít ke změnám technologické zpracovatelnosti, které však v principu nejsou nijak fatální.

V Tab. 6 jsou zachyceny významnosti rozdílů v technologických vlastnostech mléka mezi původními druhy mlék (z Tab. 4 a 5). V souladu se zaznamenanými složkovými rozdíly v Tab. 2 (kdy podobné byly zaznamenány i v jiných pracích: GAJDŮŠEK et al. 1996; KUČTÍK a SEDLÁČKOVÁ, 2003; HANUŠ et al., 2007, 2008, 2009; JANŮ et al., 2007 a, b; NOVOTNÁ et al., 2007; GENČUROVÁ et al., 2008; SOJKOVÁ et al., 2010 a, b; KRÁLÍČKOVÁ et al., 2013; BUCEK et al., 2018; ORAVCOVÁ et al., 2018; KVAPILÍK et al., 2019). Více významných rozdílů ve sledovaných technologických vlastnostech bylo zaznamenáno mezi kozím a ovčím



Obr. 1 Vliv druhu mléka na koncentraci močoviny v mléce (MO v mg/100 ml)



Obr. 2 Vliv druhu mléka na kysací schopnost mléka (KSM ve °SH)

mlékem (6) než mezi mlékem kozím a kravským (4) nebo ovčím a kravským (4), což převážně koresponduje i se složkovými rozdíly (Tab. 2). Za druhově nejvýraznější rozdíly lze považovat diference pro titrační kyselost (SH; KOM 5,97, OVM 10,15 a KRM 7 °SH; Tab. 4 a 5) z důvodů složkových odlišností, pro čas koagulace (ČK; KOM 98,1, OVM 160,4 a KRM 487 a 456 vteřin; Tab. 4 a 5) a pro kysací schopnost mléka (KSM; KOM 33,37, OVM 50,43 a KRM 30,84 a 32,58 °SH; Tab. 4 a 5; Obr. 2).

Je zajímavé, že u KSM byly hodnoty malých přežvýkavců zřetelně, až výrazně vyšší oproti KRM, ačkoliv obsahy laktózy, hlavního štěpeného substrátu při fermentaci, byly významně nižší ($P \leq 0,001$) a že u KOM byla hodnota KSM nevýznamně ($P > 0,05$) vyšší oproti KRM i přesto, že původní titrační kyselost KOM před fermentací byla významně ($P \leq 0,01$) nižší. Jedná se o doklady komplikovanějších vazeb a interakcí složek mléka a jejich struktur (a dalších přidaných faktorů jako enzymatických syřidel nebo ušlechtilých mlékařských kultur) k technologickým vlastnostem, než by vysvětlovaly pouhé jednoduché koncentrační přepočty, což lze naopak poměrně úspěšně aplikovat u vlastních složek mléka (např. Tab. 3 - výpočetní modelová demonstrace).

Závěr

Výsledky práce přispěly doplňkovou informací k řešení projektu výzkumu, vývoje a validace moderních analytických metodických postupů k odhalování případů falšování mléka malých přežvýkavců ve smyslu podchytení co nejnižší hladiny možného přídavku biologicky jiného mléka. Bylo zjištěno, že znehodnocení mléka malých přežvýkavců mlékem kravským, v použitých koncentracích do 10 % (což lze metodicky s jistotou identifikovat) by neměly přispívat ke zřetelné změně technologických vlastností. Určitý vliv na technologické vlastnosti mléka (titrační kyselost a kysací schopnost) byl zaznamenán u porušení mléka ovčího. Tyto výsledky korespondují s četnými významnými rozdíly ve složkových ukazatelích a počtu somatických buněk mezi druhy.

Práce byla finančně podporována projektem MZe ZEMĚ QK 1920222.

Seznam literatury

ALBENZIO, M. a SANTILLO, A. (2011): Biochemical characteristics of ewe and goat milk: Effect on the quality of dairy products. *Small Ruminant Research*, 101, s. 33-40.

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.

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 v České republice za rok 2017. Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Svaz chovatelů ovcí a koz, z.s., Dorper Asociace CZ, s. 96.

GIRAK, 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.

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., JELÍNEK, P., HAMPL, A. (1996): Somatic cell counts in goat milk and their relation to milk composition and properties. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 41, s. 25-31.

GENČUROVÁ, V., HANUŠ, O., HULOVÁ, I., VYLETĚLOVÁ, M., JEDELSKÁ, R. (2008): The differences of selected indicators of raw milk composition and properties between small ruminants and cows in the Czech Republic. *Výzkum v chovu skotu / Cattle Research*, 1, 183, 3, s. 10-19.

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., GAJDŮŠEK, S., GABRIEL, B., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. (1995): Cheesemaking properties of raw and pasteurized milk with respect to milk protein polymorphism. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 40, 11, s. 523-528.

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., KUČERA, J., YONG, T., CHLÁDEK, G., HOLÁSEK, R., TRÍNÁCTÝ, J., GENČUROVÁ, V., SOJKOVÁ, K. (2011): Effect of sires on wide scale of milk indicators in first calving Czech Fleckvieh cows. *Archiv Tierzucht / Archives Animal Breeding*, 54, 1, ISSN 003-9438, s. 36-50.

HANUŠ, O., NĚMEČKOVÁ, I., RYSOVÁ, L., LEGAROVÁ, V., KOPECKÝ, J. (2019): Možnosti identifikace falšování syrového mléka. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 30, 177, 6, ISSN 1212-950X, s. 1-7.

HANUŠ, O., TOMÁŠKA, M., HOFERICOVÁ, M., VYLETĚLOVÁ, M., KLIMĚŠOVÁ, M., K LAPÁČOVÁ, L., JEDELSKÁ, R., KOLOSTA, 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., KLIMĚŠOVÁ, M., HOFERICOVÁ, M., VORLOVÁ, L., NĚMEČKOVÁ, I., KOLOSTA, 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.

HERING, P., BUCEK, P., HŘEBEN, F., PYTLOUN, P., PYTLOUN, J., MATOUŠ, E. (2005): 100 let kontroly mléčné užitkovosti skotu v Čechách, na Moravě a ve Slezsku. ISBN 80-239-5481-4, s. 105.

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.

JAMNIK, P., VOLK, H., OGRINC, N., JERŠEK, B. (2019): Potential of bovine kappa - casein as biomarker for detection of adulteration of goat's milk with cow's milk. *Mljekarstvo*, 69, s. 78-84. doi: 10.15567/mljekarstvo.2019.0107

- KADEČKA, J., a ROZMAN, J. (2006): Chov skotu v proměnách času v Čechách se zaměřením na severovýchodní Čechy. *ChovServis a.s., Hradec Králové*, s. 124.
- 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., FILIPČÍK, 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.
- KUČTÍK, 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.
- KVAPILÍK, J., BUČEK, P., KUČERA, J. et al. (2019): Chov skotu v České republice. Ročenka 2018. ČMSCH a.s. Praha, s. 78.
- LEVIEUX, D., VENIEN, A. (1994): Rapid, sensitive two-site ELISA for detection of cows' milk in goats' or ewes' milk using monoclonal antibodies. 61, 1, s. 91-99. Published online by Cambridge University Press: 01 June 2009. DOI: 10.1017/S0022029900028089
- 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.
- 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, s. 5651-5660. doi: 10.3168/jds.2010-3619
- NOVOTNÁ, L., KUČTÍK, J., DOBEŠ, K., ŠUSTOVÁ, K., ZAJÍCOVÁ, 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.
- PLOCKOVÁ, M. a HORÁČKOVÁ, Š. (2019): Aktuální pohled na pasteraci mléka. Current view on milk pasteurization. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 30, 174, 3, s. 7-9. (In Czech)
- 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.annexpublishers.com/articles/JVSAH/5205-Novel-analytical-technologies-of-Quality-in-the-Sheep-&-Goat-Dairy-Sector.pdf>
- RAYNAL-LJUTOVAC, K., PARK, Y. W., GAUCHERON, F., BOUHALLAB, S. (2007): Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, s. 207-220.
- SANTOS, P. M., PEREIRA-FILHO, E. R., RODRIGUEZ-SAONA, L. E. (2013): Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis. *Food Chemistry*, 138, 1, s. 19-24. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.024
- 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.
- TSAKALI, E., AGKASTRA, C., KOLIAKI, C., LIVANIOS, D., BOUTRIS, G., CHRISTOPOULOU, M. I., KOULOURIS, S., KOUSSISSIS, M., VAN IMPE, J. F. M., HOUBOU, 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.
- ZACHAR, P., ŠOLTÉS, M., KASARDA, R., NOVOTNÝ, J., NOVÍKMECOVÁ, 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: 20. 10. 2020

Lektorováno: 10. 11. 2020

DLOUHODOBÉ PŘEŽÍVÁNÍ *LISTERIA MONOCYTOGENES* V MLÉKÁRENSKÝCH PROVOZECH

**Mgr. Gelbíčová Tereza, Ph.D.,
Ing. Hlucháňová Lucie, Mgr. Kalová Alžběta,
Doc. MVDr. Karpíšková Renáta, Ph.D.**
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Long-term survival of *Listeria monocytogenes* in dairy plants

Abstrakt

Bakterie *Listeria monocytogenes* se vyznačují rozsáhlou schopností environmentální adaptace, která přispívá k jejich přežívání v prostředí potravinářských provozů, šíření v potravinovém řetězci a vzniku listerióz u spotřebitelů. Cílem této studie bylo srovnání diverzity genomu suspektně perzistentních kmenů *L. monocytogenes* ze sýrařských podniků za využití metody celogenomového sekvenování (WGS). Výsledky studie potvrdily, že metoda WGS je vhodným nástrojem umožňujícím poskytnout manažerům potravinářských podniků informace o výskytu perzistentních kmenů bakterií dlouhodobě znehodnocujících kvalitu a bezpečnost jejich výrobků.

Klíčová slova: perzistence, sýry, celogenomové sekvenování, prostředí potravinářských podniků

Abstract

Listeria monocytogenes are characterized by an extensive ability of environmental adaptation, which contributes to their survival in the environment of food processing plants, spread in the food chain and the development of listeriosis in consumers. The aim of this study was to compare the genome diversity of suspected persistent *L. monocytogenes* strains from cheese processing plants using whole genome sequencing (WGS). The results of the study confirmed that the WGS method is a suitable tool to provide food business managers with