

ZMĚNY TECHNOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ MLÉKA A JEHO IR SPEKTER PŘI VÝZNAMNÉ REDUKCI POČTU SOMATICKÝCH BUNĚK

Oto Hanuš¹, Jan Říha², Hana Nejeschlebová¹, Lucie Rysová³, Veronika Legarová³, Petr Tichovský⁴, Jaroslav Kopecký¹, Radoslava Jedelská¹

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

² Bentley Czech s.r.o.

³ Katedra kvality a bezpečnosti potravin,

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

⁴ Moravia Lacto a.s., Jihlava

Changes in the technological properties of milk and its IR spectrum with a significant reduction in the somatic cell count

Abstrakt

Artifciální redukce (AR-PSB) počtu somatických buněk (PSB) syrového mléka může ovlivnit jeho vlastnosti z analytického i technologického pohledu. AR-PSB byla pokusně provedena centrifugací u 18 vzorků (2 l každý) původního normálního (bazénového, PSB $\leq 400 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$) a abnormálního (bazénového, obohaceného PSB $> 400 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$) syrového kravského mléka. Geometrický průměr (xg) PSB původního mléka činil $505 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (x, aritmetický průměr $850 \pm 845 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$). Byl tak zřetelně vyšší, než průměr PSB pro ČR (2019 a 2020, 221 a $230 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$), což je dáno záměrně metodikou pokusu. AR-PSB snížila PSB ($P < 0,001$), x z 850 na $310 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (xg: z 505 na $163 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$). Vedle PSB byl snížen logicky obsah tuku, tato redukce byla pokryta korigovaným výpočtem pro další práci. Obsahy ostatních složek mléka, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina tukuprostá, se změnily procesem AR-PSB nepatrně. Diference v bodu mrznutí mléka byla relativně malá 0,06 % ($P > 0,05$). Změny fyzikálních a technologických ukazatelů byly většinou nevýznamné. Titrační kyselost (SH) byla významně redukována z 8,0 na 7,86 °SH ($P < 0,01$). Možným důvodem je odvod kysličníku uhličitého při AR-PSB. Kysací schopnost mléka (KSM) překvapivě vzrostla z 26,3 na 29,06 °SH ($P < 0,001$), o 10,5 %. Při procesu recovery PSB z bubnu odstředivky po AR-PSB byly dosaženy hodnoty podobné původnímu mléku ($P > 0,05$) při x 850 a 867 a xg 505 a $484 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$. Proces AR-PSB ovlivnil počet celkového počtu mikroorganismů (CPM) relativně málo, i když významně ($P < 0,05$), z xg 179 226 na 213 206 KTJ $\times \text{ml}^{-1}$. Celkově vyšší CPM byly v důsledku metodiky (příměs abnormálního

mléka). Byly zaznamenány i neočekávané výsledky, možná vlivem nižšího počtu vzorků. Proto je třeba další validace. KSM se zlepšila po AR-PSB, dále se zlepšila s rostoucím PSB ($P < 0,01$ a $P > 0,05$), a to jak v původním mléce, tak po AR-PSB. Očekávána byla setrvalost hodnoty KSM během AR-PSB a pokles s růstem PSB. Hypotetické vysvětlení pro vzrůst KSM po AR-PSB je možnost inhibice jogurtové kultury imunoglobuliny na leukocytech (PSB). U nativního mléka (PSB 172) a vzorku se zvýšeným PSB ($426 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$), každý 30 l objemu, snížila procedura AR-PSB výrazně PSB o 58,7 a 35,0 %, tuk jen o 3,1 a 1,6 %. Obsahy ostatních hlavních složek se téměř nelišily. Z porovnání IR spekter lze připustit existenci diferencí pro derivaci kalibrace metody MIR-FT k detekci aplikace postupu AR-PSB v praxi.

Klíčová slova: syrové kravské mléko, subklinická mastitida, artifciální redukce počtu somatických buněk, centrifugace, složení mléka, technologické vlastnosti

Abstract

The artificial reduction (AR-PSB) in the somatic cell count (PSB = SCC) of raw milk can affect its properties from an analytical and technological point of view. AR-PSB was experimentally performed by centrifugation of 18 samples (2 l each) of original normal (bulk tank, PSB $\leq 400 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$) and abnormal (bulk tank, enriched by PSB $> 400 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$) raw cow's milk. The geometric mean (xg) PSB of the original milk was $505 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (x, arithmetic mean $850 \pm 845 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$). It was thus clearly higher than the PSB average for the Czech Republic (2019 and 2020, 221 and $230 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$), which is deliberately given by the experimental methodology. AR-PSB reduced PSB ($P < 0.001$), x from 850 to $310 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (xg: from 505 to $163 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$). In addition to PSB, the fat content was logically reduced, this reduction was covered by a corrected calculation for further work. The contents of other milk components, protein, casein, lactose, solids non fat, changed slightly by the AR-PSB process. The difference in the freezing point depression of milk was relatively low 0.06% ($P > 0.05$). Changes in physical and technological indicators were mostly insignificant. The titratable acidity (SH) was significantly reduced from 8.0 to 7.86 °SH ($P < 0.01$). A possible reason is the removal of carbon dioxide during AR-PSB. The fermentability of milk (KSM) surprisingly increased from 26.3 to 29.06 °SH ($P < 0.001$), by 10.5%. During the process of PSB recovery from the centrifuge drum after AR-PSB the similar values to the original milk ($P > 0.05$) were obtained at x 850 and 867 and xg 505 and $484 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$. The AR-PSB process affected the number of total number of microorganisms (CPM = TCM) relatively little, although significantly ($P < 0.05$), from xg 179 226 to 213 206 CFU $\times \text{ml}^{-1}$. Overall higher CPM values were due to the methodology (admixture of abnormal milk). Unexpected results were also recorded, possibly due to a lower number of samples. There-

fore, further validation is needed. KSM improved after AR-PSB, further improved with PSB increasing PSB ($P < 0.01$ and $P > 0.05$) in both original milk and after AR-PSB. KSM was expected to remain stable during AR-PSB and to decrease with PSB growth. A hypothetical explanation for the increase in KSM after AR-PSB is the possibility of inhibition of yoghurt culture by immunoglobulin on leukocytes (PSB). For native milk (PSB 172) and a sample with increased PSB ($426 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$), every 30 l of volume, the AR-PSB procedure significantly reduced PSB by 58.7 and 35.0%, fat only by 3.1 and 1, 6%. The contents of the other main ingredients were almost the same. From the comparison of IR spectra, it is possible to admit the existence of differences for the derivation of the calibration of the MIR-FT method to detect the application of the AR-PSB procedure in practice.

Keywords: raw cow's milk, subclinical mastitis, artificial reduction of somatic cell count, centrifugation, milk composition, technological properties

Význam a možné vlivy umělé redukce počtu somatických buněk v syrovém mléce

V dřívějších kvalitativních normách v mlékařství, v podstatě již v minulém století, byla uvedena jedna velmi důležitá zásada, a sice, že k syrovému mléku pro tržní účely nemůže být nic přidáno, ale ani mu odejmuto. Kontrola kvality syrového mléka je pak důležitou společenskou zakázkou (BAUMGARTNER, 2000; MARTINEZ DE LA VARA et al., 2018; PEREIRA et al., 2020). Ve skutečnosti tak bylo definováno obecné pravidlo proti jakémukoliv pozměňování potravin a potravinových surovin. Dnes se ukazuje, po zrušení platnosti značné části dřívějších potravinářských technologických norem v ČR, že se na tyto dobré praxe bohužel zřejmě pozapomnělo a jsou nezdárka obcházeny. Nejde jen o známý rozvoj a regulaci problému např. dvojí kvality potravin v EU. Příkladem je aktuálně také možnost „pomyšlného zvýšení kvality syrového mléka“ prostřednictvím umělého snížení počtu somatických buněk. Pro takový postup je adekvátně vyvinuta relevantní separační technologie, u které se zvýšením kvality mléka argumentuje.

O četných aspektech počtu somatických buněk (PSB) v mléce a mastitidách mléčné žlázy byla v čase vydána v ČR řada souhrnných publikací (např. HEJLÍČEK, 1986; ŠKARDA et al., 1990; SEYDLOVÁ, 1997, 2005; DOLEŽAL et al., 2000; RYSANEK a BABAK, 2005; TICHÁČEK et al., 2007; RYSANEK et al., 2007; SAMKOVÁ et al., 2012; ILLEK et al., 2014). V těchto pojednáních je citována řada vědeckých a odborných pramenů a vyplývá z nich suma informací, které jsou následně zkráceně zmíněny. PSB v mléce je až z 95 % (75 až 95 %) představován bílými krvinkami přecházejícími z krevního řečiště do mléka přes stěny a sekreční epitel alveolů mléčné žlázy. Jedná se o obranný systém mléčné žlázy. PSB v mléce indikuje zdravotní

stav dojníc s ohledem na výskyt zánětů vemene (poruch sekrece mléka – subklinických a klinických forem mastitid, převážně s výskytem infekce, tedy bakteriálního a někdy i nebakteriálního patogenu) a pro bazénové kravské mléko je také ukazatelem hygienickým, který je limitován příslušnými potravinovými standardy. Zdravá mléčná žláza má PSB do 100 tisíc v ml mléka. PSB $300 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (příležitostný limit pro výběrové mléko) již může značit subklinickou mastitidu u zvířete a ztrátu dojivosti (SHOOK, 1982; RENEAU et al., 1983, 1988; RENEAU, 1986; WENDT et al., 1994) cca od 4,0 přes 7,4 až 8,6 %, klinická mastitida má hodnotu PSB i vyšší, až několik milionů. PSB je zvyšován aktivitou patogenů v mléčné žláze, ale i stresem, stadiem a pořadím laktace.

Ztráty dojivosti a kvality mléka spojené se zvýšením PSB a náklady na léčbu mastitid a sanační opatření vyúsťují v ekonomické ztráty v chovu dojníc, které pro podmínky ČR odhadli KVAPILÍK et al. (2014, 2015, 2016, 2017). V případě klinické mastitidy (i závažné subklinické, tzn. léčené) ocenili chovatelskou ztrátu na 9 000 Kč a ztráty způsobené mastitidou mohou kolísat od 4 000 do 18 000 Kč, na případ. Při distribuci ztrát při mastitidách podle zdrojů bylo odhadnuto, že 53 % tvoří nižší výnosy z prodeje mléka, 20 % vyšší vyřazování krav (obnova stáda), 14 % vyšší náklady na léky a léčbu krav, 7 % práce na ošetřování nemocných krav a 6 % pokuty farmářů z ceny mléka za deficit kvality. Pokud mastitidní mléko, v důsledku činnosti bakteriálních patogenů, obsahuje jejich metabolity a toxiny, samotné odstranění somatických buněk tyto toxiny v mléce neredukuje. Lze se oprávněně domnívat, že umělé redukce PSB kvalitu syrového mléka, případně již tak dříve poškozenou mastitidou při jeho sekreci, nezlepší. Z uvedených důvodů je nutné zkoumat, vyhodnotit a popsat vliv redukce PSB na mléko jako surovinu a dále hledat a vyvíjet vhodné analytické metody identifikace takového postupu.

Vztah PSB a technologických vlastností mléka

PSB je stále jedním z nejvýznamnějších ukazatelů hygienické a zdravotní kvality syrového mléka (SHARIF a MUHAMMAD, 2008). V evropských zemích i jinde na světě, ne však všude, vyšší přípustné limity jsou např. i v některých státech USA, je standardní mléko definováno hodnotou $\text{PSB} \leq 400 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$. Ta však odpovídá ztrátě dojivosti minimálně cca 4 % (WENDT et al., 1994) a znamená přítomnost subklinických mastitid ve stádě dojníc přes 25 %. Je již déle známo, že mastitidní zvýšení PSB zhoršuje koagulační vlastnosti mléka v syrařství při enzymatickém syření a rovněž výtěžnost sýrů (POLITIS a NG-KWAI-HANG, 1988 a, b; BOBBO et al., 2016, 2017). Byl zjištěn pozitivní korelační koeficient ($P < 0,001$) 0,23 mezi PSB a časem enzymatické koagulace mléka, který byl tak rostoucím PSB prodlužován, čímž se zhoršovala syřitelnost (HANUŠ et al., 1995).

Dále, pro PSB a kysací schopnost mléka (KSM) byl zjištěn významný ($P < 0,01$) negativní korelační koe-

ficient -0,23 (HANUŠ et al., 1993). Variabilita KSM může být také mírně ovlivněna prostřednictvím plemene, sezóny a typu krmení, ale tyto vlivy byly shledány jako nevýznamné ($P > 0,05$; KRÍŽOVÁ et al., 2014), ukazuje se proto, že zdravotní stav vemene je vlivem pravděpodobně nejvýznamnějším. Nicméně, je možné odhadovat, že umělé snížení PSB v syrovém mléce tyto vztahy nezmění a narušená surovina bude dále poškozovat hlavní technologické vlastnosti mléka. Potřeba mít možnost kontrolovat takový neetický postup byla zmíněna a zdůvodněna již dříve (HANUŠ et al., 2019, 2020), kdy byly popsány i vlivy na složení a vlastnosti mléka malých přežvýkavců při jeho porušení mlékem kravským. Přirozeně nízký PSB je tak poměrně významnou podmínkou možnosti tvorby vyšší přidané hodnoty v mlékařství.

Cílem této práce bylo popsat dílčím způsobem technické aspekty a vliv umělé redukce PSB (AR-PSB) normálního a abnormálního syrového mléka na jeho složení a základní a technologické vlastnosti. Zároveň bylo důležité nastavit iniciační metodicko-modelové a technologicko-simulační podmínky pro další hledání a následný vývoj analytických metod k identifikaci podezření z AR-PSB v syrovém mléce.

Materiál a metody

Vzorky mléka, podmínky pokusu

Od května do srpna 2021 byly odebírány bazénové vzorky mléka, které byly výběrově (přímo na odběrové lokalitě) porušeny individuálním abnormálním (vyřazená subklinická mastitida) mlékem, aby bylo dosaženo výrazně vyšší variability PSB a hodnoty nezdělané vyšší než standardní $PSB \leq 400 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$. Vzorky, každý v objemu 2 l, byly dopraveny do laboratoře v chladových podmínkách ($\leq 6 \text{ }^\circ\text{C}$) a druhý den zpracovány a analyzovány. V odebraném materiálu byla zastoupena mléka stád plemene České strakaté a Holštýn v poměru cca 1 : 1. Stáda byla celoročně ustájena ve volném ustájení a krmena TMR, ale některá praktikovala letní pastvu v nadmořské výšce od 300 do 550 m.

Model porušení mléčné suroviny a její ošetření, umělé redukce PSB (AR-PSB)

Mléko k analýzám bylo vzorkováno jako původní (subvzorek 1), dále byl vytvořen a vzorkován ekvivalent vzorku po centrifugaci (2 l, při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$) a následném vrácení a vmíchání smetany (včetně smetany ulpělé ve vývodném zařízení odstředivky) zpět do odstředěného mléka s výrazným snížením PSB (subvzorek 2). Nakonec byl buben odstředivky rozebrán a pečlivě promyt (s přispěním mechanického čištění) mlékem se sníženým PSB (subvzorek 2) pro dosažení maximální recovery PSB v ošetřeném mléce. Také toto mléko bylo po šetrné, ale důkladné homogenizaci vzorkováno (subvzorek 3). Existovaly tedy tři vzorkové, různě ošetřené ekvivalenty (subvzorky).

Poněvadž poměr vnitřního objemu bubnu centrifugy vůči modelové odstředovanému objemu mléka (2 l) při

simulované, experimentální, umělé redukci PSB byl výrazně vyšší, než bývá aplikován v mlékařské praxi, byl v upravených vzorcích logicky registrován zřetelný pokles obsahu (T) tuku (rezidua v bubnu, 0,3 až 0,8 % v mléce podle kvality vzorku), který by mohl v budoucnosti ovlivňovat výsledky spektrálních metod zamýšlených v projektu k metodickému vývoji identifikace nežádoucí redukce PSB. Proto byl proveden teoretický výpočet (na základě reálných čísel průběžných kontrolních analýz), kdy v daném případě bude, v dalším postupu, centrifugace 30 l (snížení poměru vnitřního objemu bubnu centrifugy k odstředovanému objemu) dostatečná k potlačení rezidua tuku ve výsledné analýze pod metodicky zanedbatelná (na úrovni chyby opakovatelnosti použité analytické metody) 0,03 % u ošetřených vzorků. Z tohoto důvodu byla zde, v daném smyslu, provedena výsledková korekce obsahu tuku (tabulky, T-K). Lze předpokládat, kvalifikovaným odhadem z předchozí zkušenosti, že sledované technologické vlastnosti nejsou ovlivněny uvedenou mírnou fluktuací tukového obsahu experimentálních vzorků mléka.

Technologické, analytické a statistické metody

K modelové centrifugaci PSB (AR-PSB), jako simulaci reálného technologického postupu praxe, byla použita klasická průtočná malá mlékařská odstředivka (historicky typ konstrukce Alfa Laval) s talířovým bubnem. Efektivní poloměr talíře (středního disku, vzdálenost středu odstředovaného materiálu od středu rotace) činí 25 mm (průměr bubnu, resp. talíře, 100 mm), počet talířů 12, počet otáček bubnu 11 000 za minutu. Za těchto okolností byl parametr bezrozměrné relativní centrifugační síly (RCF, kolikrát je zrychlení vyvolané rotací vyšší než gravitační zrychlení Země) pro aplikovaný materiál cca $3\,500 \times g$. Na maximálním bubnovém poloměru pak cca $7\,000 \times g$.

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 GTK agar (Milcom, Tábor) a kultivace proběhla při $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 %) byla $\pm 9,3 \%$ pro $PSB < 900 \cdot 10^3 \times \text{ml}^{-1}$. 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 (T), hrubých bílkovin (B), kaseinu (K), monohydrátu laktózy (L), tukuprosté sušiny

(STP), celkové sušiny (CS), močoviny (M) a volných mastných kyselin (VMK)) 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 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). Na stejném přístroji byl stanoven i ekvivalent bodu mrznutí mléka (BMM) při zohlednění mléčné konduktivity, kalkulací, vedle změřených mléčných složek. Zároveň bylo zaznamenáno celé infračervené (IR) spektrum metody MIR-FT každého vzorku mléka.

Bod mrznutí mléka (BMM-KR) byl stanoven přímou referenční metodou na kryoskopu (CryoStar Automatic; Funke-Gerber, Berlin, Germany). Elektrická konduktivita mléka (vodivost, VO) byla stanovena na laboratorním analytickém zařízení, konduktometru Hanna Instruments HI5321-02 (Woonsocket, USA, produkce Rumunsko), které bylo pravidelně kontrolováno roztokem (KCl) o standardní vodivosti ($10,2 \text{ mS} \times \text{cm}^{-1}$), při 20°C , v $\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$. 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 $^\circ \text{SH} = \text{ml} \times 2,5 \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$).

Kysací schopnost (KSM) mléka (jogurtový test) byla stanovena formou titrační kyselosti (Soxhlet-Henkel ($^\circ \text{SH}$)) 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 .

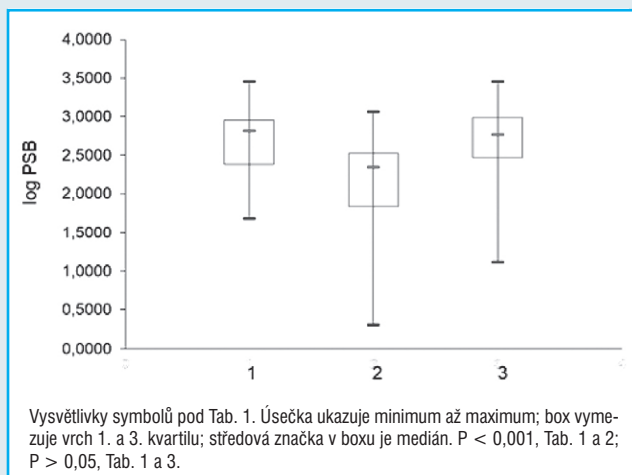
Syřitelnost mléka, jako čas koagulace (ČK) laktoproteinů (vteřin, do vytvoření viditelných vloček bílkovin), byla stanovena s přidávkem bakteriálního (*Rhizomucor Miehei*) syřicího enzymu Fromáza (Fromase[®] 220 TL BF, Royal DSM, Heerlen, Netherlands; www.tomscheese.cz) v 50 ml mléka při 32°C ve vodní lázni. Čas byl ad-

justován empiricky na přibližně 5 minut působení. Po hodině syneréze byla zaznamenána pevnost vytvořeného koláče syřeniny (PS; propadem vhozeného tělíska za standardizovaných podmínek v mm (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 podle subvzorků mléka. Mikrobiologická, hygienická a technologická data s obvykle chybějící normální frekvenční distribucí dat, jako jsou hodnoty CPM, PSB a čas enzymatické koagulace (ČK), byla logaritmičtě transformována (\log_{10}) pro obdržení přibližně normální frekvenční distribuce (JANŮ et al., 2007) a rovněž pro výpočty geometrických (xg) průměrů. Pro testování rozdílů v průměrných hodnotách mléčných ukazatelů a platnosti nulových hypotéz byl použit párový klasický t-test (MS Excel, Microsoft, Redmond, Washington, USA). Ve stejném programu byly zpracovány i případné lineární regrese vztahů mezi mléčnými ukazateli a typy vzorků.

Výsledky a diskuse

V logickém smyslu věci byla modelová separační technologie centrifugace (AR-PSB) provedena simulací (v podmínkách laboratorního experimentu) na v průměru zvýšeném PSB nad hygienický standard $> 400 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ v mléce (v Evropské unii a České republice (ČR)). Geometrický průměr PSB původního mléka (bazénových a PSB uměle znečištěných bazénových vzorků mléka) činil $505 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 1; aritmetický průměr $850 \pm 845 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$, vx 99,4 %) a byl tak zřetelně vyšší, než je aktuálně uváděn průměr PSB pro ČR (2019 a 2020, 221 a $230 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$; BUCEK et al., 2020; BUCEK, 2021). Ostatní složky mléka svými průměry a variabilitou odpovídají současnému stavu. Jednalo se tak o účelově metodicky oprávněný postup.



Obr. 1 Rozdíly v počtu somatických buněk mezi původním, odstředěným (artificialně snížený PSB, AR-PSB) a renovovaným (recovery PSB) mlékem

Tab. 1 Původní normální a abnormální ($PSB \leq a > 400 \cdot 10^3 \times ml^{-1}$) bazénové a mastitidně porušené bazénové (individuálním mlékem s vyšším PSB) vzorky mléka ($n = 18$) – složení a vlastnosti

Ukazatel	PSB	log PSB	T	B	K	L	STP	M	BMM	BMM-KR	pH	SH	VO	ČK	log ČK	PS	KSM
x	850	2,7032	4,06	3,54	2,82	4,80	8,98	27,71	-0,565	-0,5306	6,61	8,0	4,03	195,7	2,2198	19,72	26,3
g	505													166			
sx	845	0,5065	1,53	0,38	0,41	0,27	0,31	16,27	0,011	0,0056	0,12	1,27	0,41	122,3	0,2532	0,96	3,69
vx (%)	99,4		37,6	10,7	14,5	5,5	3,5	58,7	1,9	1,1	1,7	15,8	10,2	62,5		4,9	14,0
min	47	1,6721	3,16	3,04	2,21	4,06	8,45	4,8	-0,588	-0,5452	6,32	6,61	3,30	70	1,8451	18	17,88
max	2 814	3,4493	9,91	4,52	3,94	5,08	9,73	75,1	-0,547	-0,5228	6,77	11,32	4,67	475	2,6767	21	31,99
m	641	2,8056	3,71	3,45	2,78	4,87	8,96	22,6	-0,562	-0,5290	6,66	7,61	4,02	160,5	2,2053	20	27,59

x = aritmetický průměr; g = geometrický průměr; sx = směrodatná odchylka; vx = variační koeficient (%); min = minimum; max = maximum; m = medián; PSB = počet somatických buněk, $10^3 \times ml^{-1}$; log PSB = dekadický logaritmus hodnoty PSB; T = obsah tuku, % ($g \times 100 g^{-1}$); B = obsah hrubých bílkovin, %; K = obsah kaseinu, %; L = obsah monohydrátu laktózy, %; STP = obsah sušiny tukuprosté, %; M = koncentrace močoviny, $mg \times 100 ml^{-1}$; BMM = ekvivalent bodu mrznutí mléka, °C; BMM-KR = deprese bodu mrznutí mléka kryoskopicky, °C; pH = aktivní kyselost mléka; SH = titrační kyselost mléka (spotřeba 0,25 N (M) roztoku NaOH v ml (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela (°SH))); VO = vodivost, elektrická konduktivita mléka, $mS \times cm^{-1}$; ČK = syřitelnost jako čas enzymatické koagulace mléka, syřidlem, v sekundách (s); log ČK = dekadický logaritmus hodnoty ČK; PS = pevnost syřeniny v mm (čím menší hodnota, tím lepší kvalita (vyšší pevnost)); KSM = kysací schopnost mléka jako kyselost SH (spotřeba 0,25 N (M) v ml roztoku NaOH (stupně kyselosti dle Soxhlet-Henkela)).

Tab. 2 Odstředěné (redukce PSB s vrácením smetany a tuku z vývodných cest centrifugy) normální a abnormální ($PSB \leq a > 400 \cdot 10^3 \times ml^{-1}$) bazénové a mastitidně porušené bazénové (individuálním mlékem s vyšším PSB) vzorky mléka ($n = 18$) – složení a vlastnosti

Ukazatel	PSB	log PSB	T	T-K	B	K	L	STP	M	BMM	BMM-KR	pH	SH	VO	ČK	log ČK	PS	KSM
x	310	2,2122	3,10	4,03	3,58	2,87	4,83	9,06	18,74	-0,563	-0,5309	6,6	7,86	4,12	199,7	2,2233	19,89	29,06
g	163														167			
sx	330	0,6328	1,36	1,77	0,39	0,4	0,27	0,32	14,19	0,011	0,0063	0,11	1,36	0,55	137,2	0,2543	0,76	3,31
vx (%)	106,4		43,9	43,9	10,9	14,1	5,5	3,5	75,7	2,0	1,2	1,7	17,3	13,4	68,7		3,8	11,4
min	2	0,301	2,19	2,85	3,09	2,26	4,09	8,57	2,2	-0,589	-0,5463	6,32	6,36	2,98	78	1,8921	18	18,99
max	1 143	3,058	8,21	10,67	4,56	3,96	5,11	9,88	57,4	-0,544	-0,5242	6,75	11,53	4,73	540	2,7324	21	33,96
m	219	2,3395	2,74	3,57	3,49	2,85	4,9	9,01	15,05	-0,561	-0,5292	6,62	7,41	4,34	153	2,1844	20	29,75

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1. T-K = obsah tuku korigovaný, %.

Tab. 3 Odstředěné (redukce PSB s vrácením smetany a tuku z vývodných cest centrifugy) normální a abnormální ($PSB \leq a > 400 \cdot 10^3 \times ml^{-1}$) bazénové a mastitidně porušené bazénové (individuálním mlékem s vyšším PSB) vzorky mléka ($n = 18$) po zpětném připojení zbytkové frakce z promytí bubnu odstředivky odstředěným mlékem s vráceným tukem a redukováním PSB – složení a vlastnosti

Ukazatel	PSB	log PSB	T	T-K	B	K	L	STP	M	BMM
x	867	2,6849	3,48	4,03	3,55	2,86	4,8	9,02	24,44	-0,567
g	484									
sx	856	0,5792	0,38	1,77	0,31	0,4	0,27	0,29	14,36	0,009
vx (%)	98,7		10,9	43,9	8,8	14,0	5,7	3,2	58,7	1,6
min	13	1,1139	3,06	2,85	3,11	2,25	4,05	8,54	2,5	-0,59
max	2 809	3,4486	4,55	10,67	4,09	3,96	5,11	9,75	62,6	-0,549
m	587	2,7591	3,39	3,57	3,48	2,81	4,88	8,97	21,0	-0,567

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1.

Vyhodnocení prvních experimentálních výsledků (Tab. 1 a 2; Obr. 1) naznačilo významné (Tab. 5; $P < 0,001$) artifiční snížení PSB (log PSB) v mléce centrifugační manipulací. PSB byl prostřednictvím AR-PSB v aritmetickém průměru výrazně snížen z 850 na 310 $10^3 \times ml^{-1}$ (xg: z 505 na 163 $10^3 \times ml^{-1}$). Tedy v každém ohledu z mléka nestandardního (abnormálního) do kategorie mléka standardního z hygienicko-zdravotního hlediska, i když variabilita u ošetřeného mléka AR-PSB stále byla vysoká z důvodu selekce nebo úpravy často v kategorii abnormálního mléka, variační koeficient 106,4 % (Tab. 2). Vedle PSB byl snížen logicky obsah tuku, kde tato redukce byla metodicky pokryta korigovaným výpočtem

obsahu tuku (Tab. 2) na nevýznamný rozdíl (Tab. 6) a tento postup bude v základu použit v dalším výzkumu tohoto typu. Ostatní složky mléka jako B, K, L a STP (Tab. 1 a 2) se statisticky významně změnilы procesem AR-PSB (Tab. 5; $P < 0,05$ až $P < 0,001$), nicméně změny byly z analytického pohledu nepatrné, v podobě relativního navýšení hodnot o 1,1, 1,8, 0,6 a 0,9 %, mírnou změnou objemových poměrů ve vzorcích a možná také vlivem opakovatelnosti měření přístroje. Významné změny u M a BMM (Tab. 1, 2 a 5), relativně větší u M, mohly být dány projevy IR spekter přístroje a určitými strukturálními změnami v mléce během procesu, nicméně, difference v referenčním BMM-KR byla malá (relativně 0,06 %) a nevýznamná ($P > 0,05$). Změny fyzikálních a technologických ukazatelů (Tab. 1, 2 a 5) pH, VO, ČK a PS byly provedeným zásahem AR-PSB nevýznamné. SH byla významně redukována (Tab. 1, 2 a 5) z 8,0 na 7,86 °SH ($P < 0,01$) a KSM překvapivě vzrostla (se zlepšila) z 26,3 na 29,06 °SH ($P < 0,001$), tedy relativně o 10,5 %.

Při procesu recovery PSB (jeho navrácení vymytím) z bubnu odstředivky po AR-PSB do mléka byly dosaženy hodnoty podobné původnímu mléku (Tab. 1 a 3). Významné ($P < 0,05$ a $P < 0,001$), ale relativně malé rozdíly (1,4, 0,4 a 11,8 %) s výjimkou M, byly jen u K, STP a M (Tab. 7). U močoviny došlo rovněž ke zpětnému nárůstu z hodnoty v Tab. 2, ale rozdíl zůstal

Tab. 4 Původní (P) a odstředěné (O; redukce PSB s vrácením smetany a tuku z vývodných cest centrifugy) normální a abnormální ($PSB \leq a > 400 \cdot 10^3 \times ml^{-1}$) bazénové a mastitidně porušené bazénové (individuálním mlékem s vyšším PSB) vzorky mléka ($n = 15$) – celkový počet mezofilních mikroorganismů

Ukazatel	CPM, P	log CPM, P	CPM, O	log CPM, O
x	2 568 340	5,2534	3 040 547	5,3288
g	179 226		213 206	
sx	4 071 530	1,4502	4 981 979	1,4445
vx (%)	158,5		163,9	
min	2 300	3,3617	3 200	3,5051
max	12 000 000	7,0792	15 000 000	7,1761
m	800 000	5,9031	850 000	5,9294

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1. CPM = celkový počet mezofilních mikroorganismů, koloniformní jednotky, $KTJ \times ml^{-1}$. log CPM = dekadický logaritmus hodnoty CPM.

Tab. 5 Výsledky párového t-testu ve všech mlékařských ukazatelích mezi Tab. 1 a Tab. 2

Ukazatel	PSB	log PSB	T	B	K	L	STP	M	BMM	BMM-KR	pH	SH	VO	ČK	log ČK	PS	KSM
t	4,29	7,76	12,85	6,25	2,29	9,16	6,87	11,24	4,12	0,56	1,62	3,17	0,63	0,38	0,12	1,13	5,62
význ.	***	***	***	***	*	***	***	***	***	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	***

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1. Počet stupňů volnosti 17. t = hodnota kritéria t-testu. význ = statistická významnost: ns = $P > 0,05$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Tab. 6 Výsledky párového t-testu v ukazateli tuku a korigovaného tuku (T a T-K) mezi Tab. 1 a Tab. 2.

Ukazatel	T – T-K, Tab. 1 a 2	T – T-K, Tab. 2
t	0,32	9,42
význ.	ns	***

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1 a 5. Počet stupňů volnosti 17.

Tab. 7 Výsledky párového t-testu ve všech mlékařských ukazatelích mezi Tab. 1 a Tab. 3

Ukazatel	PSB	log PSB	T	B	K	L	STP	M	BMM
t	0,57	0,50	1,71	0,33	2,64	1,42	3,00	3,79	2,06
význ.	ns	ns	ns	ns	*	ns	**	**	ns

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1 a 5. Počet stupňů volnosti 17.

Tab. 8 Výsledky párového t-testu v ukazateli celkového počtu mikroorganismů (CPM) mezi původním a odstředěným mlékem v Tab. 4

Ukazatel	CPM, P – O	log CPM, P – O
t	1,57	2,83
význ.	ns	*

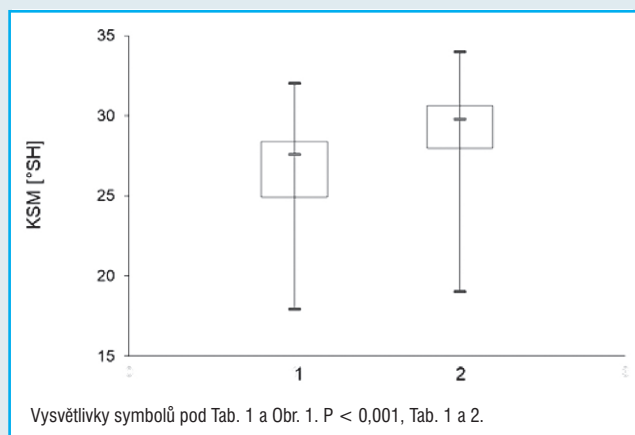
Vysvětlivky symbolů pod Tab. 4 a 5. Počet stupňů volnosti 14.

relativně zřetelný, možná právě pro vztah hodnotícího software přístroje a strukturálních změn během manipulací s mlékem (interakce) s určitým vlivem na IR spektrum. Jedná se zde tedy spíše o překrývání (nejistotní, spíše domnělý, posun) faktor analytické technologie a koncentrace močoviny by se měla v daném případě, jako pravý roztok, chovat pravděpodobně podle modelu, resp. vzorce změn laktózy. Metodicky, s ohledem na typ experimentu, zejména u PSB byla diference nevýznamná ($P > 0,05$) při aritmetických průměrech 850 a 867 a xg 505 a $484 \cdot 10^3 \times ml^{-1}$. Tím byla kompletně doložena cesta somatických buněk prostřednictvím pokusných manipulací s mlékem za daných podmínek.

Při sledování vlivu AR-PSB na CPM (Tab. 4 a 8) bylo zjištěno, že celkový počet mikroorganismů nebyl z praktického pohledu výrazně ovlivněn. Z analytického pohledu došlo k mírnému navýšení (log CPM, $P < 0,05$) u odstředovaného mléka (z hodnoty xg 179 226 na 213 206 $KTJ \times ml^{-1}$), za což mohou být zodpovědné další, v procesu AR-PSB použité, manipulační vnitřní povrchy technologického zařízení navíc. Vyšší CPM v pokuse, s ohledem na standardní mléko, jsou způsobeny pravděpodobně zejména manipulací s mlékem při obohacování bazénových vzorků abnormálním mlékem se subklinickou mastitidou a vyšším PSB. Tento výsledek však nijak negativně neinterferuje do metodických postupů expe-

perimentů tohoto typu a má jen metodický a kontrolní charakter při objasňování možných změn.

Samostatnou otázkou je dynamika hodnot vybraných technologických vlastností mléka během AR-PSB. Mírný, již zmíněný, pokles v hodnotě SH (Tab. 1, 2 a 5; $P < 0,01$) by mohl být částečně vysvětlen únikem zbytku kyslíčnicku uhličitého z mléka během centrifugace. ČK nevýznamně vzrostl po AR-PSB (Tab. 1, 2 a 5; $P > 0,05$) a zároveň se mírně překvapivě, ale nevýznamně, zkracoval s rostoucím PSB jak v původním (nativním) mléce, tak po AR-PSB (Tab. 9; $P > 0,05$). Bylo však zaznamenáno více výsledků v rozporu k předpokladům, možná vlivem nižšího pilotního počtu vzorků, proto je výsledky třeba dále validovat. KSM se zlepšila po AR-PSB, jak již bylo uvedeno (Tab. 1, 2 a 5; Obr. 2; $P < 0,001$). Dále, KSM se lepšila, tedy vzrůstala, s rostoucím PSB (Tab. 9; $P < 0,01$ a $P > 0,05$; Obr. 3 a 4), a to jak v původním mléce, tak i po proceduře AR-PSB. Nicméně, očekávána byla setrvalost hodnoty KSM během manipulace s mlékem (AR-PSB), nikoliv zlepšení, a také snižování KSM s rostoucím PSB, podle našich dřívějších výsledků (HANUŠ et al., 1993). Hypotetické vysvětlení, které podporuje první výsledek (KSM; Tab. 1, 2 a 5; Obr. 2) vzrůstu KSM po AR-PSB, ale již méně druhý (Tab. 9; Obr. 3 a 4), může být, že imunoglobuliny, vyskytující se na povrchu některých leukocytů (95 % PSB), mohou do jisté míry inhibovat růst ušlechtilých mlékařských kultur a procesem AR-PSB se aktivita jogurtové kultury částečně uvolní, zde z 26,3 na 29,06 °SH, relativně o 10,5 %. Důvodem nezhoršování KSM s rostoucím PSB (Obr. 3 a 4) také může být, že hodnoty PSB v souboru nebyly relativně extrémní, s případy drsnějších subklinických mastitid,



Obr. 2 Rozdíly v kysací schopnosti mléka mezi původním a odstředěným (redukovaný PSB, AR-PSB) mlékem

jako v dřívějších studiích. Výsledky jsou však na druhé straně metodickým dokladem, že v případě přidavku PSB (subklinické mastitidy) do původního bazénového mléka nebyla přidána mléka s obsahem reziduí léčiv (antibiotik) či jiných inhibičních látek.

Již dříve (PAPAJOVÁ, 1983) byly mezi inhibitory kysacích procesů v mléce zahrnuty kromě reziduí léčiv a desinfekčních prostředků také imunoglobuliny (gamma globuliny) a ostatní přirozené látky s antibakteriálním účinkem, které se při zánětu mléčné žlázy vytvářejí v rámci obranného mechanismu vemene. Byla zde zjištěna závislost mezi výskytem mastitidy a inhibujících látek v mléce, tzn. snížení prokysávací schopnosti mléka při vysokém PSB (korelační koeficient -0,35). I jinde (KISZA, 1967, cit. PAPAJOVÁ, 1983) byla zjištěna snížená prokysávací schopnost mléka se zvýšeným PSB. Naopak (WAES, 1971, cit. PAPAJOVÁ, 1983) bylo také sporadicky poukázáno na to, že i mléko s vysokým PSB může být vhodným živným médiem pro kultivaci, a že samotná mastitida nemá rozhodující vliv.

Klíčový význam infraanalýzy mléka, jako moderní sofistikované technologie k zisku databáze pro efektivní a přesné řídicí postupy a predikce v mlékařství (prvo-

Tab. 9 Vypočtené vybrané lineární regresní vztahy mezi PSB a významnými technologickými vlastnostmi mléka

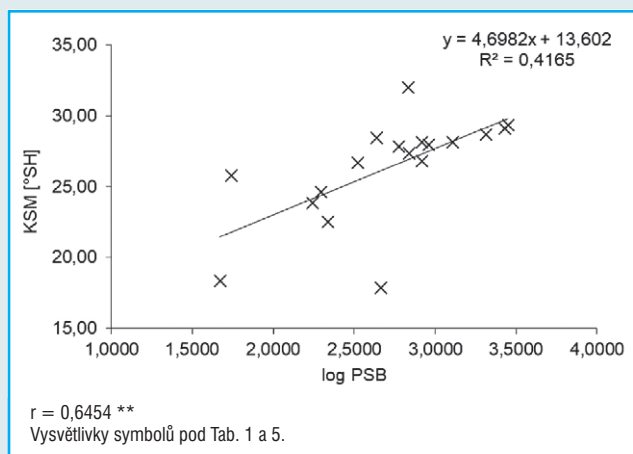
Vztah	Tabulka	Rovnice	Koeficient determinace (R ²)	Koeficient korelace (r)
log PSB × ČK	1	$y = -21,4307x + 253,5991$	0,0079	-0,0889 ns
log PSB × KSM	1	$y = 4,6982x + 13,6024$	0,4165	0,6454 **
log PSB × ČK	2	$y = -12,7123x + 227,789$	0,0034	-0,0583 ns
log PSB × KSM	2	$y = 2,2001x + 24,1885$	0,1769	0,4206 ns

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1 a 5.

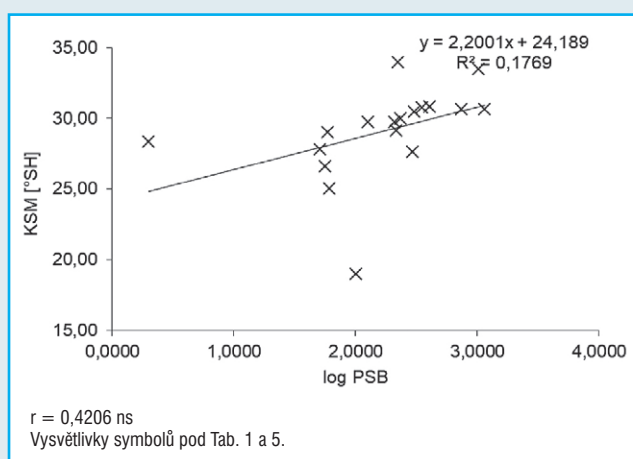
Tab. 10 Změny ve složení a vlastnostech při procesu AR-PSB u 30 l mléka

Ukazatel	PSB	T	B	K	L	STP	SC	M	BMM	VMK
Vzorek 1	172	4,24	3,59	2,94	4,85	9,07	13,34	24,87	-0,5605	0,12
Vzorek 1, AR-PSB	71	4,11	3,6	2,94	4,85	9,06	13,2	22,95	-0,562	0,14
Vzorek 2	486	4,96	4,39	3,88	4,61	9,58	14,64	16,47	-0,5855	0,14
Vzorek 2, AR-PSB	277	4,88	4,4	3,89	4,62	9,59	14,59	14,98	-0,5865	0,13

Vysvětlivky symbolů pod Tab. 1. AR-PSB = artifiční redukce PSB; SC = sušina celková, %. VMK = obsah volných mastných kyselin v mléce, mmol×l⁻¹.



Obr. 3 Lineární regresní vztah (Tab. 1) mezi log PSB a kysací schopností mléka u vzorků původní suroviny



Obr. 4 Lineární regresní vztah (Tab. 2) mezi log PSB a kysací schopností mléka u odstředěného mléka (artifiálně snížený PSB, AR-PSB)

výroba a zpracování mléka), byl opakovaně prokazován (SOYEURT et al., 2006 a, b, 2011; COPPA et al., 2010, 2014; HANUŠ et al., 2014; SAMKOVÁ et al., 2020), naposledy nedávno (PEREIRA et al., 2020). Tyto moderní postupy, v podstatě přesného řízení v zemědělství, jsou ve svých praktických aplikacích v neustálém vývoji, který přispívá ke kvalitě těchto řídicích procesů. Poslední aplikace řeší např. predikce zohledňující skladbu mléčného tuku s ohledem na profil mastných kyselin směrem k odhadu faremního systému výživy dojníc (COPPA et al., 2013), nebo podíl profilu mastných kyselin na indikaci negativní energetické bilance u krav v počátku laktace v rámci kontroly mléčné užitkovosti (DUCHÁČEK et al., 2020).

U bazénového vzorku mléka (PSB 172 10³×ml⁻¹) a tohoto, ale obohaceného vzorku o PSB (426 10³×ml⁻¹), každý 30 l, byla pilotně provedena procedura

AR-PSB. PSB byl redukován na hodnoty 71 a 277 10³×ml⁻¹ (relativně o 58,7 a 35,0 %) a obsah tuku jen mírně, podle předpokladu, absolutně o 0,13 a 0,08 % (relativně o 3,1 a 1,6 %), Tab. 10. Obsahy ostatních hlavních složek (B, K, L, STP a SC) se téměř nelišily. Uvedené podporuje použitý metodický postup v této části pro další postup vývoje metodik.

Dále byla provedena rovněž pilotní rekognoscace a komparace IR spekter těchto vzorků ve zprůměrované podobě. Z pilotního, vizuálního porovnání spekter lze, na základě kvalifikovaného odhadu, připustit existenci diferencí mezi mlékem nativním a po AR-PSB. Toto porovnání by mohlo v budoucnosti posloužit jako základ derivace pro vývoj výpočtu, tedy kalibrace, k odhadu a detekci aplikace nežádoucího postupu AR-PSB v praxi metodou MIR-FT.

Závěr

Subklinická mastitida je snadno a operativně detekovatelná rychlými testy a rutinními analýzami PSB. To umožnilo v minulosti prevenci v technologii a i selekci mléka omezovat její negativní vlivy na dodavatelské mléko. Také ketózní mléko poškozuje technologické vlastnosti. Operativní detekce subklinické ketózy při dojení je problematická. Z toho důvodu jde toto mléko na zpracování se svým inherentním negativním vlivem. Toto negativum je však výrazně nižší, než by bylo u PSB. Tato situace se nedávno změnila možností komerční intervence manipulační technologie centrifugační redukce PSB mléka do kvalitativního systému v prvovýrobě. Tak opět i mastitidní mléko, po odejmutí určité proporce PSB, může dospět, přes monitoring PSB a kvalitativní omezení, ke zpracování se svým vysokým negativním technologickým účinkem a ohrozit tak produkci mléčných potravin s vyšším podílem přidané hodnoty. Odejmutí PSB zvyšuje kvalitu mléka jen zdánlivě pro jeho komerční realizaci, nikoliv však správnou technologickou a zdravotní realizaci u humánních konzumentů. Jedná se tak o nežádoucí intervenci do systému kontroly potravinářské kvality, kterou je nutno řešit.

Z uvedených důvodů byl realizován uvedený metodický postup a výsledky. Touto analýzou pokusných výsledků vlivu umělé redukce PSB na vlastnosti mléka byl vytvořen modelový a simulační metodický postup pro hledání a vývoj metod k odhalování umělé redukce počtu somatických buněk v syrovém mléce. Závěry této pilotní studie tedy byl příští metodicko-experimentální postup výzkumného projektu QK 21010212 technicky validován.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu MZe NAZV Země QK 21010212.

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., GIANESSELLA, 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.
- BUCEK, P. (2021): Výsledky kvality nakupovaného mléka v roce 2020 – podle analýz bazénových vzorků. Hradištko, Českomoravská společnost chovatelů, 16 s. (on-line). Staženo 29. 7. 2021. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/getattachment/5dd44149-f808-42e0-9dbe-0b7e5ec6321c/Vysledky-kvality-nakupovaneho-mleka-v-roce-2020.pdf.aspx?lang=cs-CZ>.
- BUCEK, P., KUČERA, J., SYRŮČEK, J. et al. (2020): Ročenka – Chov skotu v České republice. Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2019. Praha, ČMSCH a. s., 69 s. (on-line). Staženo 28. 7. 2021. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/plemenarska-prace/ku-kontrola-uzitkovosti/chovatel-ske-rocenky/rocenky-chovu-skotu/>.
- COPPA, M., FERLAY, A., CHASSAING, C., AGABRIEL, C., GLASSER, F., CHILLIARD, Y., BORREANI, G., BARCAROLO, R., BAARS, T., KUSCHE, D., HARSTAD, O. M., VERBIČ, J., GOLECKÝ, J., MARTIN, B. (2013): Prediction of bulk milk fatty acid composition based on farming practices collected through on-farm surveys. *Journal of Dairy Science*, 96, 7, s. 4179-4211.
- COPPA, M., FERLAY, A., LEROUX, CH., JESTIN, M., CHILLIARD, Y., MARTIN, B., ANDUEZA, D. (2010): Prediction of milk fatty acid composition by near infrared reflectance spectroscopy. *International Dairy Journal*, 20, 3, s. 182-189.
- COPPA, M., REVELLO-CHION, A., GIACCONE, D., FERLAY, A., TABACCO, E., BORREANI, G. (2014): Comparison of near and medium infrared spectroscopy to predict fatty acid composition on fresh and thawed milk. *Food Chemistry*, 150, s. 49-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.087>
- DOLEŽAL, O. et al. (2000): Složení a kvalita mléka. Odborná publikace „Mléko, dojení, dojírny“, kap. 4 Agrospoj Praha, s. 239.
- DUCHÁČEK, J., STÁDNÍK, L., PTÁČEK, M., BERAN, J., OKROUHLÁ, M., GAŠPÁŘÍK, M. (2020): Negative Energy Balance Influences Nutritional Quality of Milk from Czech Fleckvieh Cows due Changes in Proportion of Fatty Acids. *Animals*, 10, 563. doi:10.3390/ani10040563
- HANUŠ, O., BEBER, K., FICNAR, J., GENČUROVÁ, V., GABRIEL, B., BERANOVÁ, A. (1993): Vztahy mezi kysací schopností bazénového kravského mléka, jeho složením a obsahem některých metabolitů. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 38, 7, s. 635-644.
- HANUŠ, O., GAJDŮŠEK, S., BEBER, K., FICNAR, J., JEDELSKÁ, R. (1995): Složení a technologické vlastnosti mléka od dojníc ve střední části laktace a jejich vzájemné vztahy. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 40, 12, s. 555-561.
- HANUŠ, O., NĚMEČKOVÁ, I., RYSOVÁ, L., LEGAROVÁ, V., KOPECKÝ, J. (2019): Možnosti identifikace falšování syrového mléka. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 30, 177, 6, s. 1-7.
- HANUŠ, O., RYSOVÁ, L., NĚMEČKOVÁ, I., LEGAROVÁ, V., KUČERA, J., KLIMEŠOVÁ, M., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J., NEJESCHLEBOVÁ, L. (2020): Změny technologických vlastností mléka malých přežvýkavců v důsledku falšování mlékem kravským. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 31, 183, 6, s. 4-13.
- HANUŠ, O., ŘÍHA, J., SAMKOVÁ, E., LEDVINA, D., CHLÁDEK, G., KUČERA, J., ROUBAL, P., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2014): A comparison of result reliability for investigation of milk composition by alternative analytical methods in Czech Republic. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*, 62, 5, s. 929-937.
- HEJLIČEK, K. et al. (1987): Mastitidy skotu. SZN Praha, s. 201.
- ILLEK, J. et al. (DVOŘÁK, Z., JEŘÁBKOVÁ, J., KVAPILÍK, J., PRAŠEK, J., VĚŘÍŠ, M., VLČEK, M.; 2014): Mastitidy skotu, Česká buiatrická společnost, s. 64.
- JANŮ, L., HANUŠ, O., BAUMGARTNER, C., MACEK, A., JEDELSKÁ, R. (2007): The analysis of state, dynamics and properties of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 10, 3, s. 74-85.

- KŘÍŽOVÁ, L., HANUŠ, O., HADROVÁ, S., KUČERA, J., SAMKOVÁ, E., ROUBAL, P., VESELÝ, A. (2014): Composition, physical and technological properties of raw milk as affected by cattle breed, season and type of diet. *Annals of Animal Science*, 14, 3, s. 721-736.
- 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, 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, 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, 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, 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.
- PAPAJOVÁ, H. (1983): Vplyv počtu somatických buniek v mlieku na niektoré jeho technologické vlastnosti. Čiastková správa, Výskumný ústav mliekařenský, Žilina, 1983.
- PEREIRA, C. G., LUIZ, L. C., BELL, M. J. V., ANJOS, V. (2020): Near and Mid Infrared Spectroscopy to Assess Milk Products Quality: A Review of Recent Applications. *HSAO Journal of Dairy Research and Technology*, 3, s. 014, DOI: 10.24966/DRT-9315/100014.
- 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.
- RENEAU, J. K. (1986): Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, 69, s. 1708-1720.
- RENEAU, J. K., APPLEMAN, R. D., STEURNAGEL, G. R., MUDGE, J. W. (1983, 1988): Somatic cell count. An effective tool in controlling mastitis. *Agricultural Extension Service*, University of Minnesota, AGFO-0447.
- RYSANEK, D. a BABAK, V. (2005): Bulk tank milk somatic cell count as an indicator of the hygiene status of primary milk production. *Journal of Dairy Research*, 72, s. 400-405.
- RYSANEK, D., BABAK, V., ZOUHAROVA, M. (2007): Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinarni Medicina*, 52, 2007, 6, s. 223-230.
- SAMKOVÁ, E. et al. (2012): Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN: 978-80-7394-383-7, s. 240.
- SAMKOVÁ, E., ŠPIČKA, J., HANUŠ, O., ROUBAL, P., PECOVÁ, L., HASONOVÁ, L., SMETANA, P., KLIMEŠOVÁ, M., ČÍTEK, J. (2020): Relationship between mid-infrared spectroscopy and gas chromatography results to determine the fatty acid profile of cow milk. *Animals*, 10, 6, 1095. <https://doi.org/10.3390/ani10061095>.
- SEYDLOVÁ, R. (2005): Dezinfekce v prvovýrobě mléka. *Náš chov*, 8, s. 6-8.
- SEYDLOVÁ, R. (1997): Nové poznatky a postupy snižování počtu somatických buněk v tradičních stájích. Problematika prvovýroby mléka XX, Sborník, s. 75-78.
- SHARIF, A., a MUHAMMAD, B. (2008): Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production: a review. *Pakistan Veterinary Journal*, 28, 4, s. 194-200.
- SHOOK, G. E. (1982): Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. *National Mastitis Council*, Louisville, Kentucky, s. 1-17.
- SOYEURT, H., DARDENNE, P., DEHARENG, F., LOGNAY, G., VESELKO, D., MARLIER, M., BERTOZZI, C., MAYERES, P., GENGLER, N. (2006 a): Estimating fatty acid content in cow milk using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 89, 9, s. 3690-3695.
- SOYEURT, H., DARDENNE, P., GILLON, A., CROQUET, C., VANDERICK, S., MAYERES, P., BERTOZZI, C., GENGLER, N. (2006 b): Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *Journal of Dairy Science*, 89, 12, s. 4858-4865.
- SOYEURT, H., DEHARENG, F., GENGLER, N., MCPARLAND, S., WALL, E., BERRY, D. P., COFFEY, M., DARDENNE, P. (2011): Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. *Journal of Dairy Science*, 94, s. 1657-1667.
- ŠKARDA, J., HEMROVÁ-ŠEDINOVÁ, V., URBANOVÁ, E., ŠKARDOVÁ, O. (1990): Dynamika počtu somatických buněk v mléce dojníc. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 35, 1, s. 45-57.
- TICHÁČEK, A. et al. (2007): Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Agritec, Šumperk, ISBN 978-80-903868-0-8, s. 88.
- WENDT, K. et al. (1994): Zu hoher Zellgehalt in der Herdensammelmilch – wie kann geholfen werden? AG Melken und Melktechnik, Informationen WGM, e. V., s. 1-12.

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

Přijato do tisku: 11. 11. 2021

Lektorováno: 18. 11. 2021

MIKROBIOM NÁPOJŮ ZE SLADKÉ SYROVÁTKY

**Renáta Karpíšková^{1,5}, Tereza Gelbíčová^{1,5},
Alžběta Kalová², Eva Šviráková³, Leona Buňková⁴,
Irena Němečková⁵**

¹ Masarykova univerzita

² Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

³ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

⁴ Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

⁵ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Microbiome of drinks from sweet whey

Abstrakt

Tato práce se zabývá složením mikrobiomu a zdravotní mikrobiologickou bezpečností neochucených i ochucených nápojů ze sladké syrovátky. Metagenomická analýza byla zaměřena na stanovení diverzity mikrobiomu syrovátkových nápojů. Mikrobiom byl analyzován nekultivační metodou sekvenování celkové DNA extrahované ze vzorků. Tento přístup umožňuje detekci DNA širokého spektra bakterií, ale i dalších mikroorganismů, neposkytuje však informaci o životaschopných bakteriích. Metagenomická analýza je vhodným nástrojem umožňujícím také sledování změn mikrobiomu v průběhu technologického zpracování a skladování potravin a stanovení jejich optimální doby udržitelnosti. V této pilotní studii bylo prokázáno, že přírodní a ochucené syrovátky