



**Interní, faremní standard kvality syrového mléka
malých přežvýkavců
(CM – Složky ovce a kozy)**

(typ výsledků „Nmet“ – Metodika)

Zpracovali:

doc. RNDr. Marcela Klimešová, Ph.D., prof. Ing. Hanuš Oto, Ph.D.,

Ing. Irena Němečková, Ph.D., Ludmila Nejeschlebová, Radoslava Jedelská, Jaroslav Kopecký

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

Rok vydání 2020

ISBN 978-80-88390-00-8

Ostatní

Pro Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. vydal a vyrobil MILCOM a.s.,
Ke Dvoru 12a, Praha 6, 16000

Formát: PDF

Zveřejněno na webové stránce

http://www.vumlekarensky.cz/upload/soubory/metodiky/cm_slozky_ovce_a_kozy_2020.pdf

1. Vydání 2020

ISBN 978-80-88390-00-8

Podíl autorů na tvorbě certifikované metodiky

doc. RNDr. Marcela Klimešová, Ph.D. - 40 %

prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D. – 40 %

Ing. Irena Němečková, Ph.D. - 5 %

Ludmila Nejeschlebová – 5 %

Radoslava Jedelská – 5 %

Jaroslav Kopecký - 5 %

Jména oponentů a organizace pro vydání osvědčení

- 1) Odborník z daného oboru: Mgr. Ing. Ludmila Křížová, Ph.D., Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav výživy zvířat, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno: krizoval@vfu.cz
- 2) Pracovník státní správy: Ing. Zdenka Majzlíková, Česká plemenářská inspekce, Slezská 100/7, 120 00 Praha 2: majzlikovaz@cpins.cz

Dedikace na projekt

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1420.

Obsah

Úvod a současný stav problematiky

- 1) Cíl metodiky
- 2) Vlastní popis metodiky
 - 2.1. Kvalita mléka malých přežvýkavců
 - 2.2. Metodický postup stanovení kvalitativních limitů
- 3) Srovnání novosti
- 4) Popis uplatnění
- 5) Ekonomické aspekty
- 6) Seznam použité související literatury
- 7) Seznam publikací, které předcházely metodice
- 8) Příloha 1. Analytické metody běžného praktického stanovení vybraných ukazatelů kvality syrového mléka
- 9) Příloha 2. Použité zkratky

Úvod a současný stav problematiky

Možný potenciál mléka malých přežvýkavců

Při totální převaze konzumace kravského mléka v lidské populaci oproti ostatním druhům mlék (např. v ČR 100 : 0,005; Kvapilík a kol., 2019; Bucek a kol., 2019) lze pozorovat různé druhy alergií nejen na laktózu, ale také na některé formy bílkovin kravského mléka. Proto náhrada konzumace kravského mléka jinými druhy, např. kozím, které pro některé indikované případy může mít vhodnější spektrum bílkovin (např. absenci alfa-s1-kaseinu), je považována za alternativní řešení. Je zřejmé, že při opačné situaci ve spotřebě, ve smyslu tradičního a alternativního mléka, by jiné druhy alergií mohly být řešeny opačnou substitucí (kozího nebo jiného za kravské atp.). Alergie některých lidí na kravské mléko tak není v žádném případě důvodem jeho zatracování jako důležitého zdroje zdravé racionální výživy.

K hypoalergennímu působení kozího mléka na konzumenty bylo uvedeno, že syrovátkové beta-albuminy kravského mléka mohou být cizorodým faktorem, který u vnímavých jedinců spouští sérii alergických reakcí již v období kojenecké výživy (Podhorský, 1993). Další názor zmiňuje, že jednou z příčin hypoalergenních vlastností kozího mléka může být absence alfa-s1-kaseinu podobně jako u ženského mléka Boroš (1994). Při srážení přítomného beta-kaseinu při pH 4 pak vzniká v žaludku novorozenců, narozdíl od alfa-kaseinu, snadněji fermentovatelná, jemnější sraženina, což je jednou z příčin lepší stravitelnosti. Někteří autoři navrhovali redukovat vyšší alergenitu kravského mléka vyloučením nebo snížením obsahu alfa-s1-kaseinu (Nakai a Li-Chan, 1987). Takové ošetření u kozího mléka však není potřebné. Ze skladby bílkovin kozího mléka bylo zjištěno vyšší zastoupení síru obsahujících esenciálních aminokyselin, což předurčuje mírně vyšší biologicko-nutriční hodnotu v porovnání ke kravskému (Boroš, 1988). V kozím mléce byly zjištěny vyšší obsahy treoninu o 31,5 %, glycinu o 39,2 %, prolinu o 30,3 %, histidinu o 12,1 %, kyseliny asparágové o 11,6 %, kyseliny glutamové o 12,4 %, serinu o 16,3 %, a naopak nižší obsahy metioninu o 50,2 %, argininu o 22,4 % a tyrozinu o 16,4 %. Obsah esenciálních aminokyselin byl v kozím mléce vyšší o 0,92 g na 100 g bílkovin. Poněkud lehčí stravitelnost kozího mléka je také přičítána menším tukovým kuličkám kozího mléka, což určuje relativně větší povrchovou plochu a lepší přístupnost tuku metabolickým reakcím lipáz (Hrušovský, 1988; Mátlová, 1992). Uvedené je důvodem pro pomalejší vyvstávání tukového prstence. Příznivou roli může při hypoalergenním působení kozího mléka sehrávat i přirozeně nižší obsah laktózy oproti mléku kravskému (cca 4,4 < 4,8 %). To však samo o sobě může vysvětlit jen zanedbatelnou část zmíněného hypoalergenního efektu. Naproti tomu pro kravské mléko v humánně-nutričních

otázkách hovoří obvykle vyšší obsahy Ca (asi o 25 %), Fe, Cu a Mn (o 20 až 40 %) a výrazně více prekurzorů vitamínu A, beta-karotenů. Jen u Fe nejsou výsledky jednotné. Neexistuje obecný závěr zmíněné preferenční otázky a nabízejí se pouze určité specificky výhodnější varianty řešení případných problémů výživy. Pro výživu kojenců a batolat se však kromě mateřského nehodí žádné mléko v nativní formě, ale pouze formule z něj připravené podle platných kritérií EPSGHAN (European Pediatric Society for Gastroenterology, Hematology and Nutrition).

Ovčí mléko obsahuje ve srovnání s mlékem kravským více tuku, laktózy, bílkovin a obsah sušiny (Balthazar a kol., 2017). Dále má ovčí mléko příznivé spektrum mastných kyselin. Jedná se především o n-3 mastné kyseliny s krátkým a středním řetězem a konjugovanou kyselinu linolovou-CLA, její obsah se mění dle výživy ovce (Dragounová a Hejtmánková, 2006). Ovčí mléko obsahuje vysoký podíl kyseliny máselné. Mastné kyseliny se středním řetězcem obsažené v ovčím mléce jsou pro lidský organismus snadno stravitelné a mohou se uplatnit při léčení nemocí trávicího traktu. Zvýšené podíly n-3 kyselin se projevují vytvářením eikosanoidů řady n-3 s příznivými protizánětlivými, antitrombotickými a tuky snižujícími účinky. Předpokládá se, že odlišné složení mastných kyselin vede k lepší absorpci laktózy, což je prospěšné pro lidi s mírnou laktózovou intolerancí (Dragounová a Hejtmánková, 2006). Ovčí mléko má rovněž vysoký obsah minerálních prvků jako např. vápník, železo, hořčík, fosfor, zinek, měď a mangan (Balthazar a kol., 2017). Obsah vápníku je o 70 % až 77 % vyšší než v kravském mléce, čímž může ovčí mléko příznivě působit proti osteoporóze (Dragounová a kol. 2020; Balthazar a kol., 2017). Protože ovčí mléko obsahuje průměrně až čtyřnásobné množství zinku ve srovnání s mlékem kravským, je vhodné pro léčení astmatu, ekzémů a jiných kožních chorob (Dragounová a kol., 2020). Ovčí mléko má také vyšší obsah vitamínů A1 (retinol), B1 (thiamin), B2 (riboflavin) a E (tokoferol E) než mléko kozí a kravské (Balthazar a kol., 2017).

Význam analýz kvality syrového mléka

Syrové mléko je významná potravinová surovina. Podle země nebo lokálních podmínek je více nebo méně při výkupu placeno podle kvality, která je definována normami a v důsledku toho celou řadou mléčných ukazatelů (např. celkový počet mikroorganismů, počet somatických buněk, obsah tuku a bílkovin, bod mrznutí mléka atd.). Podle dojivosti, některých složek a vlastností mléka se také šlechtí dojená plemena (metody populační genetiky) na produkci a složení mléka, efektivitu mléčné produkce nebo zdravotní stav zvířat, resp. jejich rezistenci vůči produkčním chorobám (např. mastitidám). Výsledky referenčních a

rutinních analýz mléka jsou tedy konkrétně využívány pro řadu zdravotních a hospodářských účelů a činností:

- pro kontrolu kvality surovin v potravinářství a potravin v humánní výživě, tedy bezpečnost potravinových řetězců;
- pro zpeněžování mléka podle kvality na rozhraní prvovýroby a zpracovatelského průmyslu;
- pro účely řízení zpracovatelských technologických procesů a kontroly jejich výtěžnosti, tedy efektivity;
- pro účely hospodářsky determinované selekce při šlechtění mléčných plemen zvířat a následně pro obchod s plemenným materiálem;
- pro kontrolu v rámci prevence nedostatků základní (energeticko-dusíkaté) vyváženosti výživy laktujících samic i zhoršení jejich zdravotního stavu;
- pro poradenství v prvovýrobě mléka a tedy pro podporu provozní jistoty chovatelů zvířat a zpracovatelů mléka;
- v neposlední řadě i pro stanovení podmínek světového obchodu s mlékem.

Z uvedeného výčtu je zcela zřejmé, že systém referenčních a rutinních mléčných laboratoří hraje významnou, ne-li zásadní, roli v podpoře kvality a bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Sledování a vyhodnocování kvality syrového mléka pomáhá plnit důležitou společenskou zakázku (Baumgartner a kol., 2000). Bezpečnost a kvalita mléčného potravinového řetězce jsou důležitými aspekty ochrany veřejného zdraví.

Podle průzkumů spotřebního koše jsou také často mléčné výrobky označovány konzumenty za jedny z nejdůvěryhodnějších ohledně potravinové bezpečnosti. Mléčný potravinový řetězec je rovněž jedním z nejbezpečnějších, pravděpodobně nejčastěji kontrolovaný, z následujících reálných důvodů ve smyslu:

- 1) počtu rutinně sledovaných kvalitativních mléčných parametrů – mikrobiologických, chemických, fyzikálních, technologických;
- 2) pravidelnosti a relativně vysoké frekvenci zmíněných vyšetření;
- 3) většinou biologického nebo biochemického charakteru těchto kontrol (např. rezidua inhibičních látek (RIL): „Co škodí mikroorganismu, může poškozovat i fyziologické funkce konzumenta”).

Nicméně, specificky, v podmínkách ČR, s ohledem na rozsah a ekonomický význam výroby, kvalita mléka malých přežvýkavců není tak frekventně kontrolována, jako kvalita mléka kravského a návrh této metodiky má právě přispět k posílení kontroly této kvality v podmínkách menších farem s lokálním zpracováním suroviny a přímou produkcí mléčných výrobků.

Rámcová definice základních kvalitativních ukazatelů syrového mléka

Počet somatických buněk (PSB)

PSB je suma jaderných buněčných útvarů v mléce (velikost v průměru obvykle > 4 mikrometry). Stanovuje se po předchozím barvení cytoplazmy, membrán, ale zejména jader, buď přímým počítáním preparátu pod mikroskopem nebo na automatických průtočných přístrojích typu fluorescenčních opticko-elektronických mikroskopů jako Fossomatic nebo Somacount. Orientačně lze ke stanovení PSB s úspěchem využít také stájové testy založené na Schalm-Noorlanderově viskozigenní reakci, k níž dochází po smísení mléka s detergentem (u nás NK test). PSB je tvořen zejména buňkami bílé krevní řady. Dále artefakty buněk sekrečního epitelu a dlaždicovitého epitelu mléčné žlázy. PSB je jednak hygienickým ukazatelem, ale zejména, jak již bylo naznačeno, technologickým ukazatelem a zdravotním ukazatelem vemene, neboť se zvyšuje s výskytem a vzrůstem intenzity především infekčního zánětlivého procesu (mastitidy).

Prevence zvýšených PSB spočívá zejména v důsledném dodržování hygienických pravidel a režimů při dojení a v respektování zásadních pravidel kontrolního mastitidního programu. Mezi tyto v neposlední řadě patří pravidelná péče o bezvadný funkční stav dojicího zařízení.

Celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM)

Do CPM v mléce zahrnujeme všechny mezofilní aerobní mikroorganismy, které jsou schopné růstu na kultivační půdě při 30 °C (Gajdůšek, 2003). Dle nařízení ES č. 853/2004 syrové mléko malých přežvýkavců určené k výrobě konzumního tepelně ošetřeného mléka nebo mléčných výrobků nesmí přesáhnout hodnotu 1 500 000 KTJ/ml (bere se geometrický průměr za dobu 2 měsíců s nejméně 2 vzorky za měsíc) a nesmí překročit limit pro mléko určené pro výrobu výrobků ze syrového mléka postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu $\leq 500\,000$ KTJ v 1 ml. Vazba mezi CPM a ostatní nežádoucí mikroflórou mléka je znázorněna v Obrázku 1.

Koliformní bakterie (KB)

KB je doplňkový kvalitativní znak mléka. Stanovují se rovněž kultivačně. Většina zemí však KB nevyhodnocuje. ČSN 57 0529 (tento potravinářský legislativní předpis je sice již nezávazný a neplatný, nicméně má stále svou technickou hodnotu jako referenční standard pro účely srovnávací) stanovuje u kravského syrového mléka maximální hodnotu KB 1000 CFU/ml. Charakterizují stejně jako CPM celkovou hygienicko-sanitační úroveň získávání mléka. Dřívější názor, že jde výhradně o fekální znečištění mléka, patří k minulosti, neboť je dobře doloženo, že jsou schopny přežívat i v nekvalitně sanitovaném potrubí dojicího

zařízení. Navíc jsou trvale rozšířeny v lidském ekosystému. Prevence vysokých počtů KB je stejná jako pro CPM (Hanuš a kol., 2004).

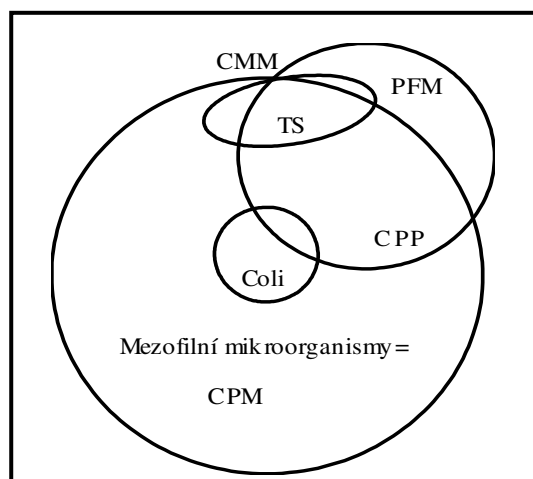
Psychrotrofní mikroorganismy

Psychrotrofní mikroorganismy hrají významnou roli v celkovém počtu mikroorganismů v mléce a během nízkých teplot jsou schopny růstu a mohou pak tvořit 79 - 100 % celkové bakteriální mikroflóry mléka (Vyletělová a kol., 1999a). Zahrnují především aerobní gram-negativní tyčinky a významnou část tvoří bakterie z rodů *Pseudomonas*, *Flavobacterium* a *Alcaligenes* (Vyletělová a kol., 1999b; Vyletělová a kol., 2000b). Jejich růst je možný i při teplotách kolem 4 °C, optimální teplota je kolem 20 °C. Bakterie produkují proteolytické a lipolytické enzymy, které způsobují chuťové vady mléka (Vyletělová a kol., 2000c). Pasterací jsou však buňky eliminovány (Vyletělová a kol., 2000a; Montville a Matthews, 2008). Jejich maximální počet v mléce by neměl překročit limit 50 000 KTJ/ml (Görner a Valík, 2004).

Sporotvorné aerobní a anaerobní bakterie

Narozdíl od vegetativních forem spory přežívají pasterační záhřev a mohou způsobovat vady zrajících tvrdých sýrů. Při nedostatečné sterilaci způsobují vady trvanlivého či kondenzovaného mléka (Kadlec a kol., 2009). Kultivační teplota kolísá od -5 °C do 75 °C. Většina z nich roste aerobně při teplotě kolem 30 až 37 °C (*Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. sporothermodurans*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. luteus*, *B. lentus*, *B. fusiformis*, *B. badius*, *B. sphaericus*, *Paenobacillus pabuli*, *P. glukanoliticus* a další), ale jsou tu i zástupci termotolerantních 45 až 55 °C (*B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. badius* a další) a psychrotrofních organismů 4 až 6,5 °C (*B. weihenstephanensis*) (Vyletělová a kol., 2001, 2002; Páčová a kol., 2003). Mezi anaerobní spoluráty řadíme *Clostridium botulinum*, *C. tyrobutyricum* a *C. sporogenes*. Spory se stanovují po tepelné úpravě 80 °C 10 minut, kdy jsou ostatní nesporeující bakterie a vlastní vegetativní formy usmrceny. Přítomnost těchto bakterií v 0,1 ml mléka musí být negativní. (Görner a Valík, 2004).

Obrázek 1. Schéma možného technologicko-fyziologického dělení základní případně normované (ČSN 57 0529) kontaminující mléčné mikroflóry (podle Hanuš a kol., 2004).



CMM celková mikroflóra mléka
 CPM celkový počet mikroorganismů
 CPP celkový počet psychrotrofů

PFM psychrofilní mikroorganismy
 TS termorezistentní sporuláty
 Coli koliformní bakterie

Rezidua inhibiční látek v mléce (RIL)

V terénu se RIL v mléce rutinně stanovují (základní screening) pomocí zpravidla barevně reagujících mikrobiologických testů na bázi *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (*Geobacillus stearothermophilus*), který je extrémně citlivý na antibiotika, zejména však penicilin. Pro oddělení případných pozitivních nálezů RIL způsobených přirozenými inhibičními látkami v mléce, např. gama-globuliny, je nezbytné vyšetřovat vzorky syrového mléka výhradně až po jejich pasteraci, neboť přirozené RIL jsou termolabilní. Případný pozitivní nález RIL v bazénovém mléce znamená finanční penalizaci a často zastavení odběru dodávek mléka až do zjednání nápravy. K ohlášení pozitivního výsledku na RIL je nezbytné potvrdit první pozitivní nález druhým opakovaným pozitivním vyšetřením, neboť testy vykazují ve výsledcích jisté procento tzv. falešně pozitivních (ale i falešně negativních) nálezů. Někdy může být potřebná tzv. confirmace výsledku, tzn. pokus o určení konkrétního původu RIL ve vzorku náročnějšími metodami, jako jsou scintilačně-mikrobiologicko-imunologické, elektroforetické, chromatografické atd. Nežádá se taková specifikace značně obtížná a finančně náročná.

Prevence záhytu RIL v mléce proto spočívá především v pečlivé evidenci antibioticky ošetřených zvířat, vyřazování jejich mléka, dodržování ochranných lhůt léčiv, ale zejména v individuální kontrole přeláčených krav na negativní RIL před zařazením jejich mléka zpět do dodávky.

Například zlepšení v RIL u syrového kravského mléka v posledním období (2001 - 2018) dosáhlo 85,7 % (z 0,35 na 0,05 %; Kvapilík a kol., 2007, 2019). Jedná se o doklad zvládnutí technologie kontroly výskytu reziduí léčiv a dalších případně škodlivých látek v mléce. Trend je výrazný, významný a pozitivní ve smyslu potravinové bezpečnosti a mlékařské technologie (Hanuš a kol., 2019).

Obsah tuku v mléce (T)

Mléčný tuk je jedním z nejkomplicovanějších přírodních tukových komplexů. Dříve býval jedním z hlavních kvalitativních ukazatelů mléka. Dnes, vzhledem k vývoji humánních dietetických pravidel, tento význam poněkud ztrácí. Se zřetelem k nedávným objevům ochranných faktorů mléčného tukového komplexu proti zhoubným onemocněním (konjugovaná kyselina linolová, typická pro přežvýkavce) možná i neoprávněně. Dříve rovněž býval jedním z hlavních selekčních kritérií při zušlechťování mléčného skotu. I tato role je dnes omezena. V mléce se nachází v podobě tukových kuliček (velkých v průměru 0,5 až 10 mikrometrů nejčastěji však 2,5 - 3,5) obalených proteinovými membránami, neboť do mléka je uvolňován prostřednictvím apokrinní sekrece v sekrečním epitelu alveolů mléčné žlázy. Jeho obsah v mléce závisí zejména na plemeni krav, dojivosti, sezóně, krmení a stadiu laktace. Nejvyšší obsahy tuku v mléce vykazují jak známo plemena Jersey a Guernsey, střední obsahy plemena s kombinovanou užitkovostí a nejnižší pak mléčná plemena skotu. Současné průměrné obsahy v dodavatelském mléce v ČR jsou v tab. 3. ČSN 57 0529 stanovila minimální obsah tuku v mléce 33 g/l.

Chemicky je mléčný tuk z 98 % směsí převážně triglyceridů a minoritně i diglyceridů mastných kyselin. 1 až 2 % tvoří jiné lipidy jako lecitin, cholesterol (0,010 - 0,015 %), karotenoidy a vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E). V mléčném tuku se vyskytuje 11 hlavních mastných kyselin se sudým počtem uhlíků (C_4 až C_{18}). Asi 33 % triglyceridů je tvořeno nenasycenými mastnými kyselinami a 67 % nasycenými. Nejvíce zastoupené jsou kyseliny olejová, palmitová, myristová a stearová. Většina mléčného tuku se tvoří v mléčné žláze z nízkomolekulárních mastných kyselin, které jsou produktem bacherového zkvašování cukernatých složek.

V praxi se k určení obsahu mléčného tuku nejčastěji používají metody acidobutyrometrická (podle GERBERA) a extrakčně-gravimetrická (podle Röse-Gotlieba). Dále pak nepřímá automatizovaná infraanalýza mléka (Milko-Scan, Bentley 2000 atd.). Tyto musí být kalibrovány na metody přímé. Obsah tuku se vyjadřuje v ČR v objemových procentech g/100ml (g/1000ml) jak je udává Gerberova metoda. Ve světě se však vyjadřuje v

hmotnostních procentech g/100g (g/1000g), jak je udává extrakční metoda nebo modifikovaná acidobutyrometrická metoda. Rozdíl na hladině 4,20 % tuku je 0,12 % daný průměrnou specifickou hmotností mléka ($1,03 \text{ g/cm}^3$). I v ČR jsou nyní již převážně používána hmotnostní procenta. Proto při srovnávání našich dřívějších obsahů tuku (cca do roku 2 000) v mléce s výsledky z jiných zemí je nezbytné zohlednit, že z uvedeného důvodu jsou naše výsledky nadhodnoceny oproti jiným.

Není-li mléko odpovídajícím způsobem chladově uloženo, může dojít k rychlému rozkladu tuku (lipolýze) působením přirozených popř. bakteriálních lipáz v důsledku mikrobiální kontaminace. Avšak lipolýzu, oddělování mastných kyselin z mléčného tuku, mohou iniciovat i jakákoliv neúměrná mechanická nebo tepelná namáhání mléka, která jsou z tohoto důvodu nežádoucí. Zvýšení obsahu volných mastných kyselin v mléce v důsledku lipolýzy může být příčinou znehodnocení mléka jako suroviny, tzn. technologických problémů při zpracování, sensorických vad mléčných výrobků a případně dietetických rizik pro konzumenty.

Obsah tuku v mléce ovlivňuje zejména skladba krmné dávky krav. Především obsah vlákniny a její struktura ovlivňují obsah tuku v mléce, kdy nedostatek vlákniny nebo její nedostatečná strukturovanost snižují obsah tuku. Stejně tak klesá při rostoucí dojivosti plemen a první půli laktace krav. Podobně jsou známé poklesy při přechodu na pastvu a letní krmení. Obsah tuku naopak fyziologicky vzrůstá ke konci laktace. Proměnlivý, vlivem sekrece mléka a spouštění mléka, je i během dojení, kdy od začátku do konce dojení fyziologicky vzrůstá z cca 2 % až na 10 %. Nefyziologické zvýšení obsahu tuku v mléce bývá pozorováno v individuálních vzorcích mléka při kontrole mléčné užitkovosti. Je tomu tak tehdy, když dojde k deficitu krav při jejich negativní energetické bilanci, zpravidla v počátku laktace. Dojnice současně odbourávají energetické tukové tělesné rezervy, které mohou zvýšit obsah tuku v mléce. Tento jev je tedy provázen tzv. ketózou jako produkčním onemocněním. Další změny v obsahu tuku v mléce mohou být spojeny s výskytem některých dalších produkčních onemocnění dojnic.

Obsah volných mastných kyselin v mléce (VMK)

Zvyšuje-li se obsah VMK v mléce, jde zpravidla o negativní jev lipolýzy - rozkladu mléčného tuku. Obsah VMK se tedy v mléce z nejrůznějších důvodů po nadojení zvyšuje. Mez příčiny patří, kromě jiného, vedle nedostatečné energetické výživy krav, nedostatečné hygieny krmení a dojení a případně následné mastitidy i neadekvátní mechanické nebo tepelné namáhání mléka.

Obvykle se obsah VMK v mléce rutinně stanovuje dvěma metodami - extrakčně-titrační a stlukem. Vyjadřuje se v mmol/kg mléčného tuku. ČSN 57 0529 stanovuje maximální přípustný obsah VMK v mléce 32,0 mmol/kg pro první a 13 mmol/kg pro druhou jmenovanou metodu, neboť tyto vykazují systematický metodický rozdíl v absolutní hladině dosahovaných výsledků. Zvyšování obsahu VMK v syrovém mléce jako potravinářské surovině je všeobecně nežádoucí. Při normální, ale zejména neadekvátně zvýšené, bakteriální kontaminaci mléka (především psychrotrofními mikroorganismy) může dojít k lipolýze i vlivem termostabilních lipáz po pasteraci mléka.

Je známo, že při hladinách VMK v mléce 49 a 20 mmol/kg tuku pro obě metody dochází již k sensorickým vadám mléka ve smyslu zhoršení chuťových vlastností. Obsah VMK může vzrůst i v důsledku neadekvátní výživy dojníc a odbourávání tělesných tukových rezerv dojníc. Prevencí zvyšování obsahu VMK v mléce je kvalitní výživa krav, dobrá hygiena dojení, odpovídající uložení mléka (chladové) a omezení mechanického a tepelného namáhání mléka (přečerpávání atd.) pouze na nejvýše nezbytnou míru.

Malý podíl mastných kyselin v mléce, které nejsou esterifikovány v triglyceridech, je volně rozptýlen hlavně v tukové a mírně ve vodné fázi a je označován za volné mastné kyseliny (VMK). Běžný obsah VMK u mléčného tuku leží mezi 0,5 až 1,2 mmol.100g⁻¹, maximální povolený je 13,0 mmol.kg⁻¹ pro metodu stlukem nebo 32,0 mmol.kg⁻¹ pro metodu extrakčně-titrační (ČSN 57 0529). Gerberova acidobutyrometrická metody zachycuje až 90 % obsahu VMK do tukového podílu mléka, naopak extrakčně-gravimetrická metoda podle Roesse-Gottlieba VMK do tukového podílu nezahrnuje tak spolehlivě, resp. ztrácí jich až 70 %.

Zvýšení VMK znamená negativní vlivy typu lipolýzy, obvykle z důvodů metabolických problémů dojnice nebo mikrobiální kontaminace. Zvýšená koncentrace VMK způsobuje zhoršení technologických vlastností mléka, ale hlavně zhoršení smyslových (sensorických) vlastností mléka, chuti a vůně. Uvedené má za následek nahořklou pachů, jež může poškodit kvalitu mlékárenských výrobků. Destrukce tuku je jevem zapříčiňovaným v mléce přirozenými enzymy (lipázami) nebo lipázami dodanými bakteriální kontaminací mléka (Vyletěllová a kol., 2000a, 2000b). Lipolýza je proto spontánní nebo indukovaná. Lipázy přitom mohou být termorezistentní a projevit se tak i po tepelném ošetření mléka rozkladem mlékárenských výrobků. Nešetrné zacházení s mlékem, jako časté čerpání a čerání při manipulaci a namrzání, navozuje rovněž vlastní lipolýzu. Dodaná energie tepelná nebo mechanická do multikomponentního systému mléka porušuje blány tukových kapének a uvolňuje mastné kyseliny z esterické vazby triglyceridu. Proto proud mléka by neměl přesáhnout rychlost 1 až 1,5 m.s⁻¹. Nedostatečná hygiena ustájení a dojení krav, stejně jako

špatné uložení a ošetření syrového mléka, mohou vést k pomnožení nežádoucí psychrotrofní, termorezistentní a sporulující mléčné mikroflóry. Uvedené může zvýšit intenzitu lipolýzy.

VMK, směs lipolýzou uvolněných mastných kyselin z mléčného tuku nebo přešlých z krve, poměrově ovlivnitelná výživou zvířat, sezónou nebo jejich zdravotním stavem, je jako taková, striktně analyticky a tím molárně, těžko uchopitelná, vyjádřitelná nebo interpretovatelná. Analyticky se jedná o výsledek titru roztokem alkálie, který není v konstantním poměru k molárním koncentracím jednotlivých mastných kyselin. Jako konvenční interpretace však tento způsob vyjádření dobře vyhovuje praktickým mlékařským účelům. Hodnoty VMK mohou posloužit ke kontrole zdravotního stavu dojníc nebo kvality syrového mléka s ohledem na kvalitu a udržitelnost následných mléčných výrobků. Referenčními a rutinními metodami analýzy VMK mohou být tzv. metoda extrakčně-titrační, stluková, BDI nebo MIR a MIR-FT.

Obsah bílkovin v mléce (B)

Mléčné bílkoviny v průměru, v důsledku specifické aminokyselinové skladby, obsahují 15,67 % dusíku. Technologicky nejhodnotnější složkou je kasein tvořící přes 75 % bílkovin, což řadí kravské mléko a mléka malých přežvýkavců mezi mléka kaseinová. Většina mléčných bílkovin vzniká v buňkách sekrečního epitelu mléčné žlázy. Málo jich proniká z krve dojnice. Nutričně významné čisté bílkoviny jsou tvořeny bílkovinnými polymorfními systémy alfa s1 kaseinem, beta kaseinem, kapa kaseinem, beta laktoglobulinem a alfa laktalbuminem. Vyskytují se v mléce především v podobě kaseinových micel. Frakce uvedených systémů se dědí mendelisticky. Význam obsahu bílkovin v mléce vzrostl v důsledku rozvoje humánních dietetických pravidel a v důsledku toho zvýšení produkce sýrů. Dalším důvodem bylo zavedení rutinních analýz obsahu bílkovin v mléce v široké praxi. Je též významným kritériem pro proplácení mléka.

Rutinně se obsah bílkovin stanovuje přímou metodou dle Kjeldahla jako obsah dusíku. Tyto výsledky se pak používají ke kalibraci nepřímých postupů infraanalýzy (Milko-Scan, Bentley, atd.). ČSN 57 0529 stanovuje 28 g/l jako minimální obsah B pro standardní mléko. Obsah B v mléce je ovlivňován řadou faktorů: druh zvířete, výživa, plemeno, dojivost, sezóna, stadium laktace, pořadí laktace atd. Krávy plemene Jersey vykazují nejvyšší obsah bílkovin (3,70 - 3,85 %). Nejnižší naopak krávy plemene Holštýn (3,10 - 3,30 %), což je spojeno s jejich vysokou dojivostí, a krávy plemene České strakaté 3,30 - 3,45 %. Obvykle je nižší obsah bílkovin během léta, sezónní rozdíly se však snižují s všeobecným přechodem na celoroční krmení objemnými konzervovanými krmivky. Během laktace lze pozorovat nejnižší obsah ve vrcholu dojivostní laktační křivky (2. až 3. měsíc). Obsah B se zvyšuje ke konci laktace.

Zejména cenné jsou rutinní hodnoty obsahu B z individuálních vzorků mléka kontroly užítkovosti, neboť podle těchto lze odhadovat úroveň výživy zvířat. Tvorba bílkovin je energeticky náročná. Proto je možné dle obsahu bílkovin usuzovat na energetický a dusíkatý metabolismus. Např. nedostatky energie nebo dusíkatých látek jsou spojeny s nižšími obsahy B v mléce.

Obsah laktózy v mléce (L)

Disacharid (glukóza a galaktóza) laktóza je tvořen v mléčné žláze krav z 80 % z krevní glukózy a z 20 % z octanů. Obvyklý obsah L v mléce je 4,80 % (g/100g; %; monohydrát; obvyklé vyjadřování v ČR). To se rovná 4,57 % bezvodé laktózy. Tento rozdíl, cca 0,2 %, je důležitý při rutinních kalkulacích obsahu sušiny tukuprosté.

Obsah laktózy se stanovuje nejčastěji přímou metodou polarimetricky nebo redukčně a rutinně kalibrovanou nepřímou metodou infraanalýzy (Milko-Scan, Bentley, atd). Obsah laktózy kolísá především se stadiem a pořadím laktace, dojivostí a zdravotním stavem mléčné žlázy krav. Existuje negativní korelace mezi PSB a obsahem laktózy, která u individuálních vzorků mléka dosahuje hodnoty až -0,60. Fyziologické kolísání obsahu L u krav má rozpětí cca od 4,55 do 5,30 %. Hodnoty pod 4,55 % nebo 4,60 % často souvisí s mastitidním onemocněním, kdy z důvodu regulace osmotické rovnováhy v mléce je pak L nahrazována zvýšením chloridových iontů (zvýšením hodnoty chlórucukrového čísla). Obsah L v mléce je méně ovlivňován výživou a klesá až při silně restriktivní energetické výživě krav, kdy současně klesá i dojivost. Běžně však klesá s postupem laktace (pokles dojivosti) a s pořadím laktace (pravděpodobnost prodělání více mastitidních onemocnění). Do značné míry interferuje obsah L do hodnoty bodu mrznutí mléka (BMM), kdy laktóza tvoří cca 54 % jeho deprese. Technologicky je L zdrojem energie pro ušlechtilé mlékařské kultury bakterií mléčného kvašení.

Obsah sušiny tukuprosté (STP)

Je sumární ukazatel podléhající vlivům, které působí na jednotlivé hlavní složky STP: obsah bílkovin; obsah laktózy; obsah minerálních látek (popelovin). ČSN 57 0529 stanovuje minimální obsah STP 8,50 % (g/100g) pro standardní kravské mléko a představuje doplňkový ukazatel kvality pro zpeněžování. Přímou se stanovuje odpočtem tuku (g/100g) od gravimetrického určení celkové sušiny a rutinně jako kalkulovaný ukazatel nepřímými metodami podle vzorce $B + L + \text{popeloviny} = \text{STP}$. Je nutno sečíst obsah hrubých bílkovin, bezvodé laktózy a tzv. minerální konstantu. Ta činí za normálních okolností 0,72 g/100g.

Vzhledem k paušální korekci běžně měřeného monohydrátu L na bezvodou L však tato konstanta má činit cca 0,50 - 0,53 %. Uvedené je možné na poskytovaných výsledcích ověřit zpětným odpočtem.

Obsah STP v mléce rozhoduje o výtěžnosti některých zpracovatelských technologií. Byl též používán jako nepřímý ukazatel pro vyslovení podezření na případné zvodnění kravského mléka (< 8,50 %). Tento odhad je však z řady důvodů značně nepřesný a dnes není často prosazován. Nežádoucně snížené hodnoty STP lze obecně spojovat s: příměsí cizí vody; nedostatkem energie ve výživě krav; nedostatkem dusíkatých látek ve výživě krav; zvýšenou frekvencí výskytu zejména subklinických mastitid.

Obsah močoviny v mléce (MO)

Močovina v mléce je odpadní koncovkou bílkovinného metabolismu. Může ovlivňovat mírně bod mrznutí mléka. Analytické metody vzhledem k jejich četnosti přinesly v nedávné minulosti jisté problémy s věrohodností výsledků. Jako nejlepší lze označit specifické tzv. ureolytické metody, kde se měří vznik reakčních produktů hydrolytického štěpení močoviny. Měření močoviny v mléce k rutinním diagnostickým účelům se stává součástí kontroly mléčné užitkovosti. Podobně jako u kyseliny citrónové a zejména obsahu acetonu v mléce jsou z hlediska vypovídací schopnosti vhodnější i u MO hodnoty z individuálních vzorků mléka, neboť se vztahují ke konkrétnímu metabolismu a doživosti.

Močovina je přirozenou složkou mléka a za fyziologické se považují hodnoty v rozpětí 20 - 30 mg/100ml, tj. 3,3 - 5 mmol/l, pro malé přežvýkavce jsou vyšší. Obsah v mléce je výslednicí dusíkatého a energetického metabolismu zvířete a je zcela odvislý od úrovně výživy ve vztahu k užitkovosti. Zpravidla při zkrmování zelené píče dochází ke zvýšení obsahu. Za důležité se považuje sledování obsahu močoviny v mléce u vysoce užitkových zvířat v prvních pěti měsících laktace a v letním krmném období jako poklad k provádění korekcí ve skladbě krmných dávek. Nadměrné obsahy korespondují se zvýšením hladiny močoviny v krvi, která vzniká jaterní detoxikací přebytku amoniaku vzniklého bakteriálním štěpením proteinu krmiv v bachoru. Poukazují na přebytek dusíkatých látek nebo nedostatek pohotové energie v krmné dávce vzhledem k realizované aktuální užitkovosti. Zvýšené hladiny jsou zpravidla provázeny alkalizací bachorového obsahu s následnými metabolickými poruchami, snížením užitkovosti, zhoršením reprodukčních ukazatelů, zhoršením technologických vlastností mléka a zpravidla sníženým obsahem bílkovin a sušiny tukuprosté. Nízké hladiny močoviny indikují většinou nedostatek dusíkatých látek v krmné dávce.

Mezi efekty, které koncentraci močoviny v mléce ovlivňují, patří:

- příjem proteinu a energie (nadměrný obsah hrubého proteinu v krmné dávce zvyšuje obsah močoviny v mléce a vyšší příjem energie koncentraci močoviny v mléce často snižuje);
- příjem proteinu degradovatelného a nedegradovatelného v bacheru;
- příjem vody a sušiny v krmné dávce (při dehydrataci organismu lze očekávat vyšší hladiny močoviny);
- zdravotní stav, zvláště funkčnost jater a ledvin;
- některá onemocnění;
- pastva (vyšší obsah močoviny na pastvě);
- doba odebrání vzorků mléka (ve smyslu intervalu mezi krmením a odběrem);
- fyziologické faktory laktace.

Aktivní kyselost mléka (pH)

Mléko z hlediska koncentrace vodíkových iontů vykazuje téměř neutrální reakci. Např. kravské mléko 6,5 až 6,8, zatímco ženské 7,0 až 7,2. Proti změně pH vykazuje mléko pufrací schopnost, která je dána přítomností pufrů: kyselina fosforečná; kyselina citrónová; kyselina uhličitá; mléčné bílkoviny. Tlumivé roztoky se projevují zmenšením změn v koncentraci vodíkových iontů při dodání kyselin nebo zásad. Vzhledem ke skladbě mléčných pufrů je pufrací kapacita účinnější při tlumení v kyselé oblasti než v zásadité. Některé látkové změny v mléce pak mají za následek stav, kdy zatímco titrační kyselost mléka (SH) již změny projevuje, pH ještě do určité hranice zůstává konstantní.

Titrační kyselost mléka (SH)

Hodnotu titrační kyselosti mléka obdržíme titrací mléka alkalickým roztokem (0,25N NaOH) za podmínek metody v přítomnosti indikátoru. Vyjadřuje se v ml spotřebovaného roztoku \times 2,5 mmol/l. Jedná se o důležitou technologickou vlastnost syrového mléka. ČSN 57 0529 stanovila hodnoty pro standardní mléko takto: 6,2 - 7,8 ml \times 2,5 mmol/l.

Neutralizační reakci při stanovení SH lze rozdělit na následující vlivy (příspěvky): - 40 % hodnoty SH tvoří kasein; - 40 % tvoří minerální látky a stopy organických kyselin; - 20 % připadá na sekundární reakci fosfátů (tzv. skluz při titraci).

SH nutno měřit po nadojení až je mléko odstáté a vyprchal kysličník uhličitý, který by náměr zvyšoval. SH je komplexní výslednicí skladby mléka a těžko ji lze záměrně ovlivňovat. SH lze rozdělit na: - kyselost přirozenou (nativní, tzv. primární po nadojení); - kyselost získanou (mikrobiální rozklad laktózy kontaminující acidogenní mikroflórou na kyselinu mléčnou).

V praxi mohou nastat situace, kdy SH může být i mimo normovaný rozsah a nemusí přitom jít o porušení technologické kázně (příměsi sanitačních prostředků, kysnutí či acidózy nebo alkalózy krav). Může se jednat např. o snížený nebo zvýšený obsah bílkovin (sušiny, sušiny tukuprosté). Takové mléko pak má nezměněné pH a je v podstatě zcela normální - standardní.

Bod mrznutí mléka (BMM)

Bod mrznutí mléka je důležitá fyzikální i technologická charakteristika mléka. Měří se kryoskopicky a byl určen k posuzování možnosti příměsi cizí vody v mléce, neboť závisí na celkové skladbě mléka. Později se ukázalo, že posuzovat takto zvodnění je do značné míry riskantní, protože BMM může ovlivnit řada dalších faktorů.

Deprese BMM je určována následovně: - 50 - 55 % obsah laktózy; - 30 - 35 % obsah anorganických a organických solí (vliv minerálních látek jako NaCl a KCl převažuje nad organickými solemi); - 8 - 12 % obsah ostatních mléčných složek (tuk, bílkoviny, močovina, atd.). Předpokládá se, že 120 - 150 mg NaCl/l odpovídá za asi 0,010 °C deprese BMM. Jsou-li v mléce změněny obsahy některých složek, dojde ke změně BMM. Všeobecně se odhaduje, že přírůstek 1 % cizí vody zvýší (zhorší) bod mrznutí o 0,005 °C. Existuje rovněž tzv. nezbytné zvodnění mléka, které (kromě ručního dojení) je inherentní položkou každé mechanizované dojicí technologie. Činí obvykle 0,2 až 0,4 % cizí vody, což přibližně (za běžných okolností) odpovídá 0,001 až 0,0025 °C zhoršení BMM (závisí na délce dojicího potrubí, spádování, jeho vysoušení resp. vytření, atd.).

Z výše uvedených důvodů při sporné situaci platí, že podezření na zvodnění má být měřením BMM opakovaně prokázáno po průběhu úředně kontrolovaného dojení. V takovém případě musí být opět BMM nevyhovující, aby za důvod zvodnění byly prohlášeny faktory nikoliv technologicko-technické, nýbrž fyziologické a nebyla uplatněna penalizace za nevyhovující BMM. Prevence nevyhovujícího BMM tedy spočívá v dobré úrovni krmení a dále v dobrém stavu dojicí techniky.

Vymezení a seznam limitů kvality syrového kravského mléka

Vymezení a seznam limitů kvality syrového kravského mléka ke konci jeho historického vývoje po současnost, které jsou předmětem návrhu této metodiky pro syrové mléko malých přežvýkavců, je shrnuto v Tabulce 1.

Tabulka 1. Vymezení limitů standardní kvality syrového kravského mléka podle jednotlivých mléčných ukazatelů (ČSN 57 0529, harmonizováno s legislativou EU, norma je dnes jen na úrovni doporučení, ale stále respektována. Podle Samková a kol. (2012a).

Ukazatel kvality mléka	Jednotka	Povolené limity	Poznámka
Obsah tuku	$\text{g} \times 100 \text{ml}^{-1}$	$\geq 3,3$	$3,21 \text{ g} \times 100 \text{g}^{-1}$
Obsah bílkovin	$\text{g} \times 100 \text{ml}^{-1}$	$\geq 2,8$; základ zpeněž. 3,2	$2,72 \text{ g} \times 100 \text{g}^{-1}$; základ zpeněžování 3,11
Bod mrznutí mléka	$^{\circ}\text{C}$	$\leq -0,515$	$-0,520 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (EU)
Titrační kyselost mléka	ml ($^{\circ}\text{SH}$)	6,2 – 7,8	$0,25 \text{ mol} \times 100 \text{ml}^{-1} \text{ NaOH}$
Počet somatických buněk	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	≤ 400	≤ 300 pro kvalitu výběr
Celkový počet mikroorganismů	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	≤ 100	≤ 50 pro kvalitu výběr
Rezidua inhibičních látek	/	negativní	mikrobiologický test, především antibiotika
Počet psychrotrofních mikroorganismů	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	≤ 50	kultivačně
Počet termorezistentních mikroorganismů	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	≤ 2	kultivačně
Počet koliformních bakterií	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	≤ 1	kultivačně
Sporotvorné anaerobní bakterie	/	negativní	v 0,1 ml
Látkový obsah VMK v mléčném tuku	$\text{mmol} \times 100 \text{g}^{-1}$	$\leq 1,3$ $\leq 3,2$	metoda stlukem metoda titrační
Kysací schopnost mléka	ml ($^{\circ}\text{SH}$)	≤ 25	$0,25 \text{ mol} \times 100 \text{ml}^{-1} \text{ NaOH}$
Obsah sušiny tukuprosté	$\text{g} \times 100 \text{g}^{-1}$	$\geq 8,5$	

1) Cíl metodiky

Cílem certifikované metodiky CM-Složky ovce a kozy je metodicky stanovit objektivní a věrohodné interní, faremní provizorní limity kvality syrového mléka malých přežvýkavců v situaci absence jiného standardního materiálu pro účely zajištění kvality mléčných produktů i odměňování pracovníků na farmách se zpracováním mléka a pro zajištění provozní jistoty chovatelů.

Náplní certifikované metodiky je implementace dosažených výsledků, získaných na základě předchozího výzkumu a vývoje v rámci řešení projektů MZe RO1419 a NAZV KUS QJ1230044, do prostředí chovu malých přežvýkavců s faremním zpracováním mléka pro podporu provozní jistoty chovatelů.

2) Vlastní popis metodiky

2.1. Kvalita mléka malých přežvýkavců

Kozí a ovčí mléko bylo z hlediska chemického složení, s ohledem na majoritní i minoritní složky (včetně makro- a mikroprvků), technologických a fyzikálních vlastností, ale i mikrobiologických ukazatelů popsáno v řadě odborných prací, a jejich výsledky jsou zohledněny i v této certifikované metodice.

V současné době jako i v některých jiných zemích platí u nás legislativní hodnoty pro syrové mléko malých přežvýkavců podle Nařízení EP a Rady (ES) 853/2004, které stanovuje pouze limit pro celkový počet mikroorganismů (CPM) $\leq 1500\ 000$ KTJ v 1 ml a limit pro mléko určené pro výrobu výrobků ze syrového mléka postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu $\leq 500\ 000$ KTJ v 1 ml. Co se týče dalšího hygienického ukazatele, počtu somatických buněk (PSB), není v evropských zemích pro mléka malých přežvýkavců legislativně podchycen, zatímco v USA je normovaná hodnota pro PSB $\leq 1\ 000\ 000$ v 1 ml zavedena podle Food and Drug Administration (Paape a kol., 2007).

Certifikovaná metodika se zaměřuje na vybrané ukazatele kvality mléka malých přežvýkavců, a to na základě zájmu uživatele výsledku a doporučuje pro udržení kvality a konkurenceschopnosti takové hodnoty, které by měly držet vyšší standard nebo inspirovat chovatele v případě výkupu mléka a jeho proplácení. Jedná se především o počet somatických buněk, celkový počet mezofilních mikroorganismů, tuk, bílkovinu, laktózu, tukuprostou sušinu, inhibiční látky a bod mrznutí.

Počet somatických buněk

Problematikou PSB a návrhem implementace PSB jako firemního standardu syrového kozího a ovčího mléka se zabývá předchozí certifikovaná metodika autorů Klimešová a kol. (2019a), navržené limity jsou spolu s ostatními složkami uvedeny v Tabulce 2. Tato metodika nabízí technicko-organizační doporučení, opatření a postupy v hodnocení kvality syrového mléka (počet somatických buněk) malých přežvýkavců pro interní účely farem chovu malých přežvýkavců pro podporu zdraví a užitkovosti zvířat a zdraví spotřebitelů a pro narovnání jejich vztahů ve smyslu nastavení parametrů při možném proplácení syrového mléka. Jako limitní hodnotu pro kozí mléko navrhuje PSB $< 1\,500 \cdot 10^3$ a postupné snížení na hodnotu PSB $< 700 \cdot 10^3$ buněk v 1 ml. Pro ovčí mléko pak limitní hodnotu PSB $< 1\,000 \cdot 10^3$ a postupné snížení, které je pouze doporučené a zcela v kompetenci daného podniku, až na hodnotu PSB $< 500 \cdot 10^3$ buněk v 1 ml.

Celkový počet mikroorganismů

Problematikou CPM a návrhem implementace upravených limitních hodnot v syrovém ovčím mléce do praxe se zabývá další metodika autorů Klimešová a kol. (2019b). Cílem metodiky je nezávazný návrh implementace limitního ukazatele (CPM) pro syrové ovčí mléko v podmínkách uživatele výsledku, tedy především u malých a středních farem, různých plemen, s vlastním zpracováním mléka na produkty. Z výsledků výzkumného sledování výskytu CPM byl navržen diskriminační limit (od $\leq 800 \cdot 10^3$ až po limit $\leq 300 \cdot 10^3$ KTJ/ml) pro syrové ovčí mléko a hodnotu CPM $\leq 500 \times 10^3$ KTJ/ml až $\leq 200 \times 10^3$ KTJ/ml. pro mléko určené pro výrobu výrobků ze syrového mléka postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu (Tabulka 3).

Co se týče kozího mléka, Pirisi a kol. (2007) srovnávají ve své publikaci kvalitu ovčího a kozího mléka ve vztahu k finanční zainteresovanosti chovatelů v různých evropských zemích. Např. ve Francii rozdělují kozí mléko do čtyř kategorií, přičemž do kategorie R (nejlepší) je řazeno mléko s obsahem CPM $< 50\,000$ KTJ/ml. Ostatní kategorie jsou označeny A (50 000 až 100 000), B (100 001 až 200 000), C ($> 200\,000$). Podobně pak ve Španělsku, jsou třídy s obsahem CPM $< 50\,000$, 50 000 až 150 000 a 150 000 až 500 000 vykupovány za příplatek, přičemž mléko s obsahem CPM $> 500\,000$ KTJ/ml je penalizováno. V Norsku je finančně zvýhodněné mléko s počtem CPM $< 20\,000$ KTJ/ml, dále je mléko s obsahem CPM $< 30\,000$ řazeno do I. třídy a mléko s obsahem CPM $< 50\,000$ do II. třídy (Skeie, 2014). Mimo Evropu pak např. v Austrálii platí různé limity pro syrové mléko CPM $< 150\,000$ KTJ/ml a pro

pasterované mléko CPM < 50 000 KTJ/ml (FSANZ, 2009). V Brazílii je limit podobný jako ve Španělsku - CPM < 500 000 (Oliviera a kol., 2011).

Při srovnání limitních hodnot pro ovčí a kozí mléko, jsou limity pro mléko kozí nastaveny přísněji. Jedním z důvodů může být, že výsledky CPM jsou u bazénového kozího mléka nižší, nepřesahují však jeden logaritmický řád (Verraes a kol., 2004). Podobně i naše výsledky z projektu Vorlová a kol. (2017), potvrdily medián pro CPM kozího mléka $157 \cdot 10^3$ KTJ/ml a pro mléko ovčí $341 \cdot 10^3$ KTJ/ml. Nicméně podle stávajícího Nařízení EP a Rady ES (853/2004), které uvádí totožné limity pro obě mléka, doporučujeme rovněž stejné limitní hodnoty pro kozí mléko, jak je uvedeno v Tabulce 3.

Tuk, bílkovina, laktóza a tukuprostá sušina

Ovčí mléko

Hodnoty ukazatelů ovčího mléka jako je tuk (T), bílkovina (B), laktóza (L), tukuprostá sušina (TPS) závisí stejně jako u jiných dojených zvířat na druhu, plemeni a jiných různých podmínkách stavu fyziologie a prostředí (stádium laktace, počet laktací, krmení, zdravotní stav zvířat, frekvence dojení). Obsah tuku se pohybuje podle některých studií od 3,77 až do 12,10, bílkovina od 3,58 až 9,19, laktóza od 4,06 až 5,64 a TPS mezi 10,86 a 27,14 % (Klíčník, 1978; Grandison, 1986; Leitner a kol., 2003; Gantner a kol., 2015; Merlin Jr. a kol., 2015; Ferro a kol., 2017). Variabilita a průměrné hodnoty z výsledku našeho projektu jsou pro T, B, L a TPS v ovčím mléce 6,82 (3,00 - 14,11), 5,77 (2,57 - 10,14), 4,53 (2,15 - 5,21) a 13,19 % (4,02 - 19,95) (Vorlová a kol., 2017). Průměrné hodnoty T, B, L podle kontroly užitkovosti v ČR za roky 2014 až 2018 se shodují s našimi výsledky a jsou u ovčího mléka 5,94 (5,6 - 6,20), 5,58 (5,46 - 5,84), 4,82 % (4,70 - 4,90) (Bucek a kol., 2019). Hodnoty základních ukazatelů mléka podle různých literárních pramenů jsou sumarizovány v Tabulce 4.

Kozí mléko

Hodnoty ukazatelů kozího mléka T, B, L a TPS se pohybují podle zjištěných studií od 1,9 až do 9,7 (T), 2,27 až do 4,26 (B), 3,60 až do 5,45 (L) a 6,9 až 10,90 % TPS (Dozet, 1973; Klíčník, 1978; Grandison, 1986; Guo a kol., 2001; Lužová a kol., 2012; Gantner a kol., 2015; Ferro a kol., 2017). Variabilita a průměrné hodnoty T, B, L a TPS v kozím mléce jsou podle výsledků našeho projektu 3,36 (2,28 - 5,30), 2,99 (2,40 - 3,75), 4,45 (3,86 - 5,01), 9,20 % (7,45 - 13,6) a jsou srovnatelné s průměrnými hodnotami T, B, L podle kontroly užitkovosti v ČR - 3,29 (3,00 - 3,51) a 3,02 (2,79 - 3,14) za období 2001 až 2018 a 4,48 % (4,20 - 4,80) za roky 2013 - 2018 (Vorlová a kol. (2017; Bucek a kol., 2018, 2019).

Vztah obsahu laktózy a PSB u krav je negativní a pohybuje se (podle typu vzorku, dojivosti a zdravotního stavu stáda, jak bylo již zmíněno) obvykle od -0,25 do -0,6 (Hanuš a kol, 2010b). Je to logické s ohledem na skutečnost, že PSB je dílčím ukazatelem mastitid a mastitidní patogenní infekce může vést k degradaci až redukci sekrečního epitelu mléčné žlázy, kde je laktóza syntetizována, jako specifická mléčná složka. Obsah laktózy je obvykle kladně korelován k výši dojivosti a to nejen z důvodu stadia laktace a tedy podél laktační křivky (do tohoto vztahu částečně opozičně interferuje v podstatě pouze pořadí laktace), ale vůbec z důvodu fyziologie tvorby a eejekce mléka a regulace nitrovemenného osmotického tlaku. Tato skutečnost byla také využita, resp. zohledněna, při konstrukci zmíněných poradenských programů prevence poruch sekrece mléka. U individuálních vzorků kozího mléka byl nalezen korelační vztah k log PSB -0,46 ($P < 0,01$), který je velmi podobný relevantním nálezům v kravském mléce, jinými slovy s nimi dobře koresponduje (Hanuš a kol., 2008b). Vztah PSB×L byl u ovčího mléka (IV -0,51 $P < 0,001$) zřetelně těsnější v porovnání k mléku kravskému nebo kozímu a odpovídal nejtěsnějším literárním hodnotám pro mléko kravské a předchozím hodnotám pro ovčí (-0,56 a -0,58; Hanuš et al., 1994 a 2010b). Tato skutečnost dává naději, resp. oprávněný předpoklad, že existuje reálná možnost konstruovat podobné predikční programy pro předpovědi ztrát dojivosti, podle mastitid a jejich ukazatele PSB, a pro prevenci poruch sekrece mléka u koz a ovcí, jako již bylo uvedeno u krav.

Inhibiční látky (RIL)

RIL v mléce je širokospektrální pojem. Jedná se o řadu zpravidla cizorodých substancí typu: antibiotik, ostatních léčiv, dezinfekčních sanitačních prostředků, těžkých kovů, chlorovaných syntetických látek, jiných chemikálií, přirozených inhibitorů, atd., které mohou pronikat do mléka a ohrožovat nejen průběh zpracovatelských technologií, ale rovněž i zvyšovat riziko pro zdraví konzumentů mléka a mléčných potravin. Proto je jejich přítomnost v jakémkoliv druhu mléce nežádoucí. Potravinářské legislativní předpisy striktně stanovují nezbytnost nepřítomnosti RIL ve standardním mléce (Tabulka 7 a 8).

Bod mrznutí

Ovčí mléko

Falšování syrového mléka přidáním vody lze kontrolovat prostřednictvím bodu mrznutí (BMM). V tomto smyslu byla posuzována vhodnost alternativního způsobu pro měření ekvivalentu BMM (BMM-E) a možnost odhadnout základ mezní hodnoty pro identifikaci ovčího mléka falšovaného přídavkem vody (Hanuš a kol., 2015). Pro hodnocení byly použity

vzorky mléka (n = 811), které byly analyzovány na BMM a BMM-E. Vliv sezóny a laktace byl významný ve všech ukazatelích mléka. Průměrný BMM vzorků bazénového ovčího mléka se pohyboval v rozmezí $-0,559 \text{ °C} \pm 0,029 \text{ °C}$. Mezní hodnota BMM může být v blízkosti hodnoty $-0,511 \text{ °C}$ (střední hodnota + standardní odchylka x 1,64, jednostranný 95% interval spolehlivosti). V rozsahu 89,4 % variabilita BMM-E může být vysvětlena variací měření v BMM. Celkový korelační koeficient byl 0,945 ($P < 0,001$), a vysoká korelace byla také pro $\text{BMM} > -0,511 \text{ °C}$ (0,992, $P < 0,001$). To by mohlo být vysvětleno vysokou korelací mezi BMM a mléčnými složkami: $-0,228$ ($P < 0,01$) pro tuk; $-0,231$ ($P < 0,001$) pro bílkoviny; $-0,219$ ($P < 0,001$) pro laktózu; $-0,497$ ($P < 0,001$) pro sušinu tukuprostou; $-0,341$ ($P < 0,001$) pro sušinu celkovou. Rosenman a Gary (2010) zveřejnili tabulku změn BMM v závislosti na přidavku vody a tím odhad přidané vody do mléka podle BMM. Při přidání 10 % objemu vody do nádoje se zvedla hodnota BMM z původní $-0,554$ na $-0,498 \text{ °C}$ (Tabulka 6). Bod mrznutí ovčího mléka (BMM) na Slovensku odhaduje ve své práci Keresteš (2008) na hodnotu $-0,560$ až $-0,610 \text{ °C}$. Hanuš a kol. (2009a) uvádějí ve své studii hodnoty BMM během tříletého sledování v 60 bazénových vzorcích mléka (plemeno Tsigai; ČR) v rozmezí od $-0,536$ do $-0,674 \text{ °C}$. Yabrir a kol. (2013) srovnávali BMM mezi dvěma chovy s odlišným plemenem v Alžírsku a naměřili průměrné hodnoty $-0,570 \pm 0,060 \text{ °C}$ (plemeno Rumba) a $-0,530 \pm 0,020 \text{ °C}$ (plemeno Ouled-Djella). Ostatní minimální, maximální a průměrné hodnoty jsou shrnuty v Tabulce 4.

Kozí mléko

Podobně jako u ovčího mléka se Rosenman a Gary (2010) zabývali možným falšováním mléka přidáním vody do nádoje. V Tabulce 6 jsou uvedené případy možného odhadu přidané vody a BMM a naopak. Při přidání 10 % objemu vody do nádoje se zvedla hodnota BMM z původní $-0,540$ na $-0,486 \text{ °C}$ (Tabulka 6). V Tabulce 5 jsou uvedeny minimální a maximální naměřené hodnoty podle různých autorů. Průměrná hodnota BMM se pohybovala od $-0,565$ do $-0,540 \text{ °C}$. Podle našich výsledků se BMM pohyboval v rozmezí $-0,666$ až $-0,519$ a průměrná hodnota byla $-0,5549 \text{ °C}$ (Vorlová a kol., 2007). Podobné výsledky v našich podmínkách dosáhly i ve své práci Janštová a kol. (2007), ve které naměřili hodnoty v rozsahu $-0,5567$ až $-0,5466 \text{ °C}$ a průměrná hodnota byla $-0,5513 \text{ °C}$ (Tabulka 5).

2.2. Metodický postup stanovení kvalitativních limitů

Stanovení limitů vybraných ukazatelů (podle literárních pramenů a předchozích standardů) kvality syrového mléka malých přežvýkavců bylo provedeno metodou kvalifikovaného odhadu podle statistických a vývojových výsledků vlastního předchozího výzkumu v uvedené oblasti (Klíčník, 1978; Hejtmánková a kol., 2002; Muehlherr a kol., 2003; Strzalkowska a kol., 2004; Tomáška a kol., 2006, 2014 a, b, c; Pirisi a kol., 2007; Janštová a kol., 2007, 2009; Genčurová a kol., 2008 a, b; Hanuš a kol., 2008 a, b, c, 2009 a, b, c, 2010 a, b, 2011 b, c, 2015; Sojková a kol., 2009; Sojková a kol., 2009; Vyletělová a kol., 2009, 2011; Lužová a kol., 2012; Bogdanovičová a kol., 2015; Klapáčová a kol., 2015; Klimešová a kol., 2015, 2016, 2017; Kuchtík a kol., 2015 a, b; Vorlová a kol., 2017) a podle předchozích zkušeností získaných ze studia frekvenční distribuce hodnot a vývoje syntetického ukazatele kvality syrového kravského mléka (Janů a kol., 2007; Hanuš a kol., 2007; 2011 a).

Zohledněny byly také výsledky uvedených literárních pramenů (Webb a Johnson, 1965; Ali a Shook, 1980; Shook, 1982; Raubertas a Shook, 1982; Reneau a kol., 1983, 1988; Wiggans a Shook, 1987; Wilson a kol., 1992; Droke a kol., 1993; Hahn a kol., 1994; Gajdůšek a kol., 1996; Jandal, 1996; Alfa Laval Agri, 1998; Escobar, 1999; Antunac a kol., 2001; Paape a kol., 2001, 2007; Hejtmánková a kol., 2002; Rabold a kol., 2002; Pavić a kol., 2002; Kuchtík a Sedláčková, 2003; Shearer a Harris, 2003; Muehlherr a kol., 2003; Strzalkowska a kol., 2004; Leitner a kol., 2004 a, b; 2008; Seydlová, 2005, 2018; Morand-Fehr a kol., 2007; Contreras a kol., 2007; Park a kol., 2007; Pirisi a kol., 2007; Raynal-Ljutovac a kol., 2007; Janštová a kol., 2007, 2009; Tahsin a kol., 2008; Silanikove a kol., 2010; Králíčková a kol., 2013; Yabrir a kol. (2013); Fava a kol., 2014; Granado a kol., 2014; Gantner a kol., 2015; Clark a Garcia, 2017; Balthazar a kol. 2017; Ferro a kol., 2017) a zkušenosti z předchozího vývoje normy pro syrové kravské mléko ČSN 57 0529, která sice již neplatí, přesto nesporně přispěla historicky pozitivně k výraznému zlepšení kvality syrového kravského mléka v ČR (Kadlec a kol., 1988; Kadlec, 2003; Samková a kol., 2012 a, b; Hanuš a kol., 2019) a její limity a výstupy jsou dodnes využívány při tvorbě dodavatelsko-odběratelských smluv na trhu se syrovým mlékem.

Odhadnuté a doporučené limity syrového mléka (kozy, ovce), určené k praktické aplikaci v interní kontrole kvality syrového mléka pro účely uživatele jsou prezentovány v Tabulce 6 a 7. Při výběru limitních hodnot se vycházelo z výsledků vědeckého výzkumu a výsledku, tj. minimální a maximální hodnoty a průměrné hodnoty vybraných ukazatelů.

Pro stanovení kvalitativních ukazatelů T, B, L, TPS a BMM jsou navrženy čtyři kategorie:

- 1) Nestandard - mléko, které obsahuje hodnoty menší jak uvedené následující mezní hodnoty pro standardní mléko.
- 2) Standard – mezní hodnota byla navržena podle průměrné hodnoty z minimálních dosažených hodnot (Tabulka 4 a 5). Tato hodnota by měla být základním informačním podkladem pro standardní kvalitu mléka, potřebnou pro další zpracování mléka jako suroviny nebo pro jeho konzumaci.
- 3) Třída II – představuje vyšší hodnotu navržených ukazatelů. Hodnota je stanovena podle průměrných hodnot a směrodatné odchylky SD ($\bar{x} - SD$). Tato hodnota by měla být určitou zárukou pro mléko vyšší kvality a jistoty v případě implementace legislativních požadavků pro mléko malých přežvýkavců.
- 4) Třída I – představuje výběrové mléko nejvyšší kvality. Hodnoty jsou vypočteny z průměrných hodnot.

Tabulka 2. Návrh implementace limitního ukazatele PSB ($v 10^3 ml^{-1}$) v ovčím a kozím mléce (podle Klimešová a kol., 2019a)

ovčí mléko			
	geometrický průměr	rozsah	navržený limit
celkem	< 1000	560 - 2 500	< 1000; < 500
v ČR	< 760	560 - 1 125	
kozí mléko			
celkem	< 1400	750 - 1 750	< 1 500; < 1 000; < 750

Tabulka 3. Model zavedení kvalitativních limitů pro třídy standardní kvality CPM syrového ovčího a kozího mléka a mléka po tepelné úpravě ($v 10^3$ KTJ/ml), podle Klimešová a kol. (2019b).

etapy	1. fáze (3 roky)	2. fáze (3 roky)	3. fáze (4 roky)	4. fáze (5 let)	5. fáze
syrové mléko					
třída I	≤ 800	≤ 550	≤ 800	≤ 550	≤ 300
třída II	801 - 1 300	551 - 800	-	-	-
třída III	1 300 – 1 500	801 - 1 300	-	-	-
nestandard	> 1 500	> 1 300	-	-	-
mléko určené pro výrobu výrobků ze syrového mléka postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu					
třída I	≤ 500				≤ 200

Poznámka: limit $\leq 800 \times 10^3$ KTJ/ml ve 3. fázi je vyšší než limit ve 2. fázi z toho důvodu, že v tomto období by měla platit již jen jedna standardní třída.

Tabulka 4. Ovčí mléko - přehled limitních min. a max. hodnot a průměrů vybraných ukazatelů (tuk, bílkovina, laktóza, tukuprostá sušina, bod mrznutí mléka) podle literárních pramenů (v % a °C)

Tuk	Bílkovina	Laktóza	Tukuprostá sušina	Bod mrznutí mléka	Pramen
7,90	5,23	4,81	11,39	xxx	Webb a Johnson (1965)
7,08	5,4	5,12	11,83	xxx	Klíčnick (1978)
4,20-12,10	3,58-12,10	4,50-5,64			
5,79-6,45					Grandison (1986)
7,62	6,21	3,7	10,33	xxx	Jandal (1996)
7,52±0,18	5,90±0,05	4,55±0,04	11,45±0,06	-0,566±0,001	Pavić a kol. (2002)
5,16±0,13	5,37±0,06	5,11±0,05	xxx	xxx	Leitner a kol. (2003)
3,77-7,11	4,77-5,90	4,69-5,51			
7,9	6,2	4,9	12	-0,570	Park a kol. (2007)
8,05±1,66	5,77±0,56	4,64±0,23	10,88±0,63	-0,574±0,013	Giangolini a kol. (2007)
				-0,623 až -0,545	
					Keresteš (2008)
				-0,610 až -0,560	
xxx	xxx	4,43±0,29	11,4±0,55	-0,6048±0,0691	Hanuš a kol. (2009a; 2010b)
xxx	xxx	xxx	xxx	-0,554±0,009	Rosenman a Gary (2010)
5,66±3,52	5,91±1,10	4,89±0,61	11,19±0,87	-0,570±0,050	Yabrir a kol. (2013)
6,26±1,38	5,45±0,76	4,38±0,45	10,24±0,77	-0,530±0,020	
xxx	xxx	xxx	xxx	0,617±0,052	Janštová a kol. (2013)
				-0,875 až -0,560	
8,1±1,30	5,22±0,37	4,43±0,23	11,25±0,18		Fava a kol. (2014)
			xxx	xxx	Gantner a kol. (2015)
4,9-9,0	4,5-7,0	4,1-5,9			
7,28±1,10	5,83±0,79	3,41±1,10	10,04	-0577±0,012	Merlin a kol. (2015)
5,0-9,0	3,37-6,58	1,19-6,70	8,01-10,81	-0,583 až -0,556	
5,9±0,3	5,5±1,1	4,8±0,4	xxx	xxx	Balthazar a kol. (2017)
6,89±0,98	5,39±0,36	4,98±0,26	10,91±1,17	xxx	Ferro a kol (2017)
5,26-8,41	4,72-5,99	4,65-5,4	8,75-12,34		
6,82±2,27	5,77±1,49	4,53±0,51	13,19±4,28	-05737±0,0347	Vorlová a kol. (2017)
3,00-14,11	2,57-10,14	2,45-5,21	7,45-26,08	-0,7209 až -0,4780	
5,94±0,26	5,58±0,18	4,82±0,08	xxx	xxx	Bucek a kol. (2019)
5,66-6,20	5,46-5,84	4,70-4,90			
7,9	5,23	4,81	11,39	xxx	Online 21.7.2020

Tabulka 5. Kozí mléko - přehled limitních hodnot vybraných ukazatelů (tuk, bílkovina, laktóza, tukuprostá sušina, bod mrznutí mléka) podle literárních pramenů

Tuk	Bílkovina	Laktóza	Tukuprostá sušina	Bod mrznutí mléka	Pramen
4,25	3,52	4,27	8,75	xxx	Webb a Johnson (1965)
3,07	3,51	xxx	9,12	xxx	Dozet (1973)
2,5-4,4	2,97-4,26		8,11-9,78		
4,5	2,9	4,08	8,68	xxx	Klíčník (1978)
1,9-9,7	2,27-4,15	3,61-4,85	6,9-10,9		
					Grandison (1986)
2,75-6,43					
xxx	xxx	xxx	xxx	0,565±0,01	Sousa a kol. (1993)
				-0,585 až -0,545	
3,8	2,9	4,08	8,68	xxx	Jandal (1996)
3,61±0,47	3,47±0,21	4,47±0,45	8,77±0,71	xxx	Guo a kol. (2001)
3,00-4,40	3,19-3,86	4,13-4,73			
3,8	3,4	4,1	8,9		Park a kol. (2007)
				-0,573 až -0,540	
xxx	xxx	4,44±0,38	8,24±0,44	-0,5544±0,0293	Hanuš a kol. (2009a; 210b)
xxx	xxx	xxx	xxx	-0,540±0,009	Rosenman a Gary (2010)
3,22±0,43	3,04±0,38	4,27±0,39	7,83±0,23	xxx	Lužová a kol. (2012)
2,63-4,08	2,60-3,87	3,94-5,45	7,32-8,15		
3,67±0,60	3,35±0,55	4,23±0,48	8,57	-0,549±0,006	Mayer a Fiechter (2012)
				-0,559 až -0,534	
xxx	xxx	xxx	xxx	-0,5513±0,0046	Janštová a kol. (2007)
				-0,5567 až -0,5466	
xxx	xxx	xxx	xxx	0,5533±0,0086	Janštová a kol. (2009)
				-0,589 až -0,544	
			xxx		Gantner a kol. (2015)
3,0-7,2	3,0-5,2	3,2-4,5			
3,81±0,1	3,7±0,1	4,1±0,4	xxx	xxx	Balthazar a kol. (2017)
4,19±0,85	3,30±0,38	4,43±0,37	8,41±0,70	xxx	Ferro a kol. (2017)
3,28-5,88	2,84-4,02	3,60-4,95	6,97-9,77		
3,36±0,64	2,99±0,31	4,45±0,21	9,20±1,72	-0,5549±0,0205	Vorlová a kol. (2017)
2,28-5,30	2,40-3,75	3,86-5,01	7,45-13,6	-0,6660 až -0,5190	
3,29±0,12	3,02±0,11	4,50±0,12	xxx	xxx	Bucek a kol. (2019)
3,00-3,51	2,79-3,14	4,20-4,80			
4,25	3,52	4,27	8,75	xxx	Online 21.7.2020

Tabulka 6. Odhad přidané vody v mléce podle bodu mrznutí v ovčím a kozím mléce (podle Rosneman a Gary, 2010)

Přídavek vody	Ovčí mléko	Kozí mléko
(%)	BMM (°C)	BMM (°C)
0	-0,554	-0,540
1	-0,548	-0,535
2	-0,542	-0,529
3	-0,537	-0,524
4	-0,531	-0,518
5	-0,526	-0,513
6	-0,520	-0,508
7	-0,515	-0,502
8	-0,509	-0,497
9	-0,504	-0,491
10	-0,498	-0,486

Tabulka 7. Vymezení vybraných limitů standardní kvality pro syrové ovčí mléko

Ukazatel kvality mléka	Nestandard	Standard	Třída II	Třída I
Obsah tuku (g×100ml ⁻¹)	< 4,70	≥ 4,70	≥ 5,50	≥ 7,00
(g×100g ⁻¹)	< 4,48	≥ 4,48	≥ 5,24	≥ 6,67
Obsah bílkovin (g×100ml ⁻¹)	< 4,14	≥ 4,14	≥ 4,99	≥ 5,62
(g×100g ⁻¹)	< 3,94	≥ 3,94	≥ 4,75	≥ 5,35
Obsah laktózy (g×100g ⁻¹)	<3,75	≥ 3,75	≥ 4,23	≥ 4,61
Obsah sušiny tukuprosté (g×100g ⁻¹)	< 8,84	≥ 8,84	≥ 10,25	≥ 11,25
Bod mrznutí mléka (°C)	> -0,5398	≤ -0,5398	≤ -0,5451	≤ -0,5737
Rezidua inhibičních látek (mikrobiol. test, ATB)	negativní	negativní	negativní	negativní

Obsah laktózy (monohydrát) je pouze doplňkový ukazatel.

Tabulka 8. Vymezení vybraných limitů standardní kvality pro syrové kozí mléko

Ukazatel kvality mléka	Nestandard	Standard	Třída II	Třída I
Obsah tuku (g×100ml ⁻¹)	< 2,85	≥ 2,85	≥ 3,13	≥ 3,68
(g×100g ⁻¹)	< 2,77	≥ 2,77	≥ 3,04	≥ 3,57
Obsah bílkovin (g×100ml ⁻¹)	< 2,76	≥ 2,76	≥ 2,99	≥ 3,28
(g×100g ⁻¹)	< 2,68	≥ 2,68	≥ 2,90	≥ 3,18
Obsah laktózy (g×100g ⁻¹)	< 3,79	≥ 3,79	≥ 4,01	≥ 4,28
Obsah sušiny tukuprosté (g×100g ⁻¹)	< 7,35	≥ 7,35	≥ 7,73	≥ 8,66
Bod mrznutí mléka (°C)	> -0,5381	≤ -0,5381	≤ -0,5340	≤ -0,5526
Rezidua inhibičních látek (mikrobiol. test, ATB)	negativní	negativní	negativní	negativní

Obsah laktózy (monohydrát) je pouze doplňkový ukazatel.

3) Srovnání novosti

Navržené odhady kvalitativních limitů syrového mléka malých přežvýkavců byly v ČR řešeny jen dílčím způsobem (spíše výzkumně než legislativně) a stále platí absence nějakého standardního materiálu, proto tento materiál je označován za interní a provizorní.

Metodika, jako interní standard, navrhuje hierarchickou strukturu limitů kvalitativních ukazatelů mléka malých přežvýkavců k podpoře zdraví zvířat, kvality suroviny, kvality potravin, bezpečnosti konzumentů a provozní jistoty farmy. Kvalitativní limity byly navrženy na základě literárních pramenů a kvalifikovaného odhadu podle výsledků vlastního výzkumu a vývoje.

Existence podrobnějšího standardu kvality syrového mléka malých přežvýkavců je v některých zemích naplněna, jinde absentuje. V ČR je odborně považována za potřebnou, i když je prakticky postrádána. Z uvedeného důvodu byl vypracován tento interní standard k voluntérní aplikaci pro případné potřeby zainteresovaných ke zlepšení prokazování zajištění kvality.

4) Popis uplatnění

Jedná se o výsledek nového vývoje postupu odhadu limitních hodnot kvality syrového mléka malých přežvýkavců, uplatnitelný u prvovýrobců mléka k interním faremním hospodářským účelům pro podporu zdraví zvířat a pro zvýšení provozní jistoty chovatelů a potravinové bezpečnosti konzumentů.

Použití certifikované metodiky na faremních lokalitách může být spatřováno vedle vnitřního tlaku na postupný růst kvality suroviny také např. v diferencovaném odměňování pracovníků u zvířat podle kvality suroviny po vhodném ocenění přínosu podle diferencovaných stupňů.

Metodika bude předána do užívání v hospodářském systému konkrétní farmy chovu malých přežvýkavců (ZD Jeseník) se zpracováním mléka na produkty, a to v elektronické i písemné formě, a současně bude vypracován protokol o předání.

5) Ekonomické aspekty

Ekonomický dopad je součástí kontroly poruch sekrece mléka u dojených koz v kontrole užitečnosti a výhod dosažených z interpretace výsledků a následného řízení prevence tohoto produkčního onemocnění pro využití v podpoře dojivosti koz a kvality mléčných produktů. Postup podporuje tyto zdravotní, kvalitativní a ekonomické aspekty mléčného potravinového řetězce. Na bázi chovatelské a potravinářsko-zpracovatelské práce může tvořit kvalifikovaným odhadem podíl do 3 % z pozitivního efektu ve smyslu tržeb za prodej mléka a mléčných produktů na kozích farmách. To v závislosti na objemu zpracování mléka a prodeje výrobků může činit (model 100 koz, 350 l mléka denně při jednotkové ceně 30 Kč za l krát 5 měsíců produkce jako laktační sezóna) na 1 stádo 47 250 Kč. Na úrovni státu (ČR, použití cca 20 stád) může přínos z redukce ztrát dojivosti koz a kvality jejich mléka činit ročně částky v řádu statisíců (945 000 Kč), přičemž efekt je po rocích pravidelně opakovatelný.

Náklady na konkrétní zavedení postupu uvedeného v metodice mohou pro uživatele na farmě činit, podle kvalifikovaného odhadu, celkem 10 tis. Kč (náklady na doplnění záznamů výsledků a jejich evidence a kontroly a navazujících metodických postupů pro pracovníky) ročně. Přínos pro uživatele (farmáře) může být odhadnut jako rozdíl na 37 250 Kč na 100 koz a 745 tis. Kč v ČR tržeb ročně.

6) Seznam použité související literatury

- ALFA LAVAL AGRI: Die Melkfibel. ALA 853.25.1293.4785000117, 1998, 53.
- ALI, A. K. A.- SHOOK, G. E.: An optimum transformation for somatic cells concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63, 1980, 487-490.
- ANTUNAC, N.- SAMARZIJA, D.- HAVRANEK, J. L.- PAVIC, V.- MIOC, B.: Effects of stage and number of lactation on the chemical composition of goat milk. *Czech J. Anim. Sci.*, 46, 12, 2001, 548-553.
- BALTHAZAR, C.F.- PIMENTEL, T.C.- FERRÃO, L.L.- ALMADA, C.N.- SANTILLO, A.- ALBENZIO, M.- MOLLAKHALILI, N.- MORTAZAVIAN, A.M.- NASCIMENTO, J.S.- SILVA, M.C.- FREITAS, M.Q.- SANT'ANA, A.S.- GRANATO, D.- CRUZ, A.G. Sheep Milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safe*, 2017, Vol. 16: 247-262.
- BAUMGARTNER, C. und Expertengruppe für Qualitätssicherung und Qualitätsmanagement: Qualitäts: Leitfaden für den Betrieb von Routine – Untersuchungsgeräten in Rohmilch – Prüfungslaboratorien, 1. Ausgabe, Oktober 2000, 32.
- BOGDANOVIČOVÁ, K.- SKOČKOVÁ, A.- ŠTÁSTKOVÁ, Z.- KOLÁČKOVÁ, I.- KARPÍŠKOVÁ, R.: The bacteriological quality of goat and ovine milk. *Potravinářstvo - Scientific Journal for Food Industry*, 9, 1, 2015, 72-76.
- BOROŠ, V.: Porovnanie aminokyselinového zloženia bielkovín kozieho a kravského mlieka. *Živočišná Výroba*, 1988, 33, 653-659.
- BOROŠ, V.: Osobní sdělení, 1994.
- BUCEK, P.- MILERSKY, M., MAREŠ, V.- KONRÁD, R.- ROUBALOVÁ, M.- ŠKARYD, V.- RUCKI, J.- HAKL, P.: Ročenka chovu ovcí a koz v České republice za rok 2018. Vydala Českomoravská společnost chovatelů, a. s.; Svaz chovatelů ovcí a koz, z.s.; Dorper Asociace CZ, Praha, září 2019.
- BUCEK, P.- MILERSKY, M., MAREŠ, V.- KONRÁD, R.- ROUBALOVÁ, M.- ŠKARYD, V.- RUCKI, J.- HAKL, P.: Ročenka chovu ovcí a koz v České republice za rok 2017. Vydala Českomoravská společnost chovatelů, a. s.; Svaz chovatelů ovcí a koz, z.s.; Dorper Asociace CZ, Praha, listopad 2018.
- CLARK, S.- GARCIA, M.B.M.: A 100-year review: Advances in goat milk research. *J. Dairy Sci.*, 100, 2017, 10026-10044. doi.org/10.3168/jds.2017-13287.
- Composition of Milk from Different Animals. Available online: <https://www.coursehero.com/file/p2o078d/Table-1-Composition-of-milk-from->

- different-animals-Species-Water-Fat-Protein/(evidováno 21. 7. 2020)
- CONTRERAS, A.- SIERRA, D.- SANCHEZ, A.- CORRALES, J. C.- MARCOC, J. C.- PAAPE, M. J.- GONZALO, C.: Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Res.*, 68, 2007, 145-153.
- ČSN 57 0529: Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Český normalizační institut. 1993, 1-6.
- DOZET, N.: Composition and nutritional value of goats' milk and goats' milk products. *Mljekarstvo*, 23, 1973, 19-23.
- DRAGOUNOVÁ, H.- HEJTMÁNKOVÁ, A.- KOUŘIMSKÁ, L.: Ovčí mléko a jeho význam v lidské výživě, katedra kvality zemědělských produktů, katedra chemie FAPPZ, ČZU Praha. http://www.agris.cz/Content/files/main_files/75/153130/32_05.pdf (naposledy kontrolováno 22.6.2020).
- DRAGOUNOVÁ, H.- HEJTMÁNKOVÁ A.: Změny základních ukazatelů kvality ovčího mléka v průběhu laktace, Celostátní přehlídka sýrů, VŠCHT Praha 2006, s. 120 - 123.
- DROKE, E. A.- PAAPE, M. J.- DICARLO, A. L.: Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. *J. Dairy Sci.*, 76, 1993, 1035-1039.
- ESCOBAR, E. N.: Somatic cells in goat milk. E (Kika) de la Garza Institute for Goat Research, Langston University, Oklahoma, USA, 1999, 1-5.
- FAWA, L. W.- KÚLKAMP-GUERREIRO, I. C.- PINTO, A. T. Evaluation of physico-chemical characteristics of fresh, refrigerated and frozen Lacaune ewes' milk. *Arq. Hras. Med. Vet. Zootec.*, 66 (6), 2014, 1924-1930.
- FERRO, M.M.- TEDESCHI, L.O.- ATZORI, A.S. The comparison of the lactation and milk yield and composition of selected breeds of sheep and goats. *Transl. Anim. Sci.* 1, 2017, 4 98–506.
- FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND: Microbiological risk assessment of raw goat milk. Risk Assessment Microbiology Section, December 2009. 165 p.
- GAJDŮŠEK, S.- JELÍNEK, P.- HAMPL, A.: Somatic cell counts in goat milk and their relation to milk composition and properties. *Živoč. Výr.*, 41, 1996, 25-31.
- GAJDŮŠEK, S.: *Laktologie*, Mendelova univerzita, Brno 2003, 84 s., ISBN 80-7157-657-3.
- GANTNER, V.- MIJIĆ, P.- BABAN, M.- ŠKRTIĆ, Z., TURALIJA, A. The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo*, 65 (4), 2015, 223-231.
- GENČUROVÁ, V.- HANUŠ, O.- HULOVÁ, I.- VYLETĚLOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.: 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*, L, 183, 3, 2008 a, ISSN 0139-7265, 10-19.

- GENČUROVÁ, V.- HANUŠ, O.- VYLETĚLOVÁ, M.- LANDOVÁ, H.- JEDELSKÁ, R.: The relationships between goat and cow milk freezing point, milk composition and properties. *Vztahy mezi bodem mrznutí, složením a vlastnostmi kozího a kravského mléka*. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 39, 4, ISSN 1211-3174, 2008 b, 324-328.
- GÖRNER, F.- VALÍK L': *Aplikovaná mikrobiologie požívatín*, Malé centrum, Bratislava 2004, 528 s., ISBN 80-967064-9-7.
- GRANADO, R. J.- RODRIGUEZ, M. S.- ARCE, C., ESTEVEZ, V. R.: Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. *Spanish J. of Agric. Res.*, 12, 1, 2014, 133-150.
- GRANDISON, A.: Causes of variation in milk composition and their effects on coagulation and cheese making. *Dairy Ind. Int.*, 51, 1986, 21-24.
- GUO, M. R.- DIXON, P. H.- PARK, Y. W.- GILMORE, J. A.- P. S. KIND-STEDT, P. S. Seasonal changes in the chemical composition of com-mingled goat milk. *J. Dairy Sci.* 84(E. Suppl.), 2001, E79–E83.
- HAHN, G.- REICHMUTH, J.- KIRCHHOFF, H.- HAMMER, P.- UBBEN, E. H.- HEESCHEN, W.: Somatic cell counts and its evaluation for goat's and ewe's milk. *Brief Commun.*, 24-th Intern. Dairy Congr., 1994, IDF. Melbourne, Australia B 15 45.
- HANUŠ, O. - BEBER, K. - NECHVÁTEL, L. - KOUŘIL, P. - GENČUROVÁ, V. - KOPECKÝ, J. - GABRIEL, B.: Laktóza a poruchy sekrece mléčné žlázy krav v kontrole žitkovosti. *Výzkum v chovu skotu*, 3, 1994, 12-17. ISSN 0139-7265.
- HANUŠ, O.- FRELICH, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- ROUBAL, P.- VORLÍČEK, Z.- JEDELSKÁ, R.: Technologically difficult, pathogenic and food risky bacterial contamination of raw milk and other materials from dairy cow herds. *Czech Journal of Animal Science*, 49, 2004, 11, 489-499.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- KUČERA, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- TŘINÁCTÝ, J.: Analyse of relationships between freezing point and selected indicators of udder health state among cow, goat and sheep milk. *Acta Univ. Agric. Silv. Mendel. Brun.*, LVII, 5, 2009a, 103-110. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- KUČERA, J.- LANDOVÁ, H.: Impact of some udder health state indicators on milk freezing point in small ruminants and cattle. 3rd International Scientific Conference on Small Ruminant Development, 12 – 15 April, The Egyptian Association for Sheep and Goat, Hurgada, Egypt, 12-15 April 2010a, ISSN 2090-0376, *Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences*, 5, 1, 299-305.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- KUČERA, J.- TŘINÁCTÝ, J.: The effects of milk indicators of sheep mammary gland health state on some milk composition and

- properties. *Folia Veterinaria*, 53, 4, ISSN 0015-5748, 2009b, 208-216.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- LANDOVÁ, H.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.:
The comparison of relationships between milk indicators in different species of ruminants in the Czech Republic. *Výzkum v chovu skotu / Cattle Research*, L, 183, 3, 2008a. ISSN 0139-7265, 35-44.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- LANDOVÁ, H.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.:
The effect of goat udder health on composition and properties of raw milk. *Folia Veterinaria*, 52, 2008b, 149-154. ISSN 0015-5748, 3-4.
- HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- YONG, T.- KUČERA, J.- ŠTOLC, L.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.:
Reference and indirect instrumental determination of basic milk composition and somatic cell count in various species of mammals. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 40, 4, 2009c, 196 - 203. ISSN 1211-3174.
- HANUŠ, O.- HRONEK, M.- HYŠPLER, R.- YONG, T.- TICHÁ, A.- FIKROVÁ, P.- HANUŠOVÁ, K.- SOJKOVÁ, K.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.:
Vztah mezi počtem somatických buněk a obsahem laktózy v mléce různých druhů savců. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, ISSN 1211-8516, LVIII, 2, 2010b, 87-100.
- HANUŠ, O.- JANŮ, L.- SCHUSTER, J.- KUČERA, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- GENČUROVÁ, V.:
Exploratory analysis of dynamics of frequency distribution of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, LIX, 1, 2011a, 83-100. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- ROUBAL, P.- KLIMEŠOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.- HEGEDŮŠOVÁ, Z.:
Retrospektivní analýza trendů vývoje doживosti a kvality syrového kravského mléka v České republice. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 30, 172, 1, ISSN 1212-950X, 2019, 4-11.
- HANUŠ O.- ROUBAL, P.- KUČERA, J.- KLIMEŠOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.:
Somatic cell count and milk yield losses in goats. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, 65, 4, 2017, 1149-1160. ISSN 1211-8516, 2017.
- HANUŠ, O.- ROUBAL, P.- VYLETĚLOVÁ, M.- YONG, T.- BJELKA, M.- DUFEK, A.:
The relations of some milk indicators of energy metabolism in cow, goat and sheep milk. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 42, 3, 2011b, 102-112. ISSN 1211-3174.
- HANUŠ, O.- SOJKOVÁ, K.- HANUŠOVÁ, K.- SAMKOVÁ, E.- HRONEK, M.- HYŠPLER, R.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.:
An experimental comparison of methods for somatic cell count determination in milk of various species of mammals. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, LIX, 1, 2011c, 67-82. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M.- Klapáčová, L.-

- JEDELSKÁ, R.- KOLOŠTA, M.: Relationship between freezing point and raw ewes' milk components as a possible tool for estimation of milk adulteration with added water. *J. Food Nut. Res.*, 54, 4, ISSN 1336-8672, 2015, 281-288.
- HANUŠ, O.- VYLETĚLOVÁ, M.- GENČUROVÁ, V.- HULOVÁ, I.- LANDOVÁ, H.: Differences of some indicators of raw milk properties and especially mineral composition between small ruminants as compared to cows in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, 5, 2008c, 51-56. ISSN 1211-8516, LVI.
- HEJTMÁNKOVÁ, A.- KUČEROVÁ, J.- MIHOLOVÁ, D.- KOLISOVÁ, D.- ORSÁK, M.: Levels of selected macro- and microelements in goat milk from farms in the Czech Republic. *Czech J. Anim. Sci.*, 47, 6, 2002, 253-260.
- HRUŠOVSKÝ, Z.: Význam kozieho mlieka pre výživu obyvateľstva. *Chov oviec na Slovensku*, 1988, 6, 15.
- JANDAL, J.M.: Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 22, 1996, 177-185.
- JANŠTOVÁ, B.- DRAČKOVÁ, M.- NAVRÁTILOVÁ, P.- HADRA, L.- VORLOVÁ, L.: Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 11, 2007, 394-398. ISSN 1212-1819.
- JANŠTOVÁ, B.- NAVRÁTILOVÁ, P.- KRÁLOVÁ, M.- VORLOVÁ, L. The freezing point of raw and heat treated sheep milk and its variation during lactation. *Acta Veterinaria Brno*, 82, 2013, 187-190. 10.2754/avb201382020187
- JANŠTOVÁ, B.- NAVRÁTILOVÁ, P.- DRAČKOVÁ, M.- PŘIDALOVÁ, H.- VORLOVÁ, L.: Impact of heat treatment on the freezing points of cow and goat milk. *Acta Veterinaria Brno*, 78, 4, 2009, 679-684. ISSN 1801-7576.
- JANŮ, L.- HANUŠ, O.- BAUMGARTNER, C.- MACEK, A.- JEDELSKÁ, R.: The analysis of state, dynamics and properties of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. *Analýza stavu, dynamiky a vlastností ukazatelů kvality syrového kravského mléka v České republice. Acta Fyt. Zoot.*, 10, 3, ISSN 1335-258X, 2007, 74-85.
- KADLEC, I. a kol.: *Výroba, nákup a zvyšování jakosti mléka. Mlékárenský průmysl, koncern, Praha, STIPP, 1988.*
- KADLEC, I.: Problematika prvovýroby mléka. *Náš chov*, 63, 2003, 2.
- KADLEC, P.- MELZUCH, K.- VOLDŘICH, M.: *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin. Key Publishing, Ostrava, 2009, s. 536.*
- KERESTEŠ, J. *Ovčiarstvo na Slovensku - História a technológia. 1. vydání. Považská Bystrica. Eminent, 2008.*

- KLÍČNÍK V. (1978): Technologie nživočišných výrobků I. Mlékařství. Vysoká škola zemědělská v Brně, Fakulta agronomická. SPN Praha, pp. 270. ISBN 17-091-78.
- KLIMEŠOVÁ, M.- HANUŠ, O.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.- NEJESCHLEBOVÁ, L. (2019a): CERTIFIKOVANÁ METODIKA - Interní, faremní standard kvality syrového mléka malých přežvýkavců – počet somatických buněk (CM-PSB MP). Osvědčení vydala Česká plemenářská inspekce, Praha, dne 29. 10. 2019. ISBN 978-80-904348-7-5.
- KLIMEŠOVÁ, M.- HANUŠ, O.- NEJESCHLEBOVÁ, L.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J. (2019b): CERTIFIKOVANÁ METODIKA - Implementace limitního počtu mezofilních mikroorganismů v syrovém ovčím mléce do praxe (CPM-ovce). Osvědčení vydala Česká plemenářská inspekce, Praha, dne 21. 10. 2019. ISBN 978-80-904348-6-8.
- KLIMEŠOVÁ, M.- HANUŠ O.- TOMÁŠKÁ M.- HOFERICOVÁ M.- VORLOVÁ L.- CHLÁDEK G.- JEDELSKÁ R.- NEJESCHLEBOVÁ L.- VONDRUŠKOVÁ E. (2017): Correlation between total bacterial and somatic cell counts. Journal of Food and Nutrition Research, 56, 4, 2017, 341-350. ISSN 1336-672.
- KLIMEŠOVÁ, M.- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- HANUŠ, O.- VORLOVÁ, L.- NEJESCHLEBOVÁ, L.- NEJESCHLEBOVÁ, H.- HASOŇOVÁ, L.- KOPECKÝ, J.- VONDRUŠKOVÁ, E.: Seasonal dynamics and possible development of total count of microorganisms in sheep milk. Acta Veterinaria Brno, 85, 2, 2016, 157-164. ISSN 1801-7576.
- KRÁLÍČKOVÁ, Š.- KUCHTÍK, J.- FILIPČÍK, R.- LUŽOVÁ, T.- ŠUSTOVÁ, K.: Effect of choosen factors on milk yield, basic composition and somatic cell count of organic milk of Brown short-haired goats. Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun., LXI, 1, 2013, 99-105. ISSN 1211-8516.
- KUCHTÍK, J.- KALHOTKA, L.- PAVLATA, L.- ŠUSTOVÁ K.: Předběžné hodnocení celkového počtu mikroorganismů a počtu somatických buněk v bazénových vzorcích kozího mléka a jejich korelace. Sborník VFU Brno, 2015b, 27-31. ISBN 978-80-7305-764-0.
- KUCHTÍK, J.- SEDLÁČKOVÁ, H.: Composition and properties of milk in white short-haired goats on the third lactation. Czech J. Anim. Sci., 48, 12, 2003, 540-550.
- KUCHTÍK, J.- ŠUSTOVÁ K.- KALHOTKA, L.- PAVLATA, L.: Celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk v kozím mléce a jejich korelace. Mlékařské Listy, 152, 2015 a, XIX-XXVI.
- KVAPILÍK, J.- BUCEK, P.- KUČERA, J. A KOL.: Ročenka. Chov skotu v České republice. Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2018. Vydala Českomoravská společnost chovatelů, a. s.; Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha – Uhřetěves; Svaz chovatelů

- českého strakatého skotu, z. s.; Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR, z. s.; Český svaz chovatelů masného skotu, z. s., Praha, srpen 2019.
- KVAPILÍK, J.- PYTLOUN, J.- BUCEK, P. a kol.: Chov skotu v České republice. Ročenka 2006. ČMSCH a.s. Praha, 2007, 98.
- LEITNER, G.- CHAFFER, M.- CARASO, Y.- EZRA, E.- KABABEA, D.- WINKLER, M.- GLICKAMN, A.- SARAN, A.: Udder infection and milk somatic cellcount, NAGase activity and milk composition - fat, protein and lactose – in Israeli - Assaf and Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 49, 2003, 157-164.
- LEITNER, G.- MERIN, U.- GLICKMAN, A.- WEISBLIT, L.- KRIFUCKS, O.- SHWIMMER, A.- SARAN, A.: Factors influencing milk quantity and quality in Assaf sheep and goat crossbreds. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 34, 2004 a, 162-164.
- LEITNER, G.- MERIN, U.- SILANIKOVE, N.: Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats, *J. Dairy Sci.*, 87, 2004 b, 1719-1726.
- LEITNER, G.- SILANIKOVE, N.- MERIN, U.: Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Rumin. Res.*, 74, 1-3, 2008, 221-225.
- LUŽOVÁ, T.- ŠUSTOVÁ, K.- KOZELKOVÁ, M.- VYSKOČIL, I.- KUČTÍK, J. Vliv stádia laktace na složení a vlastnosti kozího mléka a kvalitu sýrů vyráběných na farmě. *Mlékařské listy*, 131, 2012, V-XI.
- MÁTLOVÁ, V.: Zpracování kozího mléka. *Náš chov*, 1992, 52, 330-331.
- MERLIN JR., I.A. - DOS SANTOS, J.S. – COSTA L.G. - COSTA, R.C. - LUDOVICO, A. - DE ALMEIDA REGO, F.C. - WALTER DE SANTANA, E.H.: Sheep milk: physical-chemical characteristics and microbiological quality. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 65 (3), 2015, 193-198. ISSN 0004-0622.
- MONTVILLE, J.T.- MATTHEWS, R.K.: *Food microbiology: an introduction*. ASM Press, Washington, 2008, 428 s., ISBN 978-1-55581-396-3.
- MORAND-FEHR, P.- FEDELE, V.- DECANDIA, M.- LE FRILEUX, Y.: Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.*, 68, 2007, 20-34.
- MUEHLHERR, J. E.- ZWEIFEL, C.- CORTI, S.- BLANCO, J. E.- STEPHAN, R.: Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 86, 12, 2003, 3849-3856.
- NAKAI, S.- LI-CHAN, E.: Effect of clotting in stomachs of infants on protein digestibility of milk. *Food Microstructure*, 1987, 6, 161-170.

- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004 stanovující zvláštní hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu.
- OLIVEIRA, C.J.B.- HISRICH, E.R.- MOURA, J.F.P.- GIVISIEZ, P.E.N.- COSTA, R.G.- GEBREYES, W.A.: On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. *Small Rumin. Res.*, 98, 2011, 64-69.
- PAAPE, M. J.- POUTREL, B.- CONTRERAS, A.- MARCO, J. C.- KAPUCO, A. V.: Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.*, 84, E. Suppl., 2001, E237-E244.
- PAAPE, M. J.- WIGGANS, G. R.- BANNERMAN, D. D.- THOMAS, D. L.- SANDERS, A. H.- CONTRERAS, H.- MORONI, P.- MILLER, R. H.: Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Rumin. Res.*, 68, 2007, 114-125.
- PÁČOVÁ Z.- ŠVEC P.- STENFORS L.P.- VYLETĚLOVÁ M.- SEDLÁČEK I.: Isolation of the psychrotolerant species *Bacillus weihenstephanensis* from raw cow's milk. *Czech J. Anim. Sci.*, 48 (2), 2003, 93-96. ISSN 1212-1819.
- PAVIĆ, V.- ANTUNAC, N.- MIOĆ, B.- IVANKOVIĆ, A.- HAVRANEK J.L.: Short communication. Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Journal of Animal Science*, 47 (2), 2002, 80-84.
- PARK, Y. V.- JUAREZ, M.- RAMOS, M.- HAENLEIN, G. F. W.: Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.*, 68, 2007, 88-113.
- PIRISI, A.- LAURET, A.- DUBEUF, J. P.: Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Ruminant Research*, 68, 2007, 167-178.
- PODHORSKÝ, M.: Zdravotní přednosti ovčího a kozího mléka. *Průmysl potravin*, 1993; 44: 152-153.
- RABOLD, K.- TAHSIN, A.- HASCHKA, J.- WEBER, J.- PICHLER, O.- FUHRT, E.: Melken. Sicherung der Milchqualität. *Die Melkfibel*. 2002, 130.
- RAUBERTAS, J. K.- SHOOK, G. E.: Relationship between lactation measures of SCC and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 65, 1982, 419-425.
- RAYNAL-LJUTOVAC, K.- PIRISI, A.- CRÉMOUX, R.- GONZALO, C.: Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rumin. Res.*, 68, 2007, 126-144.
- RENEAU, J. K.- APPLEMAN, R. D.- STEUERNAGEL, G. R.- MUDGE, J. W.: Somatic cell count. An effective tool in controlling mastitis. Agricultural Extension Service, University of Minnesota, AG-FO-0447, 1983, 1988.
- ROSENMAN, J.- GARRY, E. Base freezing point values of untainted goat, sheep, and water buffalo milk. Advanced Instruments, Inc., Norwood, MA. Scientific Poster. In

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Annual Meeting in *Orlando*, Fla on September 26-29, 2010.
- SAMKOVÁ, E. a kol.: *Mléko: produkce a kvalita*. Vědecká monografie, ZF, JUČB, 2012 a, 240. ISBN 978-80-7394-383-7.
- SEYDLOVÁ, R.: *Dezinfekce v prvovýrobě mléka*. *Náš chov*, 8, 2005, 6-8.
- SEYDLOVÁ, R.: *Optimalizace hygienické kvality mléka*. *Dny prvovýroby mléka 2018*, ČMSCH a.s., Hustopeče, 8. a 9. 11. 2018. <https://www.cmsch.cz/laboratore/lrm-laboratore-pro-rozbor-mleka/nabidka-sluzeb-lrm/dny-prvovyroby-mleka-2018-seznam-referatu/>
- SHEARER, J. K.- HARRIS, B., JR.: *Mastitis in Dairy Goats*. IFAS Extension, University of Florida, DS 85, 1992, 2003, 1-7.
- SHOOK, G. E.: *Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability*. Nat. Mast. Council, Louisville, Kentucky 1982, 1-17.
- SILANIKOVE, N.- LEITNER, G.- MERIN, U.- PROSSER, C. G.: *Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects*. *Small Rumin. Res.*, 89, 2-3, 2010, 110-124.
- SKEIE, S.B.: *Quality aspects of goat milk for cheese production in Norway: A review*. *Small Rumin. Res.*, 122(1-3), 2014, 10-17.
- SOUSA, J.- DIAS, M.- TANEZINI, C.- ALESSANDRO, W. T. D.- DE OLINIERA, B. C.- DE MÊLO ROCHA, J.- DOS SANTOS PONTES, I. *Freezing point depression of raw goat's milk from the region of Goiânia, Brazil*. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 1993, 6(4), 555-559. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.1993.555>
- STRZALKOWSKA, N.- BAGNICKA, E.- JOZWIK, A.- KRZYZEWSKI, J.- RYNIWICZ, Z.: *Chemical composition and some technological milk parameters of Polish White Improved Goats*. *Arch. Tierz.*, 47, 2004, 122-128.
- TAHSIN, A.- BAUMGARTNER, C.- BORCHERT, U.- FISCHER, K.: *Milch und Melken. Richtig melken und die Milchqualität sichern. Grundlagen für Ausbildung und Praxis*, ISBN: 3-938992-61-1, 2008, 123.
- VORLOVÁ, L. a kol.: *„Stanovení parametrů pro legislativní hodnocení kvality a zdravotní nezávadnosti syrového mléka krav, ovcí a koz (2012-2016)“*. Závěrečná zpráva projektu MZe NAZV KUS QJ1230044, 2017.
- VYLETĚLOVÁ, M.- BENDA, P.- HANUŠ, O.- KOPUNECZ, P.: *Determination of total counts of psychrotrophic bacteria in pool milk samples and their relation to total counts of microorganisms*. *Czech J. Food Sci.*, 17, 1999a, 216-222. ISSN 1212-1800.

- VYLETĚLOVÁ, M.- FICNAR, J.- HANUŠ, O.: Effects of lipolytic enzymes *Pseudomonas fluorescens* on liberation of fatty acids from milk fat. Czech J. Food Sci., Vol. 18, No. 5, 2000a, 175-182. ISSN 1212-1800.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- KARPÍŠKOVÁ, R.- ŠTÁSTKOVÁ, Z.: Occurrence and antimicrobial sensitivity in staphylococci isolated from goat, sheep and cow's milk. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., ISSN 1211-8516, LIX, 3, 2011, 209-214.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- PÁČOVÁ, Z.- ROUBAL, P.- KOPUNECZ, P.: Frequency of *Bacillus* bacteria in raw cow's milk and its relation to other hygienic parameters. Czech J. Animal Sci., 46 (6), 2001, 260-267. ISSN 1212-1819.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- URBANOVÁ, E.- KOPUNECZ, P.: The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions. Czech J. Animal Sci., 45, 2000b, 373-383. ISSN 1212-1819.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- URBANOVÁ, E.: Occurrence and identification of proteolytic and lipolytic psychrotrophic bacteria in bulk samples of cow's milk. Veterinářství, 11 (49), 1999b, 480-482. ISSN 0506-8231.
- VYLETĚLOVÁ, M.- ŘÍHA, J.- HANUŠ, O.: Výskyt mastitidních infekcí v kozím mléce a jejich vztah k ostatním mléčným parametrům. Výzkum v chovu skotu / Cattle Research, LI, 186, 2, ISSN 0139-7265, 2009, 14-18.
- VYLETĚLOVÁ, M.- ŠVEC, P.- PÁČOVÁ, Z.- SEDLÁČEK, I.- ROUBAL P.: Occurrence of *Bacillus cereus* and *Bacillus licheniformis* strains in the course of UHT milk production. Czech J. Anim. Sci., 47, 2002, 200-205. ISSN 1212-1819.
- WEBB, B.H. - JOHNSON, A.H.: Fundamentals of Dairy Chemistry. The AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut, 1965, p. 610.
- WIGGANS, G. R.- SHOOK, G. E.: A lactation measure of somatic cell count. Journal of Dairy Science, 70, 1987, 2666-2672.
- WILSON, D. J.- STEWART, K. N.- SEARS, P. M.: Effects on goat somatic cell counts of intramammary infection, stage of lactation and season. J. Dairy Sci., 75 (Suppl. 1), 1992, 163 (Abstr.), P54.

6) Seznam publikací, které předcházely metodice

HANUŠ, O.- FRELICH, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- ROUBAL, P.- VORLÍČEK, Z.- JEDELSKÁ, R.:

Technologically difficult, pathogenic and food risky bacterial contamination of raw milk and other materials from dairy cow herds. *Czech Journal of Animal Science*, 49, 2004, 11, 489-499.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- KUČERA, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- TŘINÁCTÝ, J.: Analyse of relationships between freezing point and selected indicators of udder health state among cow, goat and sheep milk. Analýza vztahů mezi bodem mrznutí a vybranými ukazateli zdravotního stavu vemene mezi kravským, kozím a ovčím mlékem. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, LVII, 5, 2009a, 103-110.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- KUČERA, J.- LANDOVÁ, H.: Impact of some udder health state indicators on milk freezing point in small ruminants and cattle. Vliv některých ukazatelů zdravotního stavu vemene na bod mrznutí mléka u malých přežvýkavců a skotu. 3rd International Scientific Conference on Small Ruminant Development, 12 – 15 April, The Egyptian Association for Sheep and Goat, Hurghada, Egypt, 12-15 April 2010a, *Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences*, 5, 1, 299-305.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- KUČERA, J.- TŘINÁCTÝ, J.: The effects of milk indicators of sheep mammary gland health state on some milk composition and properties. Vlivy ukazatelů zdravotního stavu mléčné žlázy ovcí na složení a vlastnosti mléka. *Folia Veterinaria*, 53, 4, 2009b, 208-216. ISSN 0015-5748.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- LANDOVÁ, H.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.: The comparison of relationships between milk indicators in different species of ruminants in the Czech Republic. *Výzkum v chovu skotu / Cattle Research*, L, 183, 3, 2008a, 35-44. ISSN 0139-7265.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- VYLETĚLOVÁ, M.- LANDOVÁ, H.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.: The effect of goat udder health on composition and properties of raw milk. *Folia Veterinaria*, 52, 3-4, 2008b, 149-154. ISSN 0015-5748.

HANUŠ, O.- GENČUROVÁ, V.- YONG, T.- KUČERA, J.- ŠTOLC, L.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.: Reference and indirect instrumental determination of basic milk composition and somatic cell count in various species of mammals. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 40, 4, 2009c, 196 - 203. ISSN 1211-3174.

HANUŠ, O.- HRONEK, M.- HYŠPLER, R.- YONG, T.- TICHÁ, A.- FIKROVÁ, P.- HANUŠOVÁ, K.- SOJKOVÁ, K.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.: Vztah mezi počtem somatických buněk a

- obsahem laktózy v mléce různých druhů savců. Relationship between somatic cell count and lactose content in milk of various species of mammals. (In Czech) Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun., LVIII, 2, 2010b, 87-100. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- JANŮ, L.- SCHUSTER, J.- KUČERA, J.- VYLETĚLOVÁ, M.- GENČUROVÁ, V.: Exploratory analysis of dynamics of frequency distribution of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. Průzkumná analýza dynamiky rozložení četností hodnot ukazatelů kvality syrového kravského mléka v České republice. Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun., LIX, 1, 2011 a, 83-100. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- JANŮ, L.- VYLETĚLOVÁ, M.- KUČERA, J.: Research and development of a synthetic quality indicator for raw milk assessment. Folia Veterinaria, 53, 2, 2009d, 90-100. ISSN 0015-5748.
- HANUŠ, O.- JANŮ, L.- VYLETĚLOVÁ, M.- MACEK, A.: Validace použitelnosti algoritmu relativního syntetického ukazatele kvality syrového mléka (SQSM) pro konzistentní modifikaci farmářské ceny. A validation of algorithm practicability of the relative synthetic raw milk quality indicator (SQSM) for consistent modification of farmer price. (In Czech) Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun., LV, 5, 2007, 71-82. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- ROUBAL, P.- KLIMEŠOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.- HEGEDŮŠOVÁ, Z.: Retrospektivní analýza trendů vývoje dojivosti a kvality syrového kravského mléka v České republice. Retrospective analysis of trends in yield and quality of raw cow milk in the Czech Republic. Mlékařské listy - zpravodaj, 30, 172, 1, 2019, 4-11. ISSN 1212-950X.
- HANUŠ, O.- ROUBAL, P.- VYLETĚLOVÁ, M.- YONG, T.- BJELKA, M.- DUFEK, A.: The relations of some milk indicators of energy metabolism in cow, goat and sheep milk. Vztahy některých mléčných ukazatelů energetického metabolismu v kravském, kozím a ovčím mléce. Scientia Agriculturae Bohemica, 42, 3, 2011b, 102-112. ISSN 1211-3174.
- HANUŠ, O.- SOJKOVÁ, K.- HANUŠOVÁ, K.- SAMKOVÁ, E.- HRONEK, M.- HYŠPLER, R.- KOPECKÝ, J.- JEDELSKÁ, R.: An experimental comparison of methods for somatic cell count determination in milk of various species of mammals. Pokusné srovnání metod stanovení počtu somatických buněk v mléce různých druhů savců. ISSN 1212-950X, 1, 2011c, 67-82. ISSN 1211-8516, LIX.
- HANUŠ, O.- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M.- K LAPÁČOVÁ, L.- JEDELSKÁ, R.- KOLOŠTA, M.: Relationship between freezing point and raw ewes' milk components as a possible tool for estimation of milk adulteration with added water.

- Vztah mezi bodem mrznutí a složkami syrového ovčího mléka jako možný prostředek pro odhad falšování mléka přidanou vodou. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54, 4, 2015, 281-288. ISSN 1336-8672.
- HANUŠ, O.- VYLETĚLOVÁ, M.- GENČUROVÁ, V.- HULOVÁ, I.- LANDOVÁ, H.: Differences of some indicators of raw milk properties and especially mineral composition between small ruminants as compared to cows in the Czech Republic. Rozdíly některých ukazatelů vlastností syrového mléka a zejména minerálního složení mezi malými přežvýkavci ve srovnání s kravami v České republice. ISSN 1212-950X, LVI, 5, 2008 c, 51-56. ISSN 1211-8516.
- HANUŠ, O.- ROUBAL, P.- KUČERA, J.- KLIMEŠOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.: Somatic cell count and milk yield losses in goats. Počet somatických buněk a ztráty mléčné užitkovosti u koz. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.*, 65, 4, 2017, 1149-1160. ISSN 1211-8516.
- JANŮ, L.- HANUŠ, O.- BAUMGARTNER, C.- MACEK, A.- JEDELSKÁ, R.: The analysis of state, dynamics and properties of raw cow milk quality indicators in the Czech Republic. Analýza stavu, dynamiky a vlastností ukazatelů kvality syrového kravského mléka v České republice. *Acta Fyt. Zoot.*, 10, 3, 2007, 74-85. ISSN 1335-258X.
- KLAPÁČOVÁ, L.- GREIF, G.- GREIFOVÁ, M.- TOMÁŠKA, M.- HANUŠ, O.- DUDRIKOVÁ, E.: Antimicrobially active lactobacilli from goats' milk that do not produce biogenic amines. Antimikrobiálně aktivní laktobacily z kozího mléka, které neprodukují biogenní aminy. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54, 3, 2015, 270-274. ISSN 1336-8672.
- KLIMEŠOVÁ, M.- HANUŠ, O.- BOGDANOVIČOVÁ, K.- NĚMEČKOVÁ, I.- NEJESCHLEBOVÁ, L.- KOPECKÝ, J.- KALHOTKA, L.: Hodnocení složkových, hygienických, fyzikálních a technologických ukazatelů syrového ovčího a kozího mléka a jejich srovnání s kravským mlékem. Evaluation of compositional, hygienic, physical and technological parameters of raw sheep and goat's milk and their comparison with cow's milk. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 152, 2015, XVI-XIX. ISSN 1212-950X.
- KLIMEŠOVÁ, M.- HANUŠ, O.- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- VORLOVÁ, L.- CHLÁDEK, G.- JEDELSKÁ, R.- NEJESCHLEBOVÁ, L.- VONDRUŠKOVÁ, E.: Correlation between total count of microorganisms and somatic cells in bulk sheep milk. Korelace mezi celkovým počtem mikroorganismů a počtem somatických buněk v bazénovém ovčím mléce. *Journal of Food and Nutrition Research*, 56, 4, 2017, 341-350. ISSN 1336-8672.

- KLIMEŠOVÁ, M.- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- HANUŠ, O.- VORLOVÁ, L.- NEJESCHLEBOVÁ, L.- NEJESCHLEBOVÁ, H.- HASONOVÁ, L.- KOPECKÝ, J.- VONDRUŠKOVÁ, E.: Seasonal dynamics and possible development of total count of microorganisms in sheep milk. Sezónní dynamika a možný vývoj celkového počtu mikroorganismů v ovčím mléce. *Acta Veterinaria Brno*, 85, 2, 2016, 157-164. ISSN 1801-7576.
- PÁČOVÁ, Z.- ŠVEC, P.- STENFORS, L.P.- VYLETĚLOVÁ, M.- SEDLÁČEK, I.: Isolation of the psychrotolerant species *Bacillus weihenstephanensis* from raw cow's milk. *Czech J. Anim. Sci.*, 48 (2), 2003, 93-96. ISSN 1212-1819.
- SAMKOVÁ, E. a kol.: Mlékařství, edukativní DVD. ZF, JUČB, 2012 b, MOONFILM. ISBN 978-80-7394-393-6.
- SAMKOVÁ, E. a kol.: Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie, ZF, JUČB, 2012 a, 240. ISBN 978-80-7394-383-7.
- SOJKOVÁ, K.- ŘÍHA, J.- HANUŠ, O.- JEDELSKÁ, R.- KOPECKÝ, J.: Analýza vztahu mezi počtem somatických buněk a technologickými ukazateli kvality v kozím mléce. Analysis of relationships between somatic cell count and technological indicators of quality in goat milk. (In Czech) *Výzkum v chovu skotu / Cattle Research*, LI, 186, 2, 2009, 24-28. ISSN 0139-7265.
- TOMÁŠKA, M.- HANUŠ, O.- HOFERICOVÁ, M.- JEDELSKÁ, R.- CHRACHALOVÁ, K.- KOLOŠTA, M.: Predikcia zvodnenia ovčieho mlieka – testovanie zvoleného modelu na mlieku kravskom. Prediction of adulteration of sheep's milk with water – testing of the selected model on cow's milk. *Celostátní přehledky sýrů, Mléko a sýry, VŠCHT v Praze*, 2014 a, 129-132. ISBN 978-80-7080-909-9.
- TOMÁŠKA, M.- HANUŠ, O.- HOFERICOVÁ, M.- SLOTTOVÁ, A.- DRONČOVSKÝ, M.- KOLOŠTA, M.: Verifikácia merania mikrobiologickej kvality surového mlieka metódou BactoScan FC. In: *Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie Bezpečnosť a kontrola potravín* (Angelovičová, M. a kol.; ed.) 127-131, 27. – 28. marec 2014 b, Smolenice, KHBP, FBT, SPU, Nitra.
- TOMÁŠKA, M.- HOFERICOVÁ, M.- KOLOŠTA, M.- HANUŠ, O.: Kvalita nakupovaného surového ovčieho mlieka na Slovensku v roku 2013. The quality of purchased raw sheep's milk in Slovak in 2013. In: *Hygiena a technologie potravin XLIV. Lenfeldovy a Höklovy dny, Food Hygiene and Technology - 44th Lenfeld's and Hökl's Days*, VFU Brno, 15. – 16. 10., 2014 c, 184-187.
- TOMÁŠKA, M.- SUHREN, G.- HANUŠ, O.- WALTE, H. G.- SLOTTOVÁ, A.- HOFERICOVÁ, M.: The application of flow cytometry in determining the bacteriological quality in raw sheep's

- milk in Slovakia. Lait, 86, 2006, 127-140. ISSN 0023-7302.
- VORLOVÁ, L. a kol.: “Stanovení parametrů pro legislativní hodnocení kvality a zdravotní nezávadnosti syrového mléka krav, ovcí a koz (2012-2016)“. Závěrečná zpráva projektu Mze NAZV KUS, QJ1230044, 2017.
- VYLETĚLOVÁ, M.- BENDA, P.- HANUŠ, O.- KOPUNECZ, P.: Determination of total counts of psychrotrophic bacteria in pool milk samples and their relation to total counts of microorganisms. Czech J. Food Sci., 17, 1999 a, 216-222. ISSN 1212-1800.
- VYLETĚLOVÁ, M.- FICNAR, J.- HANUŠ, O.: Effects of lipolytic enzymes *Pseudomonas fluorescens* on liberation of fatty acids from milk fat. Czech J. Food Sci., 18 (5), 2000 a, 175-182. ISSN 1212-1800.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- BENDA, P.- KOPUNECZ, P.: Psychrotrophic and total bacteria counts in raw cow's milk. Veterinářství, 9 (48), 1998, 373-374. ISSN 0506-8231.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- KARPÍŠKOVÁ, R.- ŠTÁSTKOVÁ, Z.: Occurrence and antimicrobial sensitivity in staphylococci isolated from goat, sheep and cow's milk. Výskyt a citlivost na antibiotika u stafylokoků izolovaných z kozího, ovčího a kravského mléka. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., LIX, 3, 2011, 209-214. ISSN 1211-8516.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.: Psychrotrofní bakteriální kontaminace a teplota skladování ve vztahu ke kvalitě pasterovaného mléka. Sborník příspěvků: „Šlechtitelské, výživářské a technologické aspekty produkce a kvality mléka“. Rapotín, listopad 2000: 99-106.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- PÁČOVÁ, Z.- ROUBAL, P.- KOPUNECZ, P.: Frequency of *Bacillus* bacteria in raw cow's milk and its relation to other hygienic parameters. Czech J. Animal Sci., 46 (6), 2001, 260-267. ISSN 1212-1819.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- URBANOVÁ, E.- KOPUNECZ, P.: The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions. Czech J. Animal Sci., 45, 2000 b, 373-383. ISSN 1212-1819.
- VYLETĚLOVÁ, M.- HANUŠ, O.- URBANOVÁ, E.: Occurrence and identification of proteolytic and lipolytic psychrotrophic bacteria in bulk samples of cow's milk. Veterinářství, 11 (49), 1999 b, 480-482. ISSN 0506-8231.
- VYLETĚLOVÁ, M.- ŘÍHA, J.- HANUŠ, O.: Occurrence of mastitis infections in goat milk and their relation to other milk parameters. Výskyt mastitidních infekcí v kozím mléce a jejich vztah k ostatním mléčným parametrům. Výzkum v chovu skotu / Cattle Research, LI, 186, 2, 2009, 14-18. ISSN 0139-7265.

- VYLETĚLOVÁ, M.: Stanovení celkového počtu psychrotrofů v bazénových vzorcích mléka svozné oblasti severní a střední Moravy. Výzkum v chovu skotu, 4, 1998, 9-13. ISSN 0139-7265
- VYLETĚLOVÁ, M.- ŠVEC, P.- PÁČOVÁ, Z.- SEDLÁČEK, I.- ROUBAL, P.: Occurrence of *Bacillus cereus* and *Bacillus licheniformis* strains in the course of UHT milk production. Czech J. Anim. Sci., 47, 2002, 200-205. ISSN 1212-1819.
- VYLETĚLOVÁ, M.- URBANOVÁ, E.- BENDA P.: Výskyt psychrotrofních mikroorganismů v syrovém kravském mléce, vliv proteolytických a lipolytických enzymů na technologické vlastnosti mléka. Výzkum v chovu skotu, 3, 2000 c, 1-10. ISSN 0139-7265.

Příloha 1

Analytické metody běžného praktického stanovení vybraných ukazatelů kvality syrového mléka

Stanovení počtu somatických buněk (PSB) v mléce mikroskopicky, metodou fluoro-optoelektronickou na rotujícím disku nebo průtočnou cytometrií - fluoro-optoelektronická metoda na rotujícím disku nebo průtočné cytometrie (CSN EN ISO 13366–2 (57 0531)) musí být, pro stanovení počtu somatických buněk (PSB), kalibrována na výsledky referenční přímé mikroskopické metody, i když sama má charakter metody přímé. Je však automatizována. Buněčné jádro je za podmínek metody obarveno barvivem (nejčastěji ethidiumbromid) a to, vázáno na desoxyribonukleovou kyselinu. Komplex po osvětlení emituje specifické záření, které je osciloskopicky registrováno jako impuls, tedy buňka. Film vzorku s barvivem a pufrů prochází (rotuje na obvodu disku) jako nekonečný pás nebo obdobný proud vzorku teče v laminárním proudu pufrů v kapalin s barvivem pod fluoro-optoelektronickým mikroskopem. Jako starší varianta čítání buněk je tedy v nekonečném pásu filmu reakční směsi vzorku naneseném na hranu rotujícího disku pod mikroskopem. Modernější varianta je průtočná cytometrie, avšak na stejném principu s laserovou indukcí emise. Výsledky jsou podobné přímé mikroskopii. Metoda přímé mikroskopie PSB je metodou referenční (CSN EN ISO 13366–1 (57 0531)). Buňky v určitém objemu mléka jsou za podmínek metody rozetřeny po definované ploše podložního sklíčka, fixovány organickými roztoky, vysušeny a obarveny organickými barvivy. Preparát pod optickým mikroskopem musí být počítán v mnoha oddělených zorných polích po ploše celého nátěru a také opakovaným vyšetřením (více nátěrů) pro určení referenční hodnoty vzorku. Osoba provádějící čítání somatických buněk musí být zkušená v cytologii a diferenciaci krevních a epiteliálních buněk pohledem podle jejich morfologických vlastností.

Stanovení tuku (T) v mléce infračerveným absorpčním analyzátozem (Delta Instruments, Bentley nebo Foss, MIR-FT), kalibrace na metodu podle Roesse-Gottlieba (ČSN 57 0530) - K analýzám složení mléka je s úspěchem využívána metoda infračervené spektroskopie. Ta je provozována obvykle ve středové oblasti infračerveného záření (MIR) a v úpravě technologie 1) s optickými filtry pro hlavní složky mléka (tuk, bílkoviny a laktóza měřením a sušina a sušina tukuprostá kalkulací) nebo 2) celé IR spektrum s Fourierovými transformacemi pro

hlavní (tuk, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina a sušina tukuprostá) i minoritní (močovina, kyselina citronová, volné mastné kyseliny, ketony) složky mléka. Tyto instrumenty pracují automaticky a jsou řízeny počítačovou jednotkou. Přístroje musí být kalibrovány na výsledky metod referenčních na relevantní sadě kalibračních vzorků a to v pravidelných intervalech (měsíc až čtvrt roku) a s přijatelnými (definovanými) statistickými parametry kvality kalibrace. Vzorek mléka je načerpán do kyvety a prosvícen zdrojem infračerveného záření. Energie, podle svých vlnových délek, způsobí vibrace specifických složek mléka, je zčásti pohlcena a na detektor dopadá její snížená úroveň. Rozdíl je úměrný koncentraci hledané složky. Tento je tedy kalibrován. Postup je přirozeně složitější a zahrnuje také očištění signálu od interferenčních absorpcí ostatních složek než hledané při simultánním měření, výsledkem obecně jsou však poměrně spolehlivé odhady koncentrace složek mléka. Jako nepřímá metoda bývá použita metoda MIR-FT (mid infrared, středová infračervená spektroskopie s Fourierovými transformacemi) v technickém provedení Delta Instruments, Bentley nebo Foss. S přístrojem se pracuje podle návodu výrobce. Referenční metoda obecně (rozhodčí ČSN 57 0530) pro tuk je extrakčně-gravimetrická metoda podle Roesse-Gottlieba. Tuk je za podmínek metody extrahován organickými rozpouštědly jako je petrolether. Tuk je pak odstředěn, rozpouštědla odpařena a tuk zvážen, tedy v hmotnostních procentech z původní navážky mléka. Jako referenční metoda bývá použita extrakčně-gravimetrická metoda podle Roesse-Gottlieba (ČSN 57 0530), zpravidla v měsíčních intervalech s 10 vzorky mléka s potřebnou škálou hodnot.

Stanovení hrubých bílkovin (B) v mléce infračerveným absorpčním analyzátozem (Delta Instruments, Bentley nebo Foss, MIR-FT), kalibrace na metodu podle Kjeldahla (ČSN 57 0530) - k analýzám složení mléka je využívána metoda infračervené spektrofotometrie. Ta je provozována obvykle ve středové oblasti infračerveného záření (MIR) a v úpravě technologie 1) s optickými filtry pro hlavní složky mléka (tuk, bílkoviny a laktóza měření a sušina a sušina tukuprostá kalkulací) nebo 2) celé IR spektrum s Fourierovými transformacemi pro hlavní (tuk, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina a sušina tukuprostá) i minoritní (močovina, kyselina citronová, volné mastné kyseliny, ketony) složky mléka. Tyto instrumenty pracují automaticky a jsou řízeny počítačovou jednotkou. Přístroje musí být kalibrovány na výsledky metod referenčních na relevantní sadě kalibračních vzorků a to v pravidelných intervalech (měsíc až čtvrt roku) a s přijatelnými (definovanými) statistickými parametry kvality kalibrace. Vzorek mléka je načerpán do kyvety a prosvícen zdrojem infračerveného záření. Energie, podle svých vlnových délek, způsobí vibrace specifických složek mléka, je zčásti

pohlčena a na detektor dopadá její snížená úroveň. Rozdíl je úměrný koncentraci hledané složky. Tento je tedy kalibrován. Postup je přirozeně složitější a zahrnuje také očištění signálu od interferenčních absorpcí ostatních složek než hledané při simultánním měření, výsledkem obecně jsou však poměrně spolehlivé odhady koncentrace složek mléka.

Jako nepřímá metoda bývá použita metoda MIR-FT (mid infrared, středová infračervená spektroskopie s Fourierovými transformacemi) v technickém provedení Delta Instruments, Bentley nebo Foss. S přístrojem se pracuje podle návodu výrobce. Klasicky, jako referenční pro přípravu kalibračních standardů je používána mineralizačně-destilačně-titrační Kjeldahlovu metodu (ČSN 57 0530) určení obsahu dusíku v mléce. Bílkoviny jsou rozloženy vařením s kyselinou sírovou v přítomnosti katalyzátoru (Cu, Se) a převedeny na síran amonný. Amoniak je poté vytěsněn alkalickým roztokem louhu sodného, destilován, jímán a titrován kyselinou sírovou o známém faktoru. Stanovený dusík je následně převeden na bílkoviny faktorem 6,38, který uvádí průměrný obsah dusíku v mléčných bílkovinách 15,7 %. Jako referenční metoda bývá použita mineralizačně-destilačně-titrační metoda určení obsahu celkového dusíku podle Kjeldahla (ČSN 57 0530) v měsíčních intervalech s 10 vzorky mléka s potřebnou škálou hodnot.

Stanovení monohydrátu laktózy (L) infračerveným absorpčním analyzátozem (Delta Instruments, Bentley nebo Foss, MIR-FT), kalibrace na metodu polarimetrickou (ČSN 57 0530) - k analýzám složení mléka je využívána metoda infračervené spektrofotometrie. Ta je provozována obvykle ve středové oblasti infračerveného záření (MIR) a v úpravě technologie 1) s optickými filtry pro hlavní složky mléka (tuk, bílkoviny a laktóza měřením a sušina a sušina tukuprostá kalkulací) nebo 2) celé IR spektrum s Fourierovými transformacemi pro hlavní (tuk, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina a sušina tukuprostá) i minoritní (močovina, kyselina citronová, volné mastné kyseliny, ketony) složky mléka. Tyto instrumenty pracují automaticky a jsou řízeny počítačovou jednotkou. Přístroje musí být kalibrovány na výsledky metod referenčních na relevantní sadě kalibračních vzorků a to v pravidelných intervalech (měsíc až čtvrt roku) a s přijatelnými (definovanými) statistickými parametry kvality kalibrace. Vzorek mléka je načerpán do kyvety a prosvícen zdrojem infračerveného záření. Energie, podle svých vlnových délek, způsobí vibrace specifických složek mléka, je zčásti pohlčena a na detektor dopadá její snížená úroveň. Rozdíl je úměrný koncentraci hledané složky. Tento je tedy kalibrován. Postup je přirozeně složitější a zahrnuje také očištění signálu od interferenčních absorpcí ostatních složek než hledané při simultánním měření, výsledkem obecně jsou však poměrně spolehlivé odhady koncentrace složek mléka. Jako nepřímá metoda

bývá použita metoda MIR-FT (mid infrared, středová infračervená spektroskopie s Fourierovými transformacemi) v technickém provedení Delta Instruments, Bentley nebo Foss. S přístrojem se pracuje podle návodu výrobce. Klasicky je laktóza (ČSN 57 0530) stanovena např. polarimetrickou metodou, kdy je, po srážení a filtraci mléka ve filtrátu změřen v kruhových stupních stupeň otočení roviny polarizovaného světla asymetrickým (na každé ze čtyř vazeb jiný substituent) uhlíkem, přítomným v molekule laktózy. Stupeň otočení roviny polarizovaného světla je tedy přímo úměrný koncentraci laktózy. Pak je proveden tabulkový přepočet, obvykle na procento monohydrátu laktózy. Jako referenční metoda bývá použita polarimetrická metoda určení obsahu monohydrátu laktózy (ČSN 57 0530) v měsíčních intervalech s 10 vzorky mléka s potřebnou škálou hodnot.

Stanovení sušiny tukuprosté (STP) v mléce infračerveným absorpčním analyzátozem (Delta Instruments, Bentley nebo Foss, MIR a MIR-FT), kalibrace na metodu gravimetrickou (ČSN 57 0530) - k analýzám složení mléka je využívána metoda infračervené spektrofotometrie. Ta je provozována obvykle ve středové oblasti infračerveného záření (MIR) a v úpravě technologie 1) s optickými filtry pro hlavní složky mléka (tuk, bílkoviny a laktóza měřením a sušina a sušina tukuprostá kalkulací) nebo 2) celé IR spektrum s Fourierovými transformacemi pro hlavní (tuk, bílkoviny, kasein, laktóza, sušina a sušina tukuprostá) i minoritní (močovina, kyselina citronová, volné mastné kyseliny, ketony) složky mléka. Tyto instrumenty pracují automaticky a jsou řízeny počítačovou jednotkou. Přístroje musí být kalibrovány na výsledky metod referenčních na relevantní sadě kalibračních vzorků a to v pravidelných intervalech (měsíc až čtvrt roku) a s přijatelnými (definovanými) statistickými parametry kvality kalibrace. Vzorek mléka je načerpán do kyvety a prosvícen zdrojem infračerveného záření. Energie, podle svých vlnových délek, způsobí vibrace specifických složek mléka, je zčásti pohlcena a na detektor dopadá její snížená úroveň. Rozdíl je úměrný koncentraci hledané složky. Tento je tedy kalibrován. Postup je přirozeně složitější a zahrnuje také očištění signálu od interferenčních absorpcí ostatních složek než hledané při simultánním měření, výsledkem obecně jsou však poměrně spolehlivé odhady koncentrace složek mléka. Jako nepřímá metoda bývá použita metoda MIR-FT (mid infrared, středová infračervená spektroskopie s Fourierovými transformacemi) v technickém provedení Delta Instruments, Bentley nebo Foss (Bentley Instruments, Minnesota, Chaska, USA). S přístrojem se pracuje podle návodu výrobce. Přístroj bývá kalibrován rovněž na stanovení sušiny. Sušina (S) je referenčně stanovena za podmínek metody (ČSN 57 0530) vysoušením mléka s pískem po čtyři a půl hodiny do konstantní hmotnosti při 105 stupních Celsia. Sušina je stanovena jako

procento z navážky gravimetricky. Jako referenční metoda bývá použita gravimetrická metoda stanovení sušiny (ČSN 57 0530) s odpočtem obsahu tuku podle Roesse-Gottlieba (ČSN 57 0530) v měsíčních intervalech s 10 vzorky mléka s potřebnou škálou hodnot.

Stanovení bodu mrznutí (BMM) mléka kryoskopicky - kryoskopická metoda je převážně používána jako přímé měření deprese bodu mrznutí mléka (ČSN 57 0538). Jde o nalezení plata na klesající křivce bodu mrznutí, po jejím krátkodobém vzrůstu při mechanicky iniciovaném uvolnění krystalizačního tepla, pomocí snímání termistorovou sondou. Podchlazení vzorku mléka a nález platů na teplotní křivce (s parametry: interval = 23 s a delta t = 0,4 m°C). Přístroj je pravidelně kalibrován použitím standardních referenčních roztoků NaCl. K nepřímému stanovení (odhadu) BMM se používá technologie infračervené spektroskopie a regresní kalkulace ze složek mléka, zejména laktózy, se zohledněním konduktivity mléka, kteréžto obě položky (EK = koncentrace solí) jsou hlavními osmotickými složkami mléka a korespondují proto s BMM. Výstup této kalkulace je nazýván ekvivalent BMM a koreluje se skutečným BMM na hladině cca > 0,8. Tato nepřímá metoda se kalibruje podle referenčních výsledků kryoskopického stanovení BMM.

Kvalitativní stanovení reziduí inhibičních látek (RIL) - v terénu se RIL v mléce rutinně stanovují (základní screening) pomocí zpravidla barevně reagujících mikrobiologických testů (Eclipse, Delvo-test, In-test, BR-test, Kalidos atd.) na bázi *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (*Geobacillus stearothermophilus*), který je extrémně citlivý na antibiotika, zejména však penicilín. Vzorek mléka je aplikován (zpravidla 10 mikrolitrů) na agarovou živnou půdu většinou na mikrodestičkách. Půda obsahuje jako živinu laktózu, dále spóry testovacího mikroorganismu a indikátorové barvivo (zpravidla brom-kresolová červeň, nebo pro redukční testy (BR – nikoliv změna pH, ale redukční potenciál) brilliantová čern)). Po nadávkování vzorku, v podmínkách 63 °C po 3,5 až 4 hodiny, za nepřítomnosti RIL, dojde k vyklíčení spór, jejich růstu a rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou, za změny kyselosti systému (pokles pH) a barvy indikátoru. Původní barva je zpravidla fialová, po inkubaci žlutá, ovšem za absence RIL. V přítomnosti RIL růst není realizován a systém zůstane v původním zbarvení (fialový (Delvo-test), modrý až tmavo-modrý (BR-test)). Pro oddělení případných pozitivních nálezů RIL způsobených přirozenými inhibičními látkami v mléce, např. gama-globuliny, je nezbytné vyšetřovat vzorky syrového mléka výhradně až po jejich pasteraci, neboť přirozené RIL jsou termolabilní. Případný pozitivní nález RIL v bazénovém mléce znamená finanční penalizaci a často zastavení odběru dodávek mléka až do zjednání nápravy.

K ohlášení pozitivního výsledku na RIL je nezbytné potvrdit první pozitivní nález druhým opakovaným pozitivním vyšetřením, neboť testy vykazují ve výsledcích jisté procento tzv. falešně pozitivních (ale i falešně negativních) nálezů. Někdy může být potřebná takzvaná konfirmace výsledku, tzn. pokus o určení konkrétního původu RIL ve vzorku náročnějšími metodami, jako jsou scintilačně-mikrobiologicko-imunologické, elektroforetické, chromatografické atd. Nezřídka může být taková specifikace značně obtížná a finančně náročná. Citlivost některých screeningových mikrobiologických testů na vybraná antibiotika je shrnuta v Tab. 1.

Tab. 1 Citlivost mikrobiologických testů na rezidua antibiotik v mléce.

Antibiotikum, léčivo	Přibližná citlivost v mikrogramech	Antibiotikum, léčivo	Přibližná citlivost v mikrogramech
Benzylpenicilin	0,003	Oxytetracyclin	0,35
Ampicilin	0,004	Erythromycin	1,7
Nafcilin	0,009	Dihydrostreptomycin	9
Cloxacilin	0,025	Chloramfenikol	11
Bacitracin	0,06	Neomycin	12
Tetracyclin	0,25	Kanamycin	19
Chlortetracyclin	0,32		

Další použitou metodou pro stanovení RIL je TwinSensor. Jedná se o kompetitivní test, který využívá dva receptory v jednom operačním kroku. Test vyžaduje použití dvou elementů. Prvním elementem je mikrojamka obsahující přesné množství obou receptorů a protilátek vázaných na částice zlata, a druhý element je ponorný proužek vytvořený z membrán, kde jsou zachytávací linky. Kontrolní červená linka je viditelná vždy a dvě další linky jsou specifické testovací linky umístěné na obou stranách kontrolní linky. Samotná linka pro peniciliny a cephalosporiny je umístěna pod kontrolou, zatímco linka specifická pro tetracykliny je umístěna nad kontrolní linkou. Jakmile se rozpustí činidla v mikrojamce vzorkem mléka, oba receptory mohou navázat dané množství analytu během první inkubace, která trvá 3 minuty při 40 °C. Poté se dá do jamky ponorný proužek, testovaný vzorek začne vzliánat po proužku přes zachytné zóny. Jestliže je vzorek prostý antibiotik, objeví se barevné linky v daných zónách, které indikují nepřítomnost daného analytu ve vzorku mléka. Opačně, jestliže jsou ve vzorku přítomna antibiotika, neobjeví se v daných zachytných zónách barevné linky. Citlivost testu je v Tab. 2.

Tab. 2 Detekční limity platné pro BT00660+:

Penicilin G	2 – 3	ppb (µg/l)
Ampicilin	3 – 5	ppb (µg/l)
Amoxicilin	3 – 5	ppb (µg/l)
Cloxacilin	6 – 8	ppb (µg/l)
Nafcilin	30 – 40	ppb (µg/l)
Cephapirin	6 – 8	ppb (µg/l)
Cefalonium	3 – 5	ppb (µg/l)
Cefazolin	18 – 22	ppb (µg/l)
Cefoperazon	3 – 4	ppb (µg/l)
Ceftiofur	10 – 15	ppb (µg/l)
Chlortetracyklin	45 – 55	ppb (µg/l)
Doxycyklin	20 – 40	ppb (µg/l)
Oxytetracyklin	56 – 75	ppb (µg/l)
Tetracyklin	75 – 100	ppb (µg/l)

Do každé mikrojamky se pipetuje 200 mikrolitrů mléka a promíchá se, aby se obsah jamky zhomogenizoval. Obsah jamky se inkubuje se vzorkem 3 minuty při 40 °C. Do každé jamky se ponoří proužek. Pokračuje se v inkubaci 3 minuty při 40 °C. Vyhodnotí se barevná intenzita linek na prouzcích.

Stanovení celkového počtu mezofilních mikroorganismů kultivační metodou - CPM je ukazatelem hygieny získávání a ošetření mléka. Je to základní hygienický a zdravotní ukazatel pro bezpečnost mléčného potravinového řetězce. Výchozí norma pro předpis: ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů - Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. Vzorek nebo jeho ředění se pečlivě promíchá pipetou (opakovaným nasáváním) nebo 25násobným převrácením vzorkovnice nebo zkumavky. Očkuje se sterilní pipetou po 1 ml zkoušeného vzorku nebo jeho ředění vždy po dvou sériích Petriho misek. Inokulum se nejpozději do 15 min od promíchání zalévá cca 12 až 15 ml agarem s kvasničním extraktem (GTK, Milcom), který je předem vychlazený na 45 °C ve vodní lázni, a po utužení média se misky inkubují dnem vzhůru při 30 °C po dobu 72 ± 3 h. Po kultivaci se hodnotí misky, které obsahují počet kolonií 10 – 300 v 1 ml.

Příloha 2

Použité zkratky

AC	aceton
B	hrubé bílkoviny
CPM	celkový počet mezofilních mikroorganismů
ČMSCH	Českomoravská společnost chovatelů
DO (Mléko)	dojivost
ICAR	Mezinárodní výbor pro kontrolu užítkovosti zvířat
KU	kontrola mléčné užítkovosti
L	laktóza monohydrát
LRM	laboratoř rozborů mléka
MO	obsah močoviny
PSB (SB; SCC)	počet somatických buněk
RIL	rezidua inhibičních látek
STP (TPS)	obsah sušiny tukuprosté
SUS	celková sušina mléka
T	tuk
T/HB, T/B	obsah tuku/obsah bílkovin, energetický koeficient mléka
T/L	obsah tuku/obsah laktózy, energetický koeficient mléka
TK	titrační kyselost mléka
KTJ	kolonie-tvořící jednotky