

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv technologie chovu na obsah somatický buněk
v kravském a buvolím mléce**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kateřina Lachmanová

**Obor studia: Kvalita potravin a zpracování zemědělských
produktů**

Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Soňa Hermanová

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Vliv technologie chovu na obsah somatických buněk v kravském a buvolím mléce" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 7.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Veronice Legarové, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za pomoc, cenné rady a přátelský přístup po celou dobu tvoření této práce. Dále bych i ráda moc poděkovala paní Ing. Soně Hermanové za konzultace s výsledky a vřelou pomoc. Obrovské poděkování patří mé rodině, která mě podporovala ve všech směrech po celou dobu mého studia. Děkuji.

Vliv technologie chovu na obsah somatických buněk v kravském a buvolím mléce

Souhrn

Cílem této práce bylo stanovení počtu somatických buněk v buvolím mléce. Produkce buvolího mléka zaujímá, hned po mléku kravském, druhé místo a pomalu získává na popularitě.

Část literární rešerše je věnována zjištěním o chovu buvolů, složení jednotlivých složek buvolího mléka a porovnání s mlékem kravským. Zároveň se i značná část práce zabývá popisem původců mastitid, ať už infekčních či neinfekčních. Další část se zaměřovala na možné zdroje zvýšeného počtu somatických buněk vlivem prostředí, kde se buvoli chovají.

Zvýšený počet somatických buněk v mléce nebo zjištěná mastitida zhoršují celkovou kvalitu a technologické vlastnosti mléka. Somatické buňky jsou jedním z hlavních ukazatelů zánětu vemene a jsou v nízkém množství běžnou součástí mléka. Pro syrové buvolí mléko nejsou stanoveny limity v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterými se stanovují zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, jako je tomu u mléka kravského. U kravského mléka je stanoven limit $\leq 400\ 000$ PSB na 1 ml mléka.

Praktická část se zaměřovala na vzorky buvolího mléka, které bylo získáno z jediné buvolí farmy Ohař v České republice. Pro tento výzkum bylo použito 11 bazénových vzorků odebíraných v týdenních intervalech od listopadu 2021 do března 2022. Pro zjišťování počtu somatických buněk v buvolím mléce byl použit nejnovější přístroj LACTOSCAN SCC, který pomocí fluorescenční mikroskopie v každém vzorku nasvítí jednotlivé obarvené somatické buňky a automaticky je i spočítá. Dále bylo analyzováno složení mléka, a to pomocí přístroje MilkoScan FT 120, který pracuje na principu infračervené spektroskopie s Fourierovu transformací.

Celkovým výsledkem stanovení byl kompletní výstup počtu somatických buněk a to, jak se jednotlivé vzorky lišily někdy i v rozmezí týdne. Průměrný počet somatických buněk byl 18 750 na 1 ml buvolího mléka. Obsah laktózy byl v celkovém průměru z odebraných 11 vzorků 5,46 %. Nejvyšší naměřená hodnota laktózy v buvolím mléce byla $6,15 \pm 0,021$ % a nejnižší $5,24 \pm 0,000$ %. V buvolím mléce bylo naměřeno v průměru 3,88 % bílkovin, kdy nejnižší obsah bílkovin byl zaznamenán s hodnotou obsahu $3,65 \pm 0,014$ % a nejvyšší $4,32 \pm 0,014$ %.

Ze získaných výsledků je patrné, že počet somatických buněk neměl u odebíraných vzorků statisticky významný vliv na změnu obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce. Nebyly naměřeny vysoké hodnoty PSB v buvolím mléce, celkový obsah laktózy a bílkovin byl stabilní a nijak se nevychyloval od svého průměru.

Klíčová slova: buvoli, chov, kvalita, mléko, somatické buňky, technologie

Influence of breeding technology on somatic cell content in cow's and buffalo milk

Summary

This work aimed to determine the number of somatic cells in buffalo milk. Buffalo milk production ranks second after cow's milk and is slowly gaining in popularity.

Part of the literature search is devoted to findings on buffalo breeding, the composition of individual components of buffalo milk and a comparison with cow's milk. At the same time, a large part of the work deals with the description of mastitis, whether infectious or non-infectious. The next part focused on possible sources of increased somatic cell counts due to the environment in which buffaloes are kept.

An increased number of somatic cells in milk or detected mastitis worsen the overall quality and technological properties of milk. Somatic cells are one of the main indicators of udder inflammation and are a common part of the milk in small amounts. There are no limits for raw buffalo milk in Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and the Council laying down specific hygiene rules for food of animal origin, such as cow's milk. There is a limit of $\leq 400\,000$ PSB per 1 ml of milk for cow's milk.

The practical part focused on samples of buffalo milk, which was obtained from the only buffalo farm Ohař in the Czech Republic. For this research, 11 pool samples were taken at weekly intervals from November 2021 to March 2022. The latest LACTOSCAN SCC instrument was used to determine the number of somatic cells in buffalo milk, which illuminates individual coloured somatic cells in each sample using fluorescence microscopy and automatically calculates. Furthermore, the composition of the milk was analysed using a MilkoScan FT 120 instrument, which works on the principle of infrared spectroscopy with Fourier transform.

The overall result of the determination was the complete output of the number of somatic cells and how the individual samples differed sometimes even within a week. The average somatic cell count was 18 750 per 1 ml of buffalo milk. The lactose content was 5.46% on the average of the 11 samples taken. The highest measured value of lactose in buffalo milk was 6.15 ± 0.021 % and the lowest was 5.24 ± 0.000 %. An average of 3.88% protein was measured in buffalo milk, with the lowest protein content being recorded with a content of 3.65 ± 0.014 % and the highest was 4.32 ± 0.014 %.

The obtained results show that the number of somatic cells in the samples did not have a statistically significant effect on the change in lactose and protein content in buffalo milk. High levels of PSB in buffalo milk were not measured, the total lactose and protein content was stable and did not deviate from its average.

Keywords: buffalo, breeding, quality, milk, somatic cells, technology

Obsah

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | Úvod | 8 |
| 2 | Vědecká hypotéza a cíle práce | 9 |
| 3 | Literární rešerše | 10 |
| 3.1 | Buvol domácí (<i>Bubalus bubalis</i>) | 10 |
| 3.1.1 | Vliv prostředí na chov buvolů | 10 |
| 3.2 | Mléčná žláza | 11 |
| 3.2.1 | Mléko | 12 |
| 3.2.1.1 | Kolostrum | 13 |
| 3.2.1.2 | Bílkoviny | 13 |
| 3.2.1.3 | Mléčný tuk | 14 |
| 3.2.1.4 | Laktóza | 14 |
| 3.2.1.5 | Minerální látky – Vápník | 15 |
| 3.2.2 | Buvolí mléko | 15 |
| 3.2.3 | Somatické buňky | 16 |
| 3.2.3.1 | Mastitida | 17 |
| 3.3 | Změny technologických vlastností mléka s obsahem somatických buněk v mléce | 22 |
| 3.3.1 | Syřitelnost mléka | 23 |
| 3.3.2 | Fermentabilita | 23 |
| 3.4 | Vliv prostředí a technologie chovu na počet somatických buněk v mléce ... | 24 |
| 3.4.1 | Hygiena získávání mléka | 25 |
| 3.4.2 | Automatizace procesu dojení | 25 |
| 3.4.3 | Robotické škrabky | 25 |
| 3.4.4 | Teplota | 26 |
| 3.5 | Stanovení počtu somatických buněk v buvolím mléce | 27 |
| 3.5.1 | Průtoková cytometrie | 28 |
| 3.5.2 | Lactoscan SCC | 28 |
| 3.5.3 | Fluorescenční obrazová cytometrie | 29 |
| 3.5.3.1 | Fluorescenční mikroskopie | 29 |
| 3.6 | Stanovení obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce | 31 |
| 3.6.1 | Vysokoučinná kapalinová chromatografie | 31 |
| 3.6.2 | MilkoScan FT 120 | 31 |
| 3.6.2.1 | Infračervené záření | 32 |
| 4 | Metodika | 34 |
| 4.1 | Vzorky mléka | 34 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.1.1 | Buvolí farma ohař..... | 35 |
| 4.2 | Měření pomocí přístroje LACTOSCAN SCC | 35 |
| 4.2.1 | Použité náčiní, přístroje..... | 35 |
| 4.2.2 | Příprava vzorků k analýze..... | 36 |
| 4.3 | Měření obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce..... | 36 |
| 5 | Výsledky..... | 37 |
| 5.1 | Složení mléka | 37 |
| 5.2 | Vyhodnocení počtu somatických buněk v buvolím mléce | 38 |
| 5.3 | Vyhodnocení obsahu laktózy v buvolím mléce | 40 |
| 5.4 | Vyhodnocení obsahu bílkovin v buvolím mléce | 41 |
| 5.5 | Celkové vyhodnocení vlivu PSB na obsah laktózy a bílkovin v buvolím mléce..... | 42 |
| 5.6 | Statistické vyhodnocení | 42 |
| 6 | Diskuze..... | 47 |
| 6.1 | Vliv počtu somatických buněk na obsah laktózy a bílkovin v mléce | 47 |
| 6.2 | Možné další vlivy na změnu obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce | 49 |
| 7 | Závěr..... | 50 |
| 8 | Literatura | 51 |
| 9 | Seznam použitých zkratk a symbolů | 60 |
| 10 | Seznam zdrojů obrázků..... | 61 |
| 12 | Samostatné přílohy | I |

1 Úvod

Mléko je jednou z hlavních součástí lidské výživy na celém světě, a to díky svému vhodnému nutričnímu složení. Zároveň stoupá i poptávka po nových typech výrobků a technologové se snaží vyvinout nový a zajímavý produkt, jež by rozšířil sortiment. K tomu jim může i napomocť využití méně komerčních mlék. Buvolí mléko je lahodnější a chutnější díky vyššímu obsahu tuku, ale k této organoleptické vlastnosti napomáhá i vyšší obsah bílkovin a sacharidů. Mléko má i vyšší výtěžnost tuku a bílkovin než mléko kravské, tudíž na výrobu sýrů, másla a jogurtů bude potřeba menší množství mléka. Kráva v průměru za den nadojí okolo 30 – 40 litrů, buvol pouze 10 – 12 litrů. Proto je v České republice pouze jedna mléčná buvolí farma. Mléčná výtěžnost je nižší, a tudíž je chov i produkce mléka ekonomicky náročnější.

Buvolí mléko je v celosvětovém měřítku hned druhé nejprodukovanější za mlékem kravským. Je na něm závislá značná část Asijského kontinentu, zejména pak Indie a Pákistán. V Evropě lze jmenovat již buvolí mozzarellou proslulou v Itálii. Mléko se velmi svým složením podobá mléku kravskému. V mnoha zemích je jeho dostupnost lepší než mléko kravské.

Jedním ze základních ukazatelů zdravotního stavu mléčné žlázy dojnice je počet somatických buněk. Ten je důležitý i jako kritérium pro jakost a hygienickou nezávadnost mléka. Vysoký počet somatických buněk snižuje výtěžnost mléka a způsobuje finanční ztráty, jelikož mléko se hůře zpracovává a vykazuje i jiné technologické vlastnosti. Proto je důležité, aby chovatel tento faktor kontroloval a mohl včas reagovat na zvyšující se počet somatických buněk v mléce.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza práce: V chovech buvolů je nižší výskyt mastitid a tím pádem i počty somatických buněk jsou v limitech a celková hygienická jakost mléka je lepší, než je tomu u mléka kravského.

Cílem práce je zhodnotit technologii chovu buvolů v ČR a s tím související hygienickou kvalitu mléka, jež je dána například ukazatelem PSB (počet somatických buněk). Zvýšený počet somatických buněk koresponduje se zdravotním stavem zvířete a zhoršenou celkovou kvalitou mléka.

3 Literární rešerše

3.1 Buvol domácí (*Bubalus bubalis*)

Buvol domácí (*Bubalus bubalis*) (obr. č. 1), v některých zdrojích ne úplně přesně označovaný jako buvol vodní, je důležitým zdrojem mléka, masa a tažné síly především na indickém subkontinentu. Ze světové populace asi 200 milionů vodních buvolů se většina z nich nachází v jižní Asii. Většinu těchto zvířat vlastní drobní farmáři po celé Asii, což znamená, že na chovu buvolů je závislých více lidí, než na jiných domestikovaných druzích zvířat (Khedkar et al. 2016; Khan 2021).

Na světě existují dvě odlišné skupiny vodních buvolů. Buvol říční, který se vyskytuje především v Indii, dále i v Číně, Pákistánu či Gruzii, a buvol bažinný nacházející se zejména ve východní Asii (Dutta et al. 2020). Buvol říční je využíván hlavně pro jeho mléko. V Evropě vzniknul třetí typ, jež se vyvinul z bažinného a říčního. Buvol středomořský se zejména nachází v Rumunsku, Bulharsku, Turecku či Itálii (Khedkar et al. 2016; Khan 2021).



Obr. č. 1: Buvol domácí (*Bubalus bubalis*)

Zdroj: online obrázek č. 1

3.1.1 Vliv prostředí na chov buvolů

Buvol je polyestrální zvíře, které se rozmnožuje po celý rok. Srážky, zásoby krmiva, okolní teplota a sluneční aktivita ovlivňují jejich celoroční chov. Na indickém subkontinentu je při chovu buvolů dosahováno nejvyšší výnosnosti v zimních měsících, tedy od září do února. Značný vliv na jejich reprodukci a následně i na produkci mléka má hlavně teplota. Čím vyšší teplota, tím vzniká vyšší pravděpodobnost nižšího výnosu mléka. Zajištění dostatku vody a stínu v letních měsících tak zvýší pravděpodobnost tvorby alespoň nějakého mléka, tím pádem alespoň nějakého zisku (Tomar & Pandey 2009; Marai & Haeeb 2010).

Díky tmavé kůži a řídké srsti absorbují buvoli mnohem více slunečního záření než jiný skot. Zároveň mají i sníženou funkčnost ochlazovacího zařízení těla, tudíž je pro ně skoro nemožné se ochlazovat pomocí potu (Tomar & Pandey 2009; Marai & Haeeb 2010).

Pokud je zapotřebí snížit tepelný stres, existuje několik způsobů, jak toho docílit: krmit zvířata v chladnější části dne (brzy ráno/později večer), do krmiva přidávat vitamin E či selen, jež napomáhají proti stresu. Hlavně také zajistit dostatek vody, jelikož v letních měsících se poptávka po vodě zvyšuje až o 25 – 30 % oproti normálu. Je také potřeba zajistit dostatečné větrání budov, či alespoň nějaké proudění vzduchu a zároveň i zajistit dostatečné plochy stínu, ideálně tvořené stromy (obr. č. 2), jelikož stromy ovzduší všeobecně ochlazují a tvoří kyslík, a zároveň buvoli je mohou využít i jako drbací stanici (Tomar & Pandey 2009; Marai & Haeeb 2010).



Obr. č. 2: Buvolí farma ve švýcarském Schangnau v oblasti Emmenthal zaměřující se překvapivě na mozzarellu

Zdroj: online obrázek č. 2

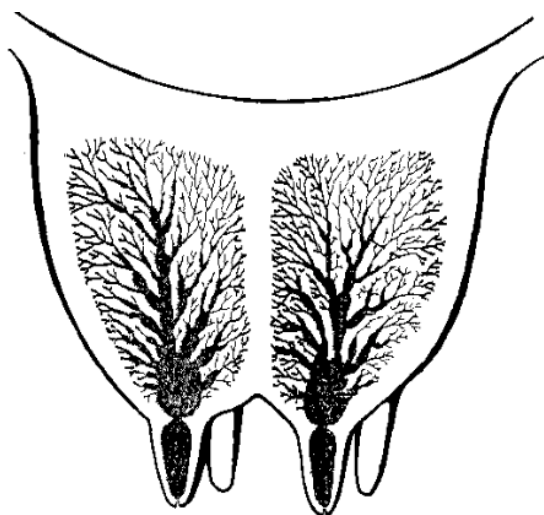
3.2 Mléčná žláza

Jelikož produkce mléka je jednou z nejdůležitějších vlastností turovitých (*Bovidae*), kam mimo jiné patří i buvol domácí či tur domácí, je zapotřebí se o jejich mléčnou žlázu starat a udržovat ji zdravou. Mléko je obecně využíváno zejména pro výživu – ať již pro výživu zvířat (jejich mláďat), či pro výživu člověka.

Mléčná žláza (obr. č. 3) je původně modifikovaná kožní žláza. Ta je vyplněna především tukovými buňkami, jež jsou rozděleny vazivou. Celou žlázu lze rozdělit na jednotlivé části: alveoly, kanálky, mlékovody, žlázový mlékojem a struky. Růst mléčné žlázy je podmíněn pohlavními hormony – zejména estrogenem a progesteronem. Největší rozvoj mléčné žlázy započne po zabřeznutí (Stupka 2013; Moradi et al. 2021).

Epiteliální buňky neboli alveoly, jsou základním sekrečním útvarem, kde je tvořeno mléko. Z alveol je mléko vedeno kanálky, které se následně spojují do větších mlékovodů, jež poté vyústí do mlékojemu a struků (Stupka 2013; Moradi et al. 2021).

Sekreční buňky zajišťují přeměnu jednotlivých živin z krve v jednotlivé složky mléka. Mléčný tuk a tuk obecně v mléce je získáván z glycerolu a mastných kyselin. Laktóza neboli mléčný cukr, je přetvářena z krevní glukózy, galaktózy a bílkoviny z volných aminokyselin (Stupka 2013; Moradi et al. 2021).



Obr. č. 3: mléčná žláza

Zdroj: online obrázek č. 3

3.2.1 Mléko

Mléko je označováno jako jedna z nejdůležitějších potravin (nejen) pro lidskou výživu. Je to tekutina, jež je produkována mléčnými žlázami savců. Zároveň je to i první potrava, kterou přijímá lidské novorozeně a mláďata ostatních savců. Obsahuje všechny důležité živiny potřebné pro novorozence/mláďata, kojící matky/kojící samice, těhotné ženy/březí samice a starší lidi/starší zvířata (například ve formě sušené mléčné bílkoviny). Je tedy nutričně bohatou potravinou /výživou pro všechny věkové kategorie jak lidí, tak zvířat. Není pochyb o tom, že mléko a mléčné výrobky hrály klíčovou roli ve vývoji i v celkovém rozvoji lidské civilizace (Khedkar et al. 2016).

Mléko obsahuje všechny základní živiny, jako jsou bílkoviny, tuky, vitamíny a minerální látky důležité pro normální růst a vývoj a pro zajištění základních funkcí nezbytných pro celý organismus (Khedkar et al. 2016).

Složení mléka se liší podle fáze laktace, věku, plemene, výživy, energetické rovnováhy a zdravotního stavu vemene (Haug et al. 2007).

3.2.1.1 Kolostrum

Jedná se o první krmivo pro novorozence po porodu, které jim dodává všechny potřebné živiny. Kolostrum je také zvláště důležité pro pasivní imunizaci novorozence, protože obsahuje specifické imunoglobuliny a podporuje jejich ochranu proti infekcím během prvních dnů po narození. Kolostrum obsahuje oproti mléku vyšší hladiny bílkovin – laktalbuminů, laktoglobulinů, a především imunoglobulinů a minerálních látek (železité, hořečnaté a sodné soli). Koncentrace většiny složek, zejména imunoglobulinů (Ig) a růstových faktorů, jsou nejvyšší v prvních dávkách mleziva bezprostředně po otelení a poté rychle klesají. Zároveň je obsah laktózy a kaseinu v kolostru nižší než v mléce. Biologicky aktivní látky kolostra pocházejí přímo z krve, např. somatotropin, prolaktin, inzulin a glukagon. Další látky jsou lokálně produkovány ve vemeni z laktocytů a stromatu (Georgiev 2008).

3.2.1.2 Bílkoviny

Kravné mléko v průměru obsahuje asi 32 g bílkovin/l. Mléčná bílkovina má vysokou biologickou a nutriční hodnotu. Mléko tedy patří mezi dobrý zdroj esenciálních aminokyselin. Mléko navíc obsahuje širokou škálu bílkovin, které jsou biologicky aktivní. Od těch antimikrobiálních až po ty, které usnadňují vstřebávání živin, a jež působí jako růstové faktory, hormony, enzymy, protilátky a ty, které podporují imunitní systém (Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013; Patel et al. 2021).

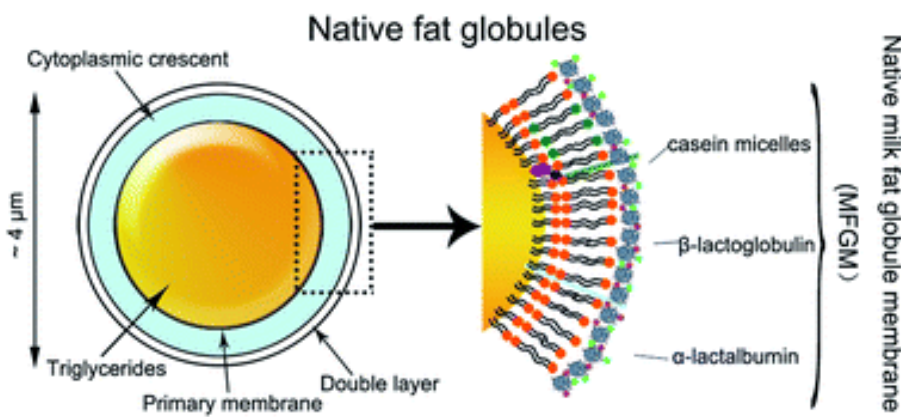
Mléčné proteiny se dle zastoupení dělí do dvou hlavních skupin, na kasein a syrovátkové bílkoviny (Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013; Patel et al. 2021).

Kasein patří mezi jednu z nejhlavnějších, ale i specifických bílkovin mléka. Obsah kaseinu v mléce přežvýkavců (nebo skotu a buvolů, ale rozhodně ne všech savců) představuje asi 80 % mléčných bílkovin. Biologickou funkcí kaseinu je schopnost navázat na sebe a dále přenášet vápník a fosfát a vytvářet následně sraženinu v žaludku pro snadnější trávení. Mezi jedny z nejdůležitějších frakcí kaseinu patří α_{s1} – kasein (nerozpustný v přítomnosti Ca^{2+}), β – kasein (částečně rozpustný v přítomnosti Ca^{2+}) a κ – kasein (není citlivý na přítomnost Ca^{2+}) (Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013; Patel et al. 2021).

Mezi další důležité proteiny mléka se řadí syrovátkové bílkoviny. Představují důležitou skupinu s vysokými nutričními vlastnostmi, jež mají pozitivní vliv na zdraví a výživu. Jsou to globulární proteiny, které se ve vodě lépe rozpouštějí než kaseiny a jejich hlavními frakcemi jsou β – laktoglobulin (nejčastější alergen mléka), α – laktalbumin a imunoglobuliny. Surovátka je tekutina, která zbývá po vysrážení mléčné bílkoviny kaseinu z mléka za účelem výroby sýra a používá se v mnoha produktech pro lidskou spotřebu, jako je např. sýr ricotta (Haug et al. 2007; Miciński et al. 2013; Patel et al. 2021).

3.2.1.3 Mléčný tuk

Mléčný tuk (obr. č. 4) je koncentrovaný zdroj energie, jež je zodpovědný za příjemnou a lahodnou chuť mléka. Díky vysoké stravitelnosti a nutričním hodnotám hraje mléčný tuk důležitou roli ve výživě člověka. Tuk nepatří mezi homogenní látky a je tvořen tukovými kuličkami, které jsou dispergovány ve vodné fázi mléka za vzniku emulze. Tukové kuličky obsahují triacylglyceroly, které tvoří 98 % mléčného tuku. Jejich membrány se skládají z glykoproteinů, fosfolipidů, monoacylglycerolů, diacylglycerolů (ty se hlavně nacházejí v tekutém jádře), volných mastných kyselin, sterolů (sem patří například cholesterol), karotenoidů a vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K). Některé ze složek jsou emulgátory a zabraňují vzájemnému spojení jednotlivých kuliček (Miciński et al. 2012, Fucá et al. 2013).

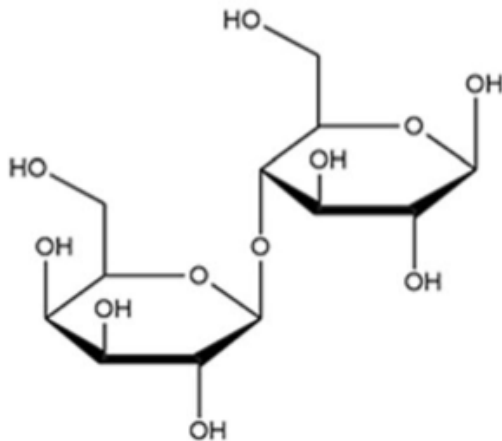


Obr. č. 4: Kingův model tukové kuličky (Luo et al. 2014)

3.2.1.4 Laktóza

Laktóza (obr. č. 5) je přírodní disacharid složený z glukózy a galaktózy získávaný z mléka většiny savců (Kadlec et al. 2009; Xiao et al. 2019).

Mléko poskytuje kojencům základní živiny pro jejich rozvoj v prvních fázích života. Novorozenci a mláďata zvířat získávají energii převážně z mléčných lipidů a laktózy. Pouze samotná laktóza zajišťuje asi 40 % celkové energetické potřeby kojenců. Tato skutečnost vysvětluje, proč mléko téměř veškerých savců obsahuje 40 – 75 g laktózy na litr mléka a proč je mléko savců jediným přírodním zdrojem s významným obsahem laktózy. Vrozená neschopnost trávení laktózy je u dětí vzácná, a může vést k opožděnému růstu, dehydrataci a v nejhorších případech dokonce i ke smrti (Gutiérrez – Méndez 2020).



Obr. č. 5: Strukturální vzorec laktózy
(Gutiérrez – Méndez 2020)

3.2.1.5 Minerální látky – Vápník

Mezi nejvýznamnější minerální látky, které lze v mléce nalézt je vápník. Vápník zásadně ovlivňuje koloidní stabilitu kaseinu, tedy i jeho termostabilitu a zároveň se i významně podílí na sladkém srážení mléka při výrobě sýrů. V mléce lze nalézt v průměru 1 200 mg/l vápníku (Kadlec et al. 2009).

3.2.2 Buvolí mléko

Hned po mléku kravském je na druhém místě ve světové produkci mléko buvolí. Největším světovým producentem buvolího mléka je Indie, s 96 miliony tun ročně, následovaná Pákistánem s 27 miliony tun mléka ročně (Khedkar et al. 2016).

Momentálně buvolí mléko představuje asi 13 % celosvětové produkce mléka ve srovnání s rokem 1990, kdy podíl byl pouhých 8 %. Většina (asi 90 %) objemu buvolího mléka pochází z již výše zmíněné Indie a Pákistánu následovaná menšími vyprodukovanými množstvími z Itálie, Iránu, Číny a Egypta (Navrátilová 2012).

Obsah vápníku je v buvolím mléce vyšší než v kravském mléce a obsahuje i více koloidního vápníku a fosforu. Buvolí mléko je bohatší na tuk než mléko kravské. Obecně má také vyšší hladiny bílkovin, laktózy, ačkoli tyto rozdíly nejsou tak vysoké jako u tuku (tab. č. 1). Absence β -karotenu v buvolím mléce je další zajímavou charakteristikou, tudíž mléko má křídově bílou barvu, stejně jako mléko kozí (Khedkar et al. 2016).

Tabulka č. 1: Porovnání základních složek buvolího a kravského mléka [%]

| Zvíře | Země | Voda [% hm.] | Sušina [% hm.] | Tuk [% hm.] | Bílkoviny [% hm.] | Laktóza [% hm.] |
|-------|-------|-----------------|-------------------|----------------|----------------------|--------------------|
| Buvol | Indie | 82,98 | 17,02 | 7,06 | 3,90 | 5,28 |
| Kráva | Indie | 86,07 | 13,93 | 4,90 | 3,42 | 4,91 |

(Khedkar et al. 2016)

3.2.3 Somatické buňky

Somatické buňky se vylučují do mléka během průběhu dojení a jsou ukazatelem zdraví mléčné žlázy a kvality mléka dojníc po celém světě. Počet somatických buněk (PSB) je ovlivněn například produktivitou krav, jejich zdravotním stavem a fází laktace. Jakákoli změna prostředí a také zvýšení stresových podmínek výrazně zvyšuje množství somatických buněk přecházejících do mléka. Zlepšení hygieny a správné výživy napomáhá snižovat jejich počty v mléce (Alhussien & Dang 2018; Costa et al. 2020; Moradi et al. 2021; Vieira et al. 2021).

Tyto buňky jsou běžně v mléce přítomny. Většina těchto buněk jsou z tkáně vemene (epiteliální buňky) a některé patří mezi leukocyty (bílé krvinky). Přítomnost takových buněk přecházejících do mléka je normální fyziologický jev a je nezbytný pro regeneraci epitelu.

Bílé krvinky přicházející do mléka slouží jako součást obranného systému. Jejich primární funkcí je boj s nemocí, zánětem a pomoc při opravě poškozené tkáně. Jakákoli infekce vede ke zvýšení počtu těchto buněk v mléce a naznačuje zhoršenou hygienu/kvalitu produkovaného mléka. Počet somatických buněk se kvantifikuje jako počet buněk na 1 ml mléka (Alhussien & Dang 2018; Costa et al. 2020; Moradi et al. 2021; Vieira et al. 2021).

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 jsou stanovena hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Syrové mléko je zde definováno jako mléko, jež je produkované sekrecí mléčné žlázy hospodářských zvířat, které nebylo zahřáto nad 40 °C a ani nebylo jiným způsobem ošetřeno s rovnocenným účinkem. Z tohoto důvodu lze dojnici brát za zdravou, pokud počet somatických buněk u kravského mléka je do 400 000 na 1 ml mléka s klouzavým geometrickým průměrem za tři měsíce z minimálně dvou odběrů měsíčně.

(NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004). Buvolí mléko takto stanovený limit nemá.

Právě zvýšený počet somatických buněk v mléce má za následek zhoršené technologické vlastnosti jako je fermentabilita a syřitelnost mléka (Costa et al. 2020).

3.2.3.1 Mastitida

Mastitida neboli zánět mléčné žlázy je nejčastějším onemocněním dojného skotu. Onemocnění může být buď klinické, pokud má vnější příznaky (změna struktury mléka, nateklé vemeno), nebo subklinické, pokud nejsou okem viditelné žádné příznaky. To se následně potvrzuje mikrobiologickými testy (Ndahetuye et al. 2020)

Vemeno je na pohled nateklé a zčervenalé (obr. č. 6). Jakmile infekční patogen vnikne do strukového kanálu, začne se množit v mlékojemu žlázy a cévách. Následně postupuje do dalších tkání, kde dochází ke shromažďování mléka (Akers & Nickerson 2011). Mléko od krav s mastitidou má však typicky pozměněný vzhled (např. barva, vločkovitost, krev, sraženiny) a je vyloučeno z dodávky do mlékárny. Barva mléka může být žlutá, červená, nahnědlá nebo i zelená (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Turk et al. 2021).

Pokud nedojde k zánětu vemene nebo zvíře přímo nemá nějaké jiné onemocnění, mléko v mléčné žláze samo o sobě neobsahuje bakterie. Když je však mléko vylučováno, může se kontaminovat bakteriemi, které žijí na kůži struku nebo na epiteliální výstelce strukového kanálu. Široká škála patogenů zapříčiňující toto onemocnění ztěžuje léčbu mastitidy. Nejčastějšími bakteriemi, které mastitidu způsobují, jsou bakterie rodu *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* nebo *Micrococcus*, příležitostně lze mezi nimi najít i koliformní bakterie. Kromě infekčních mikroorganismů může mastitidu způsobovat v některých případech i traumatická událost či dokonce některé faktory prostředí (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Turk et al. 2021).

Mastitida celosvětově stále patří mezi jeden z větších problémů a je jednou z hlavních příčin ekonomických ztrát v mlékárenském průmyslu v důsledku snížené produkce mléka, zvýšených nákladů na léčbu a snížené plodnosti (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Turk et al. 2021).

Pokud je počet somatických buněk zvýšen (nad 200 000 v 1 ml mléka), je snížen nádoj a obsah laktózy je pod 4,5 %. Subklinická mastitida je často následkem neléčené či nedoléčené klinické mastitidy. Je tedy nutné provést testy a určit původce mastitidy a jeho citlivost k antibiotikům (Šustová et al. 2016; Ndahetuye et al. 2020).

Mléko, jež pochází od dojnice léčené antibiotiky se nesmí dostat ke zpracování a do sběrné cisterny pro všechny krávy. Krávy, jež jsou léčeny antibiotiky a s mastitidou se musí dojit odděleně a až jako poslední. Velkým rizikem léčby mastitidy je potencionální riziko výskytu reziduí inhibičních látek (RIL). Jsou to látky, jež zhoršují kvalitu mléka, a hlavně jeho technologické vlastnosti. Zabraňují růstu mikroorganismů v mléce – mají buď bakteriostatický či baktericidní účinek. Mezi RIL řadíme právě antibiotika a jejich test na přítomnost v mléce musí být negativní (Šustová et al. 2016; Ndahetuye et al. 2020).

Zároveň mléko, jež obsahuje zvýšený počet somatických buněk, způsobuje zhoršené technologické zpracování mléka. Jelikož obsah laktózy je většinou nižší, je tím pádem těžší nebo i nemožné vyrobit kysané mléčné výrobky a sýry (např. kefír, jogurt, zakysaná smetana). Právě laktóza je základním energetickým zdrojem pro mlékařské kulturní bakterie (Šustová et al. 2016; Ndahetuye et al. 2020).

Mezi dalšími testovanými ukazateli mastitidy je titrační kyselost. Titrační kyselost od zdravé dojnice se pohybuje v rozmezí 6,2 – 7,8 °SH (mmol/l). Při postižení mastitidou klesá titrační kyselost až na 4 °SH (mmol/l) (Šustová et al. 2016; Ndahetuye et al. 2020).



Obr. č. 6: Silně zanícené vemeno mastitidou

Zdroj: online obrázek č. 6

3.2.3.1.1 Původci mastitid

Původci mastitid se dají rozdělit na infekční a neinfekční. Právě mezi infekční patří námi známí běžní původci bakteriálních onemocnění (*Staphylococcus*, *Streptococcus* a *E-coli*), jež se dostávají do cest mléčné žlázy z vnějšího prostředí (Moroni et al. 2006; Klimešová et al. 2019).

Nejčastějším přenosem těchto mikroorganismů je z dojnice na dojnici při špatné hygieně dojení, nedostačující dezinfekci struků před a po dojení. Mezi infekční, tedy přímé napadení přes mléčnou žlázu, způsobují *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae* (Moroni et al. 2006; Klimešová et al. 2019).

Neinfekční zdroje zánětu mléčné žlázy způsobují faktory, které se dají nadále rozdělit mezi fyziologické (stádium laktace, počet laktací, plemeno, pohlavní cyklus, typ chovu) a patologické (zaplísňené krmivo, stres) (zootechnika.cz 2022).

Mezi patogeny, jež se vyskytují v environmentálním prostředí a do mléčné žlázy se dostanou přes struk, se řadí nejznámější *Escherichia coli* (Moroni et al. 2006; Klimešová et al. 2019; Puggioni et al. 2020).

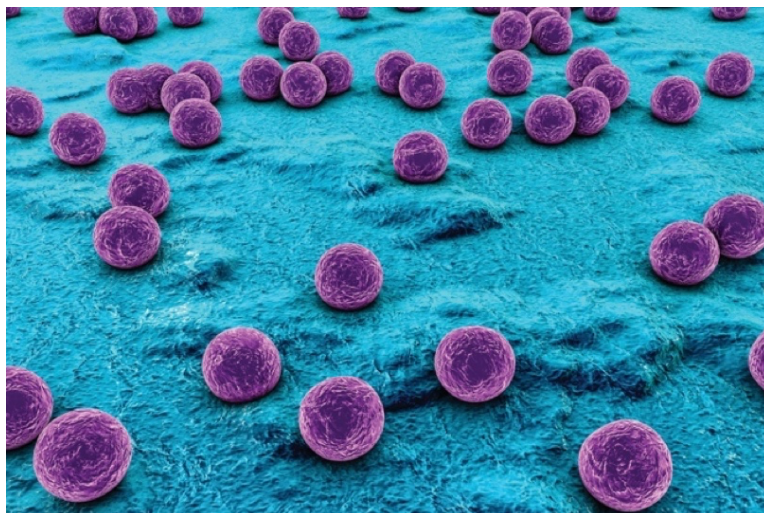
3.2.3.1.1.1 Infekční původci

Infekční původci jsou primárně některé druhy bakterií. Ty lze rozdělit dle složení jejich stěny. Gramnegativní bakterie mají buněčnou stěnu složenou z více vrstev. Je tvořena vnější dvojvrstevnou membránou: fosfolipidy, lipoproteiny, lipopolysacharidy a proteiny. Celkově je její stěna tenčí (10 – 20 nm) s tenkou vrstvou peptidoglykanu. Dle Gramova barvení se zbarví červeně. Grampozitivní bakterie mají stěnu jednodušší s primárním zastoupením peptidoglykanu a silou buněčné stěny od 20 do 50 nm. Podle Gramova barvení se zbarví modře (Růžek et al. 2015).

3.2.3.1.1.1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (obr. č. 7) je grampozitivní, fakultativně anaerobní bakterie, která je součástí běžné mikroflóry člověka. Tento mikroorganismus je běžnou součástí kožní mikroflóry člověka, ale lze jej nalézt i uvnitř těla člověka (Lower et al. 2010).

Tato bakterie je jedním z nejdůležitějších zoonotických bakteriálních patogenů, který infikuje lidi a širokou škálu zvířat, zejména mléčný skot. *Staphylococcus aureus* způsobuje mastitidu u skotu a patří mezi jeden z největších problémů a ekonomickou zátěž, které mléčný průmysl čelí. Včetně značného poklesu příjmů z mléka, komplikace při reprodukci a výdaje vzniklé při léčbě infikovaných zvířat veterinárními léky. Má silný negativní dopad na dobré životní podmínky zvířat, jejich produktivitu a bezpečnost potravin. Právě proto představuje jednu z největších výzev v produkci mléka ve většině zemí (Moroni et al. 2006; Algharib et al. 2020).



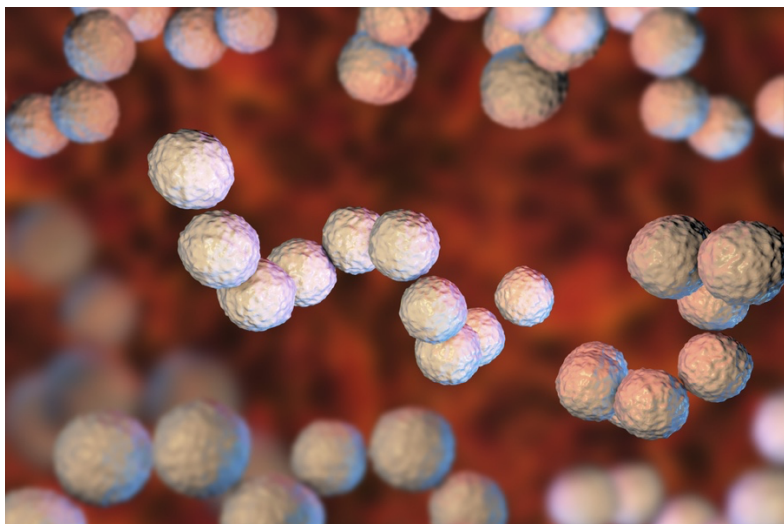
Obr. č. 7: *Staphylococcus aureus*

Zdroj: online obrázek č. 7

3.2.3.1.1.1.2 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae (obr. č. 8) patří mezi grampozitivní bakterie, jež často napadají mléčné žlázy skotu a většinou způsobují mastitidu a zvyšují i počet somatických buněk v mléce. Včasná a rychlá identifikace mastitidy zůstává nanejvýš důležitá, což přímo ovlivňuje rychlost, s jakou jsou přijata rozhodnutí o léčbě. Včasná identifikace mastitidy zvyšuje míru vyléčení o 60 % (Abd El-Razik et al. 2021).

Nejčastěji jej lze nalézt na povrchu kůže, na vemeni, ale i v environmentálním prostředí. Jedním z hlavních vstupů pro streptokoky je strukový kanálek. Proto je zapotřebí důkladná hygiena dojícího zařízení i zaměstnance, jež manipuluje se zařízením a kontroluje stav vemene, aby nedošlo ke kontaminaci a následnému proniknutí streptokoka do vemene (Keefe 2012).



Obr. č. 8: *Streptococcus agalactiae*

Zdroj: online obrázek č. 8

3.2.3.1.1.1.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli (obr. č. 9) je gramnegativní koliformní bakterie. Patří mezi jeden z nejzávažnějších patogenů vnějšího prostředí a je jedním z nejčastěji izolovaných původců mastitidy. Eliminace bakterií a redukce PSB v mléce však nemusí nutně znamenat úplné zotavení mléčné žlázy, ani nemusí zajistit její úplný návrat k produkci mléka (Blum et al. 2014).



Obr. č. 9: *Escherichia coli*
Zdroj: online obrázek č. 9

3.2.3.1.1.2 Neinfekční původci

3.2.3.1.1.2.1 Stádium laktace

Dojnice procházejí různými metabolickými a fyziologickými změnami v průběhu různých fází laktace. Rozhodující roli v tom hrají biologické cykly produkce mléka a reprodukce. Zejména krávy během přechodného období ze zasyčání do rané laktace čelí četným zdravotním problémům (Couperus et al. 2021).

Každá laktace krav má vždy dvě fáze. Po otelení se zvyšuje produkce mléka. Po následném dosažení nejvyšší denní dojivosti přijde fáze laktace sestupná, kdy produkce mléka klesá až do zaprahnutí (Ruegg 2010; Stupka 2013).

V 1. fázi laktace je dojnice vyčerpána porodem, tudíž je zapotřebí jí dodávat to nejlepší a nejvýživnější krmivo. Produkce mléka se zvyšuje, tím pádem je i vyšší spotřeba krmiva, jež je potřeba pro výrobu živin a energie. Jelikož ale trávicí trakt není zvyklý na takové množství příjmu krmiva, které podpoří zvyšující se produkci mléka, dochází k negativní energetické bilanci (NEB). Právě chybějící energii, kterou by získala dojnice z mléka, získává z tukových tkání, tím pádem dojde k poklesu hmotnosti dojnice (Ruegg 2010; Stupka 2013).

2. fáze laktace navazuje na předchozí 1. fázi a trvá přibližně do 200. dne laktace. Zde dochází k nejvyššímu příjmu krmiva a dorovnáním energetické bilance. I zde je zapotřebí dodávat kvalitní a nezaplísňené krmivo, z něž by mohl vzniknout nějaký zdravotní problém.

Po 2. fázi následuje 3. fáze laktace. Zde si dojnice dotvářejí své tukové zásoby, jež následně využijí v 1.fázi při NEB. Snižuje se produkce mléka až do postupného ukončení laktace neboli zaprahnutí. Zvyšuje se citlivost dojnice a plodu na nekvalitní krmiva, proto je i zde důležitá jeho kvalita (Ruegg 2010; Stupka 2013).

Účelem zaprahnutí je změna sociální skupiny (změna ve způsobu napájení nebo krmení). Postupně dochází ke snížení denního nádoje (5 – 10 litrů) a do každé mléčné čtvrti

přes strukový kanálek je podána jednorázová dávka depotních antibiotik. Ta působí preventivně proti vzniku zánětů v mléčné žláze při následující laktaci (Ruegg 2010; Stupka 2013).

Nově se dle nařízení 2019/6, jež je platné od ledna 2022, nebudou smět podávat antibiotika jako rutina, prevence či jako kompenzace při špatné/nedostatečné hygieně chovu (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 ze dne 11. prosince 2018 o veterinárních léčivých přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES).

Následně je dojnice přesunuta do skupiny stání na sucho. Stání na sucho začíná od ukončení laktace do porodu (okolo posledních 9 týdnů březosti). Právě stání na sucho je velice důležité, jelikož dochází k regeneraci mléčné žlázy (Ruegg 2010; Stupka 2013).

Během časového termínu okolo porodu dochází k jedné z nejkritičtějších fází, kdy je nejvyšší pravděpodobnost vzniku zánětů mléčných žláz. Vemeno se postupně plní mlékem pro tele a jelikož nejsou strukové kanálky proplachovány mlékem a vzniká tam zvýšený tlak, dochází k samovolnému úniku mléka z vemene. Zde je právě nejvhodnější možnost pro vnik bakterií přes strukový kanálek (Ruegg 2010; Stupka 2013).

3.3 Změny technologických vlastností mléka s obsahem somatických buněk v mléce

Jak již bylo zmíněno výše, mění se titrační kyselost mléka, a to dost výrazně. Zároveň i mléko od nemocné dojnice obsahuje zvýšený počet rozpuštěných solí, konkrétně Na^+ a Cl^- , tím pádem je i jeho vodivost vyšší a nejmodernější stroje jej díky konduktivitě dokážou zachytit. Dle Hanuš et al. (2014) byla prokázána negativní korelace mezi laktózou a počtem somatických buněk. V tabulce č. 2 je přehled změn složení mléka při mastitidě.

Tabulka č.2: Změny složení mléka při zánětu mléčné žlázy

| Složení | Změna | Běžně |
|-----------------------|-------|----------------|
| pH (aktivní kyselost) | ↑ | 6,4 – 6,8 |
| Titrační kyselost | ↓ | 6,2 – 7,8 °SH |
| Laktóza | ↓ | 4,5 % |
| Chloridy | ↑ | 1,03 g/l |
| Sodík | ↑ | 0,47 g/l |
| Tuk | ↓ | 3,7 % |
| Kasein | ↓ | 20 000 molekul |

(Navrátilová 2012; Šustová et al. 2016;

http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1685&typ=html)

3.3.1 Syřitelnost mléka

Dle studie (Bobbo et al. 2016) se obecně udává, že vysoký počet somatických buněk v mléce ovlivňuje nejen jeho složení, ale mění i jeho technologické vlastnosti související se schopností se srážet a následným zpracováním sýra. Vyšší pH ve spojení se zvýšeným PSB negativně ovlivňuje schopnost mléka vytvářet sýr, jelikož snižují aktivitu enzymů souvisejících se srážením.

Změny v kaseinu mohou také ovlivnit koagulaci mléka, protože proteoso – peptony (tepelně stabilní fosfoproteiny, rozpustné při pH 4,6) uvolněné během degradace kaseinu mají negativní vliv na dobu srážení, pevnost tvarohu a tvorbu tvarohu (Bobbo et al. 2016).

Koagulační vlastnosti mléka jsou důležité ze 2 hlavních důvodů: jsou technologicky cenné pro optimalizaci procesu výroby sýra a předpovídání možných abnormalit během procesu a v konečném produktu, a mohou být použity k nepřímé předpovědi výtěžnosti sýra. Zvýšený PSB byl spojen se snížením vody zadržované v tvarohu. Například byla pozorována pomalejší koagulace, nižší pevnost tvarohu a nižší výtěžnost tuku v tvarohu ve srovnání s mlékem bez somatických buněk (Bobbo et al. 2016).

Výsledky jejich studie potvrdily negativní vliv vysokého PSB na výtěžnost mléka, složení mléka, vlastnosti srážení mléka a vlastnosti související se syřitelností mléka. Snižovaly tedy kvalitu a srážlivost mléka, což vykazovalo pomalejší koagulaci a nižší pevnost tvarohu.

3.3.2 Fermentabilita

Fermentabilitu mléka lze zjistit kvasnou zkouškou mléka, která je založena na principu, kdy mikroorganismy přítomné v mléce způsobí během inkubace vzorku mléka změny v jeho konzistenci. Dle typu sraženiny lze určit typ mikroorganismů, jež se ve vzorku nachází. V následující zkrácené tabulce (tab. č. 3) Šustová (2015) uvádí vyhodnocení kvasné zkoušky. Nejčastějším postupem práce pro získání výsledků z kvasné zkoušky je, že do zkumavky se nalije 10 – 15 ml testovaného mléka a následně se nechá inkubovat po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C (Kadlec et al. 2009; Šustová 2015).

Tab. č. 3: Vyhodnocení kvasné zkoušky

| Jakostní třída | Typ sraženiny | Mikroflóra |
|----------------|---|---|
| I. | Sraženina celistvá, obsahuje 1 – 2 plynové bublinky. | Přítomnost převážně bakterií mléčného kvašení |
| II. | Sraženina s bublinkami, může vystávat syrovátka, lze pozorovat i vrstvu peptonizovaného mléka do 1 cm hloubky | Přítomnost koliformních bakterií |
| III. | Klkovitá sraženina, mléko silně peptonizované, tvorba plynů | Silná kontaminace plynotvornými a peptonizačními mikroorganismy |
| | Mléko se za dobu 24 hodin vůbec nesrazilo | Přítomnost inhibičních látek Mléko se nesmí zpracovat! |

(Šustová 2015)

3.4 Vliv prostředí a technologie chovu na počet somatických buněk v mléce

Mezi primární zdroje environmentálních patogenů dojnic způsobujících mastitidu patří vlhkost a hnůj v prostředí chovu. Není tedy divu, že bylo prokázáno, že špatná hygiena je spojena s vyšším počtem somatických buněk a rizikem mastitidy u dojnic. Ležení krav je tradičně považováno za hlavní oblast, kde krávy přicházejí do styku s vlhkostí a hnojem, a je tedy i hlavním faktorem ovlivňujícím hygienu dojnic. Zároveň bylo prokázáno, že i použití mechanických škrabek s roštovou podlahou zlepšilo hygienu uliček a zlepšilo i hygienu vemene. Hygiena volného stání byla také vylepšena použitím škrabek, což naznačuje, že bylo vysledováno i méně hnoje ve stájích. Vyšší rizika zavlečení patogenů do vemene jsou pravděpodobně větší ve stodolách s pevnými podlahami, kde se hnůj může hromadit, dokud není seškrabán. Lze tedy předpokládat, že čím déle krávy stojí a chodí v uličkách plných hnoje, tím větší je riziko, že budou špinavější, zvláště když se podlahy často nečistí (DeVries et al. 2012).

3.4.1 Hygiena získávání mléka

Mléko získané od zdravé dojnice je ve skutečnosti sterilní, ale ke kontaminaci může dojít právě špatnou hygienou a manipulací s ním. V dojírně, ale i v celém procesu, se musí zajistit dostatečná hygiena celého zařízení, dojnic i zaměstnanců a včasným chlazením mléka zabránit mikrobiální kontaminaci.

Mezi hlavní požadavky patří:

1. Mléko musí pocházet od zdravých dojnic. Nemocné či nějak léčené dojnice musí být dojeny poslední a odděleně od stáda. Mléko od nich nesmí být dále zpracováváno.
2. Mléko nesmí obsahovat inhibiční látky a ani jejich rezidua. Zkouška na ně musí být negativní. Mezi rezidua patří antibiotika či dezinfekční a sanitární prostředky a mléčné bakterie jsou na ně obzvláště citlivé.
3. Celkový počet mikroorganismů (CPM) by neměl překročit 100 000 KTJ/ml.
4. Mléko musí mít typický vzhled a organoleptické vlastnosti mléka, tedy bez zápachu, bez cizí barvy, chuť lahodná, barva mléčná bílá, vůně charakteristická pro mléko.

Většinou se mléko získává pomocí strojního/plně automatizovaného dojícího zařízení 2x denně. Po nadojení musí být mléko chlazeno na teplotu 4 – 6 °C následně převezeno do mlékárenského závodu (pokud farma mléko nezpracovává sama), kde by mělo nejpozději do dvou dnů být mléko pasterováno, jelikož může dojít k rychlému rozvoji psychrotrofních mikroorganismů. Tomuto procesu rozvoje lze zabránit termizací (63 – 65 °C, 15 sekund), kdy vyvolá klíčení spor a ty jsou následně inaktivovány následující pasterací (Kadlec et al. 2009).

3.4.2 Automatizace procesu dojení

Například nejnovější stroje (zde se hovoří o Lely Astronaut) na dojení jsou vybaveny senzory pro detekci mastitid, tedy i somatických buněk v mléce. Zároveň i většina nejnovějších strojů dokáže hlídat celkovou kvalitu mléka (barvu, teplotu, složení mléka). Těmito stroji lze tedy včas odchytil zánět a dojnici léčit (AGRO – partner 2016, Piwczyński et al. 2021).

3.4.3 Robotické škrabky

Robotické škrabky (obr. č. 10) se stále častěji používají k odstraňování hnoje z lamelových podlah a ke zlepšování čistoty uliček v chlévech. Tyto stroje poháněné bateriemi před sebou protlačí hnůj usazený na povrchu podlahy dolů lamelami (Doerfler et al. 2018).

Robotické škrabky by mohly být vhodným prostředkem ke snížení rizika intramamární infekce a mastitidy u dojnic (Doerfler et al. 2018).

Dle studie, kterou provedl Doerfler et al. (2018), byl zjištěn pozitivní vztah mezi robotickou škrabkou a mastitidou. Jelikož robot v pravidelných intervalech čistil celý chlév, hnůj zbytečně nezůstával v prostoru dojníc a tím pádem nebyl čas pro vznik patogenů způsobujících mastitidu. Je tedy velmi pravděpodobné, že pozitivní dopad na zdraví vemene lze přičíst čistším povrchům pochozích oblastí díky provozu škrabky robota. Předchozí studie ukázaly, že hygiena prostředí pozitivně korelovala se sníženým výskytem mastitidy. Čistota krávy a vemene navíc ovlivňuje zdraví mléčné žlázy. Zajištění čistých a suchých oblastí pro chůzi a ležení je zásadní, protože je důležité minimalizovat přenos patogenních mikroorganismů z povrchu oblasti ležení na konce struků a dá se tak předejít vzniku nemoci.

Předpokládá se, že v důsledku provozu robotické škrabky dochází ke snížení kontaminace skotu a jejich nohou fekáliemi a následné znečištění podestýlky v kójičkách. Podle předchozích studií použití mechanických škrabek na hnůj snižuje množství kontaminace hnojem na roštových podlahách a má pozitivní dopad na čistotu vemene a struků. Vyšší frekvence odstraňování hnoje zlepšuje čistotu krav ve srovnání s nižší frekvencí (Doerfler et al. 2018).

Peeler et al. (2000) uvádějí, že výskyt mastitidy ve stádech dojníc se snižuje, když se záchytné kotce před dojírnou čistí mechanickou škrabkou alespoň dvakrát denně.



Obr. č. 10: robotická škrabka ve spojení lamelového povrchu

Zdroj: online obrázek č. 10

3.4.4 Teplota

U dojníc má zvýšená teplota prostředí, která se vyskytuje během letního období, dopad na metabolismus, fyziologii, produkci a reprodukci zvířete. Dojný skot je adaptabilní na širokou škálu klimatických podmínek, ale může být stresován vysokými teplotami s malým prouděním vzduchu. Tepelný stres nastává, když jakákoli kombinace podmínek prostředí způsobí, že teplota prostředí je vyšší než komfortní zóna zvířete (Novak et al. 2009; Lambertz et al. 2014).

Předmětem studie, jež provedl Novak et al. (2009), bylo, že si dojnice v pastevních systémech mohly vybrat, zda zůstanou ve stáji nebo se budou pást na pastvě. Dojnice zúčastněné tohoto výzkumu se mezi oběma možnostmi pružně rozhodovaly dle toho, jaké byly teplotní podmínky ve stáji, či na pastvě. Tudiž se mohly efektivněji vypořádávat s vystavením tepelnému stresu než dojnice chované neustále uvnitř. Zlepšení užitkovosti zvířat v teplých podmínkách zahrnuje úpravu prostředí. Pro udržení produkce má proto značný význam vhodná ustájení a vybavení pro ochranu dojnic před klimatickými extrémy.

Buvoli se dobře hodí do horkého a vlhkého podnebí a bahnitého terénu, ale vykazují známky nepohodlí, když jsou vystaveni přímému slunečnímu záření. To je způsobeno skutečností, že buvolí tělo absorbuje velké množství slunečního záření díky tmavé kůži a řídké srsti, kromě toho mají buvoli méně účinný systém ochlazování kvůli nižšímu počtu potních žláz (Marai & Haebe 2010).

Optimální teplota prostředí, kde se dojnice nacházejí, by se měla pohybovat mezi 8 – 16 °C. Vyšší teplota může způsobit vhodnější prostředí pro množení mikroorganismů (čímž dochází ke zvýšenému riziku vzniku mastitid) nebo i zvýšení počtu somatických buněk. Všeobecně v zimních obdobích jsou zjišťovány nižší PSB (Navrátilová 2012).

Jak popisuje Rakib et al. (2020) a shoduje se se svými tvrzeními s Navrátilovou (2012), tepelný stres je jednou z nejvíce stresujících situací pro dojný skot, protože fyziologická potřeba vyrovnat akumulaci a odvod tepla má za následek negativní vliv na celkovou fyziologii zvířat, metabolismus a produktivitu, v extrémních případech dokonce vede ke smrti. Tepelný stres negativně ovlivňuje zdraví krav tím, že mění normální fyziologické funkce dojnice, což má za následek vyšší výskyt zdravotních problémů vemene v letním období (Turk et al., 2015). Navíc v důsledku vysokých okolních teplot v kombinaci s vysokou relativní vlhkostí v létě se také zvyšuje aktivita některých mikroorganismů odpovědných za infekce mléčné žlázy, což zpochybňuje obrannou kapacitu mléčné žlázy a zvyšuje bakteriální kolonizaci žlázy.

Bohužel globální oteplování způsobuje teplotní výkyvy a častější dny s vyššími teplotami. To způsobuje právě obávaný teplotní stres pro dojnice, zvyšuje se právě již zmíněné riziko infekce, mastitid a zvýšeného PSB. To zapříčiní, že farmář nemůže prodávat své mléko. Odhadované celkové ekonomické ztráty způsobené tepelným stresem v americkém mlékárenském průmyslu jsou více než 800 milionů dolarů ročně a pravděpodobně se budou zvyšovat s progresivní globální změnou klimatu. Proto je nezbytné lépe porozumět mechanismům, kterými tepelný stres nepříznivě ovlivňuje dojnice, aby bylo možné vyvinout vhodné strategie ke snižování tepla a pro udržení optimálního zdraví mléčné žlázy během období zvýšené pravděpodobnosti tepelného stresu (Rakib et al. 2020).

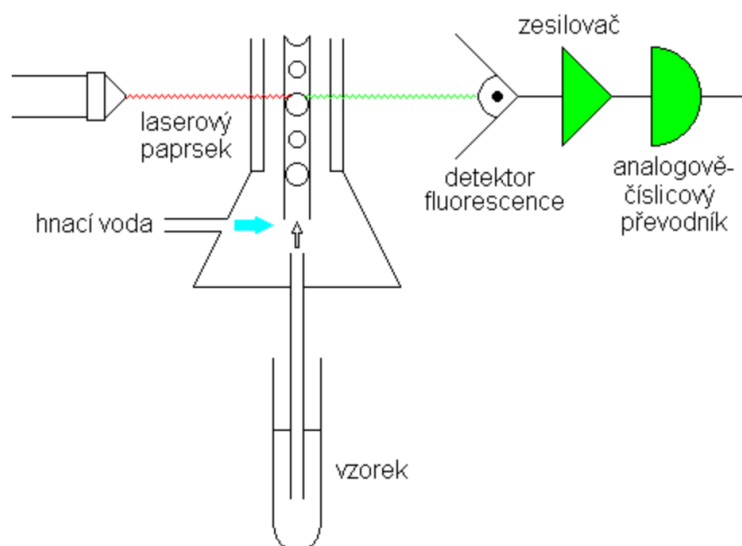
3.5 Stanovení počtu somatických buněk v buvolím mléce

Somatické buňky lze analyzovat mnoha způsoby. Mezi nejznámější a nejvíce využívané patří průtoková cytometrie a fluorescenční mikroskopie.

3.5.1 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (obr. č. 11) zahrnuje jeden nebo více laserů, typicky o vlnových délkách 355 nm, 405 nm, 488 nm, 561 nm a 638 nm, pro rychlou analýzu imunitních buněk v proudu tekutiny pomocí laserové excitace a fluorescenční emisní spektrální analýzy. Průtokový cytometr má tři hlavní součásti: fluidní systém, optický systém a elektroniku. Fluidní systém se používá pro seřazení a transport vzorků buněk do komory průtokové cely. Optický systém se používá k osvětlení buněk pomocí laserových paprsků, kde jedna buňka po druhé procházejí v komoře průtokové kyvety, přičemž detektor detekuje vyzařované rozptýlené světlo a fluorescenci. Nakonec se elektronický systém používá k ovládní laserových paprsků a zesilování detekovaných světelných signálů, což umožňuje analýzu buněk s přesností jedné jednotky.

Buňky jsou obarveny barvami. Lasery na průtokovém cytometru excitují navázaná barviva, která absorbují laserové světlo a emitují fluorescenci odpovídající emisním spektrům barviv. Průtokový cytometr zachycuje fluorescenční světlo a na základě spekter detekuje signál (Jiang et al. 2021).



Obr. č. 11: Průtoková cytometrie

Zdroj: online obrázek č. 11

3.5.2 Lactoscan SCC

LACTOSCAN SCC (obr. č. 12) počítač somatických buněk je založen na fluorescenční obrazové cytometrii pro počítání buněk v mléce. Automatickým posunem udělá zařízení asi 64 snímků (každá ze 4 komor na LACTOCHIPU 4R má 16 políček). Po zachycení jsou snímky zpracovávány vestavěným softwarem a je zobrazen průměrný výsledek.

Jako zdroj světla je použita bílá dioda vyzařující světlo (LED). Fluorescence je zachycována 4x objektivem a vedena přes blok filtru (475 ± 20 nm) a do CMOS kamery.

LACTOCHIP 4R má čtyři samostatné uzavřené komory (A, B, C a D), které umožňují analýzu čtyř různých vzorků. Kapacita každé komory je 8 μ l.



Obr. č. 12: LACTOSCAN SCC

Zdroj: online obrázek č. 12

3.5.3 Fluorescenční obrazová cytometrie

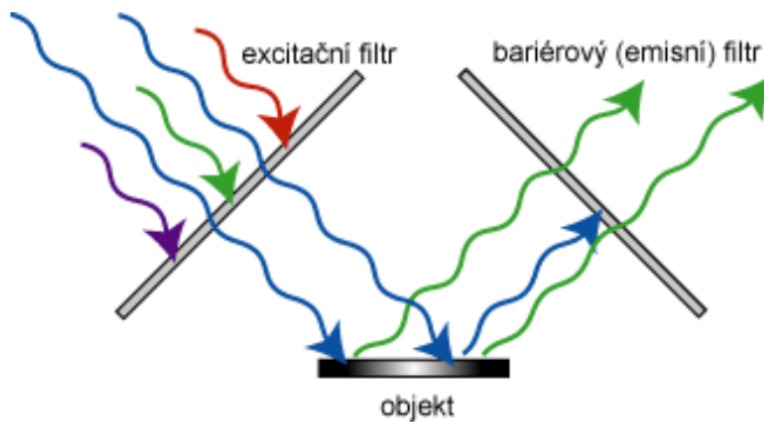
Mikroskopie umožňuje zachytit snímky buněk, které obsahují velké množství informací o buňce. Zatímco konvenční průtoková cytometrie měří rozptýlené světlo k odhadu relativní velikosti buněk, mikroskopie poskytuje přesnou velikost buňky prostřednictvím obrazu ve světlém poli (Han et al. 2016).

3.5.3.1 Fluorescenční mikroskopie

Fluorescence se vyznačuje tím, že absorbuje světelné záření dané vlnové délky (jinak řečeno excitace). Část energie, kterou získá vyzáří zpět (emise), což způsobí světélkování jinou barvou (Soukup 2004; Votrubová 2010; Navrátil & Rosina 2019).

Pojem fluorescenční mikroskopie je široce používaný způsob pro sledování a zkoumání rostlinné, živočišné a buněčné biologie. Tato metoda patří mezi analýzy, jež mají vysokou citlivost. Stačí jen malá koncentrace vzorku, aby byly zkoumané molekuly detekovány. Její citlivost zároveň i podporuje detekce signálu na temném pozadí. K tomu napomáhá dvojice filtrů (obr. č. 13), které oddělí na základě vlnových délek emisní a excitační záření. Na základě toho, jaký je nastavený rozsah vlnových délek (které projdou a které ne), funguje excitační filtr. Emisní filtr naopak zajistí, že projde pouze ta část spektra,

pro kterou sledujeme signál. Tím se docílí, že vzorek svítí tak, jak je potřeba a jsou vyselektovány rušivé momenty (Soukup 2004; Valeur & Santos 2013; Sanderson et al. 2014).



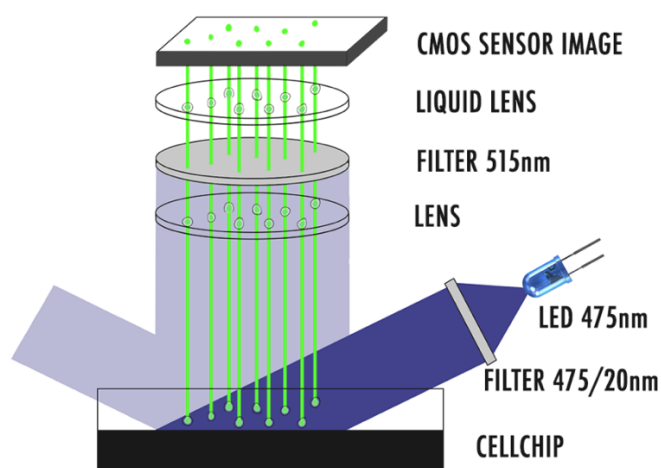
Obr. č. 13: Princip emisních a excitačních filtrů

Zdroj: online obrázek č. 13

U látek, které jsou samy o sobě schopny fluorescence, hovoříme o primární fluorescenci. Fluorescenci lze u látek, které samy o sobě nesvítí, vyvolat přidáním svítícího barviva na vzorek a vznikne tak sekundární fluorescenci. Látky, které samy dokážou fluorescenčně zářit a které využíváme k fluorescenčnímu obarvení se nazývají fluorochromy. Chemickou strukturou jsou fluorochromy obvykle organické látky s aromatickými kruhy a delokalizovanými elektrony schopnými excitace (Soukup 2004; Valeur & Santos 2013).

3.5.3.1.1 Fluorescenční mikroskop

Princip (obr. č. 14) spočívá v tom, že se biologický roztok obarví fluorescenční látkou. Následně jsou buňky zasaženy excitačním světelným zdrojem, který způsobí právě jejich fluorescenci. Právě LED světlo a excitační lasery zasáhnou každou buňku. Jejich snímky se pořídí vysokorychlostním kamerovým zařízením, když buňka prochází jejich senzory (Valeur & Santos 2013; Navrátil & Rosina 2019; Working method of LACTOSCAN SCC 2020).



Obr. č. 14: Princip fluorescenční obrazové cytometrie

Zdroj: online obrázek č. 14

3.6 Stanovení obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce

Bílkoviny, ale i laktózu lze stanovit více metodami, které fungují na různých principech. Mezi dva nejčastější způsoby stanovení obsahu laktózy a bílkovin v mléce je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) a infračervená spektroskopie, kdy na jejím principu pracuje MilkoScan FT 120.

3.6.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová je specifická forma sloupcové chromatografie obecně používaná k analýze a separaci, identifikaci a kvantifikaci aktivních sloučenin. Hlavním mechanismem HPLC je unášení vzorku mobilní fází přes stacionární fázi. Mobilní fáze je tvořena kapalinou a stacionární fáze je zpravidla náplňová kolona se silikagelem. Jednotlivé části vzorku jsou postupně zachytávány v koloně a poté vymývány mobilní fází. Poté jsou nesený do detektoru, který měří retenční časy molekul. Retenční doba se mění v závislosti na interakcích mezi stacionární fází, analyzovanými molekulami a použitým rozpouštědlem.

Čas, ve kterém se konkrétní analyt eluuje (vychází z konce kolony), se nazývá retenční čas. Běžně používaná rozpouštědla zahrnují jakákoliv mísitelné kombinace vody nebo organických kapalin (nejběžnější jsou methanol a acetonitril) (Malviya et al. 2010).

3.6.2 MilkoScan FT 120

MilkoScan FT 120 (obr. č.15) je založen na infračervené spektroskopii s Fourierovou transformací. V mlékárenském průmyslu se analyzátor MilkoScan FT-plus běžně používá k měření chemických složek mléka, poskytuje řadu parametrů složení, včetně například tuku,

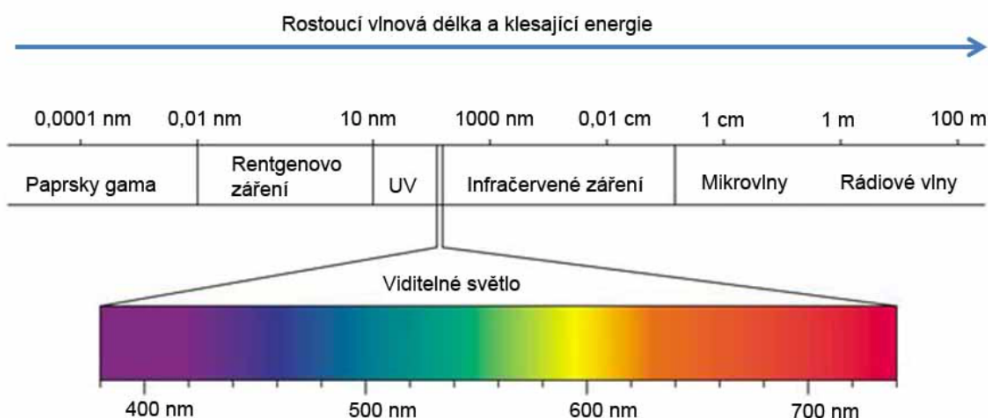
bílkovin, laktózy, močoviny a mastných kyselin. Jeho dalším využitím je kontrola kvality mléka a mléčných výrobků. Dokáže i měřit technologické vlastnosti mléka a mléčných produktů (Spina et al. 2021).



Obr. č. 15: MilcoScan FT 120
Zdroj: online obrázek č. 15

3.6.2.1 Infračervené záření

Infračervené záření je část elektromagnetického spektra (obr. č. 16), které se nachází v rozsahu vlnových délek 780 nm až 1000 μm . Je možno jej i následně rozdělit na oblasti: blízká (NIR) oblast se nachází mezi 780 – 25 000 nm, střední (MIR) je od 25 000 do 250 000 nm a vzdálená (FIR) od 250 000 do 1 000 000 nm. Nejčastěji se využívá blízká (NIR) spektroskopie (Dufour 2009).



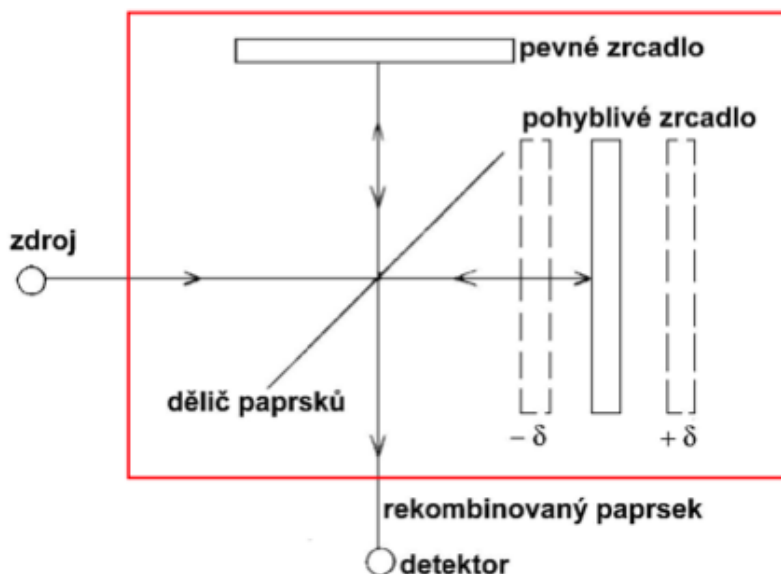
Obr. č. 16: Elektromagnetické záření
Zdroj: online obrázek č. 16

3.6.2.1.1 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie je jistě jednou z nejdůležitějších analytických technik, které mají dnešní vědci k dispozici. Jednou z velkých výhod infračervené spektroskopie je, že lze studovat prakticky jakýkoli vzorek prakticky v jakémkoli stavu. Kapaliny, roztoky, pasty, prášky, filmy, vlákna, plyny a povrchy, to vše lze zkoumat uvážlivým výběrem techniky odběru vzorků (Stuart 2004)

Infračervená spektroskopie je technika založená na vibracích atomů molekuly. Většina vibrací pochází z vazeb C-H, O-H, S-H a N-H (Muselík 2012).

Při měření NIR spekter je hlavní metodou měření absorpce záření po průchodu vzorkem – tedy jaká frakce záření byla vzorkem absorbována při dané vlnové délce. Moderní infračervené spektrometry (obr. č. 17) jsou obvykle infračervené spektrometry s Fourierovou transformací (FTIR). Srdcem FTIR spektrometru je interferometr. Má pevné a pohyblivé zrcadlo. Ten generuje proměnný rozdíl optické dráhy mezi dvěma paprsky, který dává signál detektoru, který obsahuje spektrální informace. Světlo vyzařované ze světelného zdroje je rozděleno děličem paprsků: přibližně polovina se odráží směrem k pevnému zrcadlu a odtud se odráží zpět k děliči paprsků, kde asi 50 % prochází k detektoru. Druhá polovina počáteční intenzity světla projde rozdělovačem paprsků při jeho prvním setkání, je odražena pohyblivým zrcadlem zpět k rozdělovači paprsků, kde se 50 % odrazí směrem k detektoru. Přístroj měří intenzitu světla vzhledem k poloze pohyblivého zrcadla a nazývá se to interferogram (Barth 2007).



Obr. č. 17: Infračervený spektroskop

Zdroj: online obrázek č. 17

4 Metodika

Jelikož přístroj LACTOSCAN SCC byl pořízen až v roce 2021, nemohl být prováděn výzkum počtu somatických buněk dříve.

Pro stanovení počtu somatických buněk v buvolím mléce byl použit přístroj LACTOSCAN SCC, který funguje na principu fluorescenční obrazové cytometrie, jinak zvané fluorescenční mikroskopie. Zároveň i celkové složení mléka bylo měřeno na přístroji MilkoScan FT 120.

Veškerá data byla zpracována v programu Statistica 12 a Microsoft Excel.

4.1 Vzorky mléka

Všechny vzorky buvolího mléka pocházely z Buvolí farmy Ohař, jež se nachází na předělu Středočeského a Jihočeského kraje. Celkem bylo analyzováno 11 vzorků (tabulka č. 4) buvolího mléka. Vzorky byly odebírány od listopadu 2021 do února 2022. Zkoumané mléko nebylo nijak tepelně ošetřeno. Vzorky mléka byly získány z tanku a přelity do skleněných sterilních lahví. Následně byly vzorky převezeny do laboratoří Katedry kvality a bezpečnosti potravin na České zemědělské univerzitě v Praze.

Tabulka č. 4: data odběru vzorků

| Datum odběru vzorku | Název vzorku | Zvíře |
|---------------------|--------------|-------|
| 11.11.2021 | 1 | Buvol |
| 18.11.2021 | 2 | Buvol |
| 2.12.2021 | 3 | Buvol |
| 9.12.2021 | 4 | Buvol |
| 7.1.2022 | 5 | Buvol |
| 13.1.2022 | 6 | Buvol |
| 20.1.2022 | 7 | Buvol |
| 27.1.2022 | 8 | Buvol |
| 10.2.2022 | 9 | Buvol |
| 17.2.2022 | 10 | Buvol |
| 24.2.2022 | 11 | Buvol |

4.1.1 Buvolí farma ohař

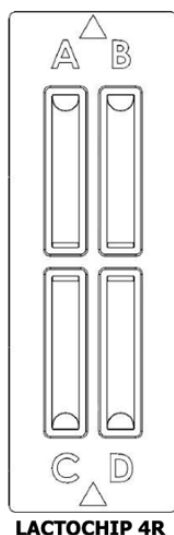
Buvolí farma Ohař je ekologická farma, jež je jako jediná v České republice zaměřena na chov buvolů a následnou produkci jejich mléka a mléčných výrobků. Stádo o celkovém počtu asi 20 buvolů je chováno převážně pastevním způsobem chovu. Během léta jsou buvoli na pastvě, kdy jejich hlavní krmení tvoří pastva na travním porostu a minerální liz. V listopadu se buvoli přesouvají do zimoviště, kde jsou krmeni převážně senem, senází (poměr 1:2) s přidáním biogranulí. Po otelení zůstává mládě s matkou 3 – 4 dny. Poté je 10 dní krmeno mlékem od matky a od 4. dne dostává přístup k vodě, senu a biogranulím.

Buvolí dojnice jsou dojeny 2x denně, ke konci laktace pouze jednou. Jejich průměrná délka laktace je 8 – 9 měsíců a průměrně za den nadojí asi 7 litrů mléka.

4.2 Měření pomocí přístroje LACTOSCAN SCC

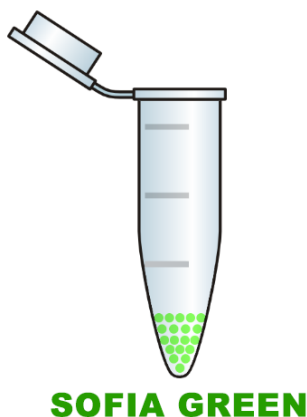
4.2.1 Použité náčiní, přístroje

- Zkumavka
- Mini Vortex mixer
- Vodní lázeň (Strojbal, ČR)
- Mikrozkušavka s barvivem SOFIA GREEN
- JetPip 100 μ l (JetBiofil, ES)
- JetPip 8 μ l (JetBiofil, ES)
- Mikrofluidní komora LACTOCHIP 4R
- LACTOSCAN SCC (MILKOTRONIC LTD, BG)



Obr. č. 18: Lactochip 4R

Zdroj: online obrázek č. 18



Obr. č. 19: Zkumavka s barvivem SOFIA GREEN

Zdroj: online obrázek č. 19

4.2.2 Příprava vzorků k analýze

Mezi jeden z prvních kroků k přípravě vzorku k analýze patřilo promíchání lahve s mlékem. A to z důvodu získání stejnorodého vzorku, kdy jsou somatické buňky rozloženy po celém objemu lahve. Následně bylo přelito asi 10 ml mléka do zkumavky a umístěno na pár minut do vodní lázně, aby dosáhlo provozní teploty 40 °C. Když mělo správnou teplotu, byla zkumavka s mlékem umístěna rovně na Vortex a krátkými promícháními několikrát za sebou, aby bylo opět dosaženo rovnoměrného promíchání. Zároveň je i důležité se nedostat při vortexování mlékem na víčko zkumavky – somatické buňky by mohly ulpět na víčku a tím bychom o část přišli. Následně bylo 100 µl mléka odpipetováno do Eppendorf minizkumavky s barvivem SOFIA GREEN. Vzorek se nechal minutu v klidu, aby se nechalo barvivo působit. Následovalo opět opatrné promíchání na Vortexu, kdy bylo po dobu asi 2 vteřin celkově 8x za sebou rychle a krátce promícháno (opět se snahou nedosáhnout víčka). Po promíchání se počkalo 3 minuty, aby se barvivo navázalo na somatické buňky. Po 3 minutách se opět krátce zvortexovalo. Následně jsme z ochranného obalu vyndali opatrně mikrofluidní komoru LACTOCHIP 4R a do každé komůrky napipetovali 8 µl. Poté byla příprava samotného vzorku hotová a mohli jsme přistoupit k měření na přístroji LACTOSCAN SCC.

4.3 Měření obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce

Měřit obsah laktózy a bílkovin v buvolím mléce lze pomocí infračervené spektroskopie, na jejímž principu pracuje MilkoScan FT 120, který je i nově nakalibrován na buvolí mléko.

Vzorek mléka (neupraveného) je nasáván pomocí vibrační nasávací pipety do měřící jednotky. Následně projde ohřívací jednotkou, která vzorek ohřeje na 39 °C. Poté následuje homogenizace, kde je mléko pomocí vysokotlakého čerpadla přiváděno do homogenizátoru.

Po jeho ohřátí a homogenizaci přichází vlastní měření. Vzorek je přes filtr dávkován do kvety, kde je změřena absorbance IR záření. Po analýze odchází vzorek do odpadu. K celému systému je připojen nulovací a čisticí roztok.

5 Výsledky

5.1 Složení mléka

Tabulka č. 5: Složení mléka v jednotlivých vzorcích naměřených na MilkoScan FT 120

| Číslo vzorku | Tuk (%) | Bílkoviny (%) | Laktóza (%) | Sušina (%) | Tukuprostá sušina (%) | Hustota (g/cm ³) |
|-----------------------|---------|---------------|-------------|------------|-----------------------|------------------------------|
| 1 | 6,36 | 3,76 | 5,25 | 15,84 | 9,58 | 1,032 |
| 2 | 5,76 | 3,73 | 5,46 | 15,56 | 9,68 | 1,033 |
| 3 | 6,22 | 3,76 | 5,57 | 15,87 | 9,74 | 1,033 |
| 4 | 6,54 | 3,65 | 5,24 | 15,76 | 9,30 | 1,03 |
| 5 | 6,81 | 3,85 | 5,36 | 16,45 | 9,76 | 1,032 |
| 6 | 6,36 | 3,79 | 5,32 | 15,7 | 9,55 | 1,032 |
| 7 | 5,61 | 3,94 | 5,50 | 15,55 | 10,03 | 1,035 |
| 8 | 7,02 | 3,92 | 5,42 | 16,79 | 9,88 | 1,033 |
| 9 | 5,55 | 4,32 | 6,15 | 16,72 | 11,33 | 1,040 |
| 10 | 7,57 | 3,98 | 5,43 | 17,29 | 9,91 | 1,031 |
| 11 | 7,52 | 4,03 | 5,38 | 17,45 | 10,03 | 1,032 |
| Celkový průměr | 6,48 | 3,88 | 5,46 | 16,27 | 9,89 | 1,033 |

V tabulce č. 5 lze nalézt výsledky z měření složení mléka na MilkoScanu FT 120. Každý ze vzorků byl proměřen dvakrát za sebou. Následně byl z hodnot vypočten průměr v programu Microsoft Excel. Nejvíce tuku obsahoval vzorek č. 10, kde byla naměřena tučnost 7,57 %. Nejvíce bílkovin bylo zjištěno u vzorku č. 9, kdy obsah bílkovin dosáhl 4,32 %. Podobně tomu bylo i při měření laktózy v mléce. Vzorek č. 9 opět vykazoval nejvyšší hodnoty ze všech měření a dostali jsme se až na hodnotu 6,15 %. Nejvyšší obsah sušiny byl 17,45 %, což vykazoval vzorek č. 11. Tukuprostá sušina se pohybovala od nejnižší naměřené hodnoty 9,3 % u vzorku č. 4 po tu nejvyšší s 11,33 % u vzorku č. 9. Z průměru všech hodnot vyplývá, že hustota odebíraného buvolího mléka je 1,033 g/cm³.

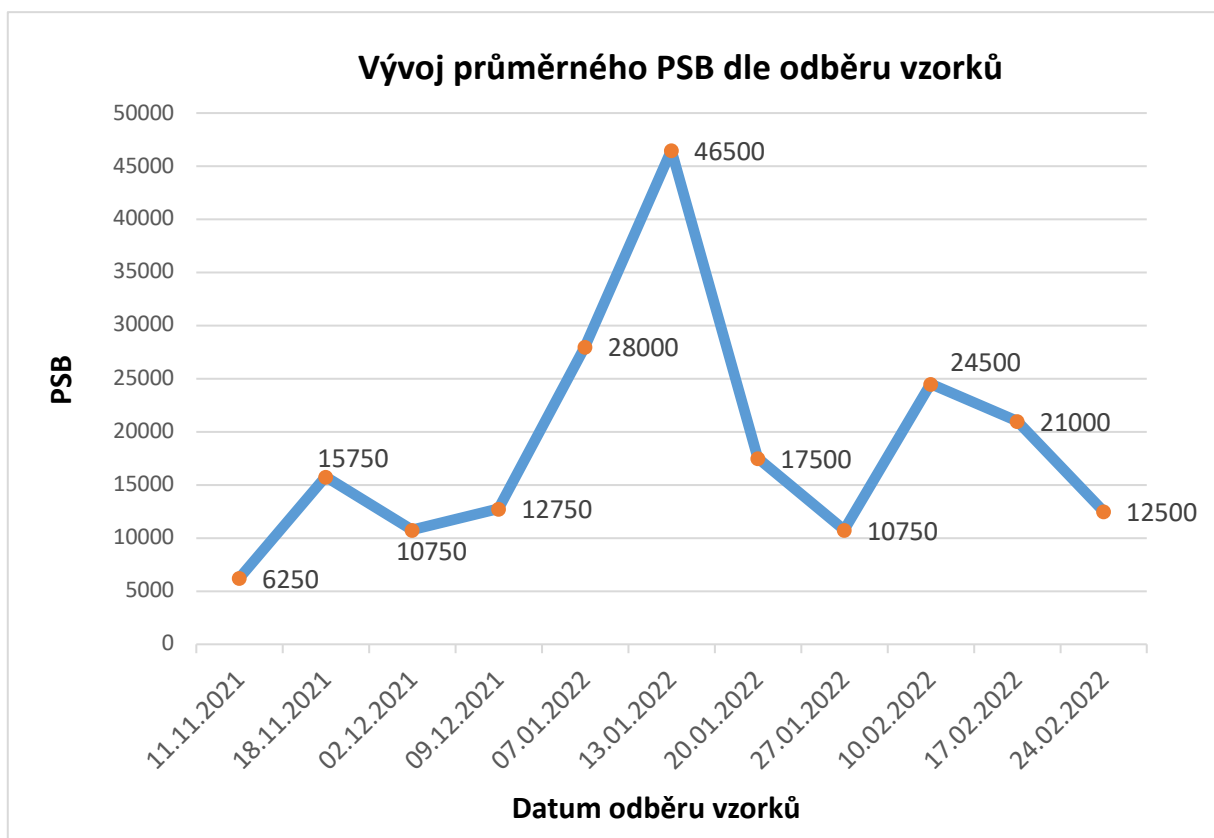
5.2 Vyhodnocení počtu somatických buněk v buvolím mléce

Počet somatických buněk v mléce byl měřen pomocí přístroje LACTOSCAN SCC, který je programově nakalibrován na buvolí mléko. Naměřená data byla zpracována v programu Statistica 12, popřípadě i v Microsoft Excel.

Tabulka č. 6: Průměrný počet somatických buněk na 1 ml buvolího mléka ve vzorku

| vzorek | průměr PSB na 1 ml mléka | SD |
|---------------------------|--------------------------|--------|
| 1 | 6 250 | 2 754 |
| 2 | 15 750 | 3 500 |
| 3 | 10 750 | 6 500 |
| 4 | 12 750 | 2 217 |
| 5 | 28 000 | 9 309 |
| 6 | 46 500 | 15 842 |
| 7 | 17 500 | 3 317 |
| 8 | 10 750 | 3 096 |
| 9 | 24 500 | 8 544 |
| 10 | 21 000 | 9 201 |
| 11 | 12 500 | 4 509 |
| Celkový průměr PSB | 18 750 | |

V tabulce č. 6 jsou měřeními získané průměrné hodnoty PSB v 1 ml mléka. Celkový průměrný výsledek byl vypočítán z průměrných hodnot PSB 11 vzorků, kdy byly u každého vzorku provedeny 4 měření, z nichž byly následně spočítány průměr a směrodatná odchylka jednotlivého vzorku. Nejvyšší naměřená průměrná hodnota PSB byla získána u vzorku č. 6, kde hodnoty dosahovaly necelých 50 000 PSB na 1 ml mléka, konkrétně tedy 46 500 ($\pm 15 842$ PSB na 1 ml mléka). Nejnižší průměrná hodnota PSB byla naměřena u vzorku č. 1, kdy průměrná hodnota ze čtyř vzorků po 1 ml buvolího mléka byla $6 250 \pm 2 754$ PSB na 1 ml mléka. Hodnoty byly uloženy a výsledky spočítány v programu Microsoft Excel. Tabulka se všemi naměřenými hodnotami pro každý vzorek je přiložena v samostatných přílohách (Příloha č. 1).



Obr. č. 20: Grafické zobrazení vývoje průměrného PSB v čase odběrů

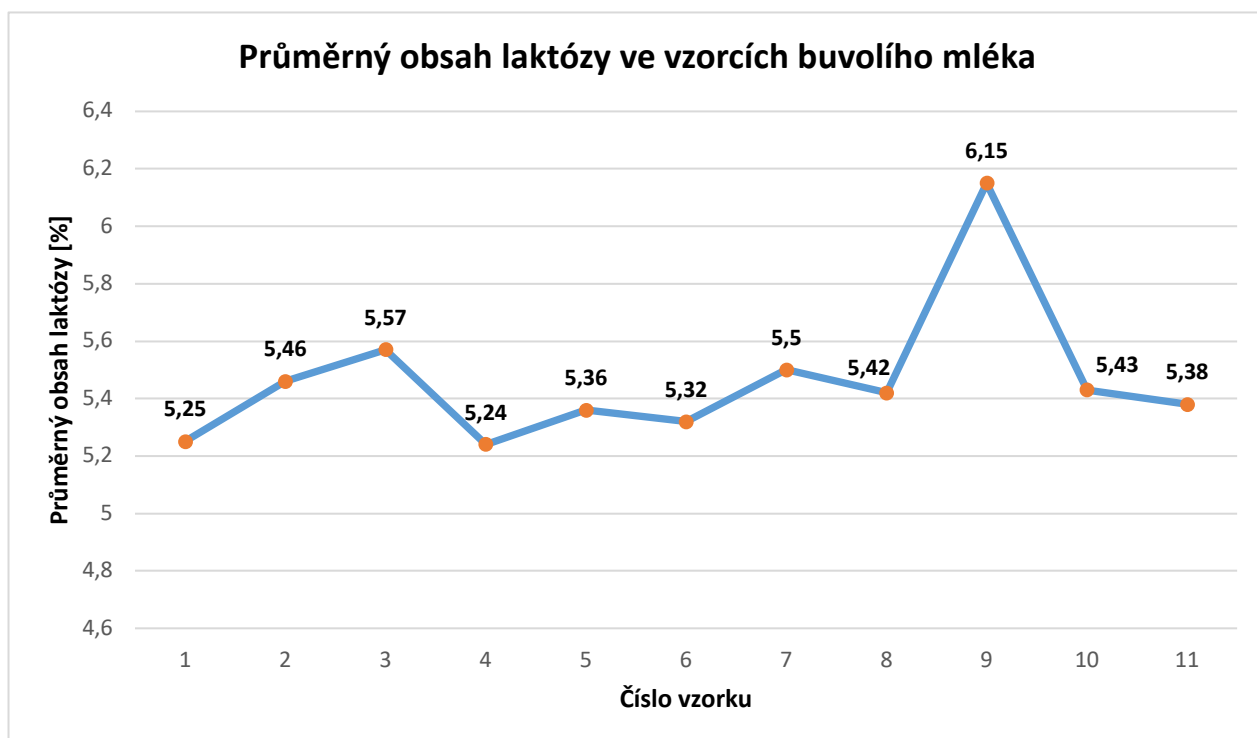
Tento graf byl vytvořen pomocí programu Microsoft Excel. Cílem tohoto grafu bylo vyhodnotit změny v obsahu PSB v buvolím mléce v době odběru vzorků. Lze si všimnout, že jsou zde i značné výkyvy v PSB, kdy ten nejvyšší zaznamenáváme 13.1.2022. Je možné, že v tomto čase byl zjištěn zvýšený PSB kvůli mastitidě či jinému onemocnění. Buvolí mléko nemá legislativně stanoven limit PSB na 1 ml mléka, jako je tomu u mléka kravského, kde je limit do 400 000 v 1 ml mléka. Buvoli všeobecně mají vždy nižší hodnoty PSB, než krávy. Nelze tedy dojít k závěru, že by u vzorku z 13.1.2022 byl nějaký problém, lze jej popsat pouze jako výkyv v našem měření.

Celkově lze zhodnotit počet somatických buněk ve vzorcích jako stabilní, jelikož i díky výkyvům jako je nejnižší naměřená hodnota u 1. vzorku $6\,250 \pm 2\,754$ PSB na 1 ml mléka a nejvyšší naměřená hodnota u vzorku č. 6 $46\,500 \pm 15\,843$ PSB na 1 ml mléka nám při pohledu do grafu ukáže, že námi vypočtený průměr $18\,750$ PSB na 1 ml mléka vychází do střední části grafu.

Bohužel i covid a s tímto onemocněním související následná epidemiologická situace zasáhla do výzkumu, tudíž nelze z tak krátkého výčtu vzorků dělat podrobnější závěry.

5.3 Vyhodnocení obsahu laktózy v buvolím mléce

Obsah laktózy ve vzorcích buvolího mléka byl stanoven pomocí přístroje MilkoScan FT 120, kdy přístroj byl přímo na buvolí mléko nově nakalibrován. MilkoScan FT 120 v tomto programu stanovuje procentuální zastoupení laktózy vždy ve dvou měřeních. Z těchto dvou měření byl následně pomocí systému Microsoft Excel vypočteny průměr a směrodatná odchylka. Tabulka všech jedenácti vzorků se získanými průměry a směrodatnými odchylkami pro obsah laktózy v buvolím mléce je přiložena v samostatných přílohách (Příloha č. 2).



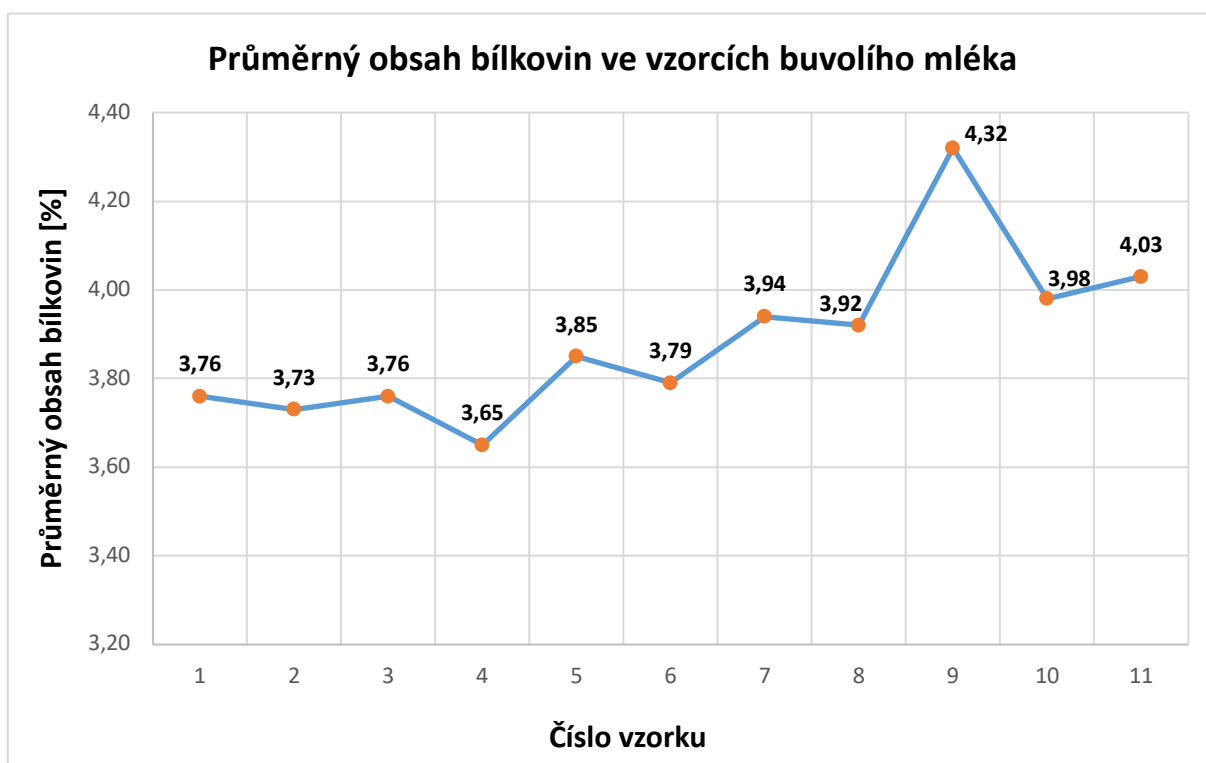
Obr. č. 21: Grafické zobrazení průměrného obsahu laktózy v buvolím mléce

Na obrázku č. 21 byl sledován vývoj průměrného obsahu laktózy [%] v průběhu celého období odběru vzorků, kdy graf byl vytvořen pomocí aplikace Microsoft Excel. Hodnoty byly získány pomocí analýzy mléka přístrojem MilkoScan FT 120. Po celou dobu sledování byl pozorován stabilní trend a hodnoty se celkově od sebe nijak extrémně nevychylovaly. Sice nejvyšší naměřená hodnota dosáhla $6,15 \pm 0,021$ % obsahu laktózy v buvolím mléce a nejnižší $5,24 \pm 0,000$ %, lze si ale všimnout, že celkový průměr laktózy (5,46 %) ze všech měření bude odpovídat celkovému průběžnému průměru měřených vzorků.

5.4 Vyhodnocení obsahu bílkovin v buvolím mléce

Stejně tak, jako tomu bylo u stanovení laktózy v buvolím mléce, byl i obsah bílkovin stanoven pomocí přístroje MilkoScan FT 120. Průměrný obsah bílkovin v mléce byl vzat ze dvou po sobě jdoucích měření a vypočten v programu Microsoft Excel. Směrodatná odchylka byla také vypočtena z těchto dvou měření. Tabulka se získanými průměry a směrodatnými odchylkami všech jedenácti vzorků pro obsah laktózy v buvolím mléce je přiložena v samostatných přílohách (Příloha č. 3).

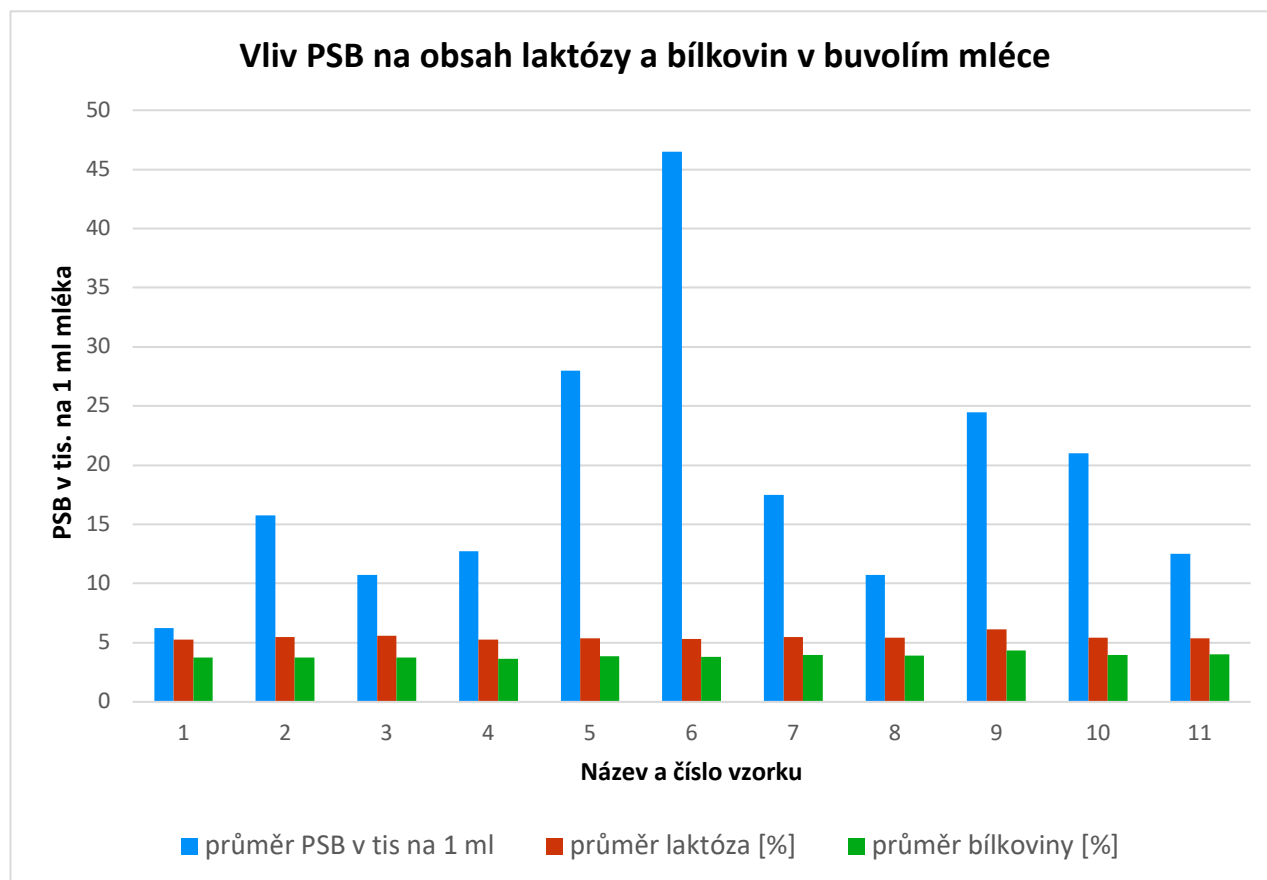
S výsledky průměrného obsahu bílkovin v buvolím mléce je to podobné, jako u měření laktózy. Vzorek číslo 9 opět vykazoval nejvyšší obsah bílkovin $4,32 \pm 0,007$ %. Nejnižší obsah bílkovin byl naměřen u vzorku č. 4 $3,65 \pm 0,014$ %, kde byl pozorován podobný trend, jako tomu bylo u laktózy. Celkově naměřený průměr obsahu bílkovin v buvolím mléce byl 3,88 %. Po celou dobu měření nebyly pozorovány nijak extrémní výkyvy, celkově se průměrný obsah bílkovin v jednotlivých vzorcích pohyboval okolo celkového průměru.



Obr. č. 22: Grafické zobrazení průměrného obsahu bílkovin v buvolím mléce

S výsledky průměrného obsahu bílkovin v buvolím mléce je to podobné, jako u měření laktózy. Vzorek číslo 9 opět vykazoval nejvyšší obsah bílkovin $4,32 \pm 0,007$ %. Nejnižší obsah bílkovin byl naměřen u vzorku č. 4 $3,65 \pm 0,014$ %. Stabilní trend lze vidět na obrázku č. 22, kde byl pozorován podobný trend, jako tomu bylo u laktózy. Celkově naměřený průměr obsahu bílkovin v buvolím mléce byl 3,88 %. Po celou dobu měření nebyly pozorovány nijak extrémní výkyvy, celkově se průměrný obsah bílkovin v jednotlivých vzorcích pohyboval okolo celkového průměru.

5.5 Celkové vyhodnocení vlivu PSB na obsah laktózy a bílkovin v buvolím mléce



Obr. č. 23: Vliv PSB na obsah laktózy a bílkovin v mléce

Cílem tohoto grafu bylo zhodnotit vliv PSB na obsah laktózy a bílkovin v mléce. Dle tohoto grafu si lze všimnout, jak obsah laktózy a bílkovin je po většinu času neměnný. Sice u vzorku č. 6 máme zvýšený PSB (46 500), ale to nijak neovlivňuje změnu u průměrného obsahu laktózy a bílkovin, jak bychom očekávali dle zjištění z odborných zdrojů.

5.6 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí programu Statistica 12.0. Byla porovnávána síla závislosti mezi počtem somatických buněk a laktózou a počtem somatických buněk a bílkovinami. Byla použita vícenásobná regrese. Síla závislostí je vyjádřena Pearsonovým korelačním koeficientem r , který nabývá hodnot $\langle -1; 1 \rangle$. Slabá závislost je při hodnotách $-0,3 - 0 - 0,3$. Střední závislost se nachází v rozmezích od $-0,6$ do $-0,3$ a $0,3 - 0,6$. Silná závislost mezi výsledky je při hodnotách -1 až $-0,6$ a $0,6-1$. Výsledkem byla p hodnota, která nám stanovuje míru podobnosti výsledků. Pokud vyšla p hodnota vyšší než námi stanovená $\alpha = 0,05$, jednalo se o vzorky, kde nebyl statisticky významný rozdíl

vzorků. Pokud vyšla p hodnota nižší než stanovená $\alpha = 0,05$, byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi výsledky.

V tabulkách č. 7 a 8 jsou výsledky získané z programu Statistica 12.0.

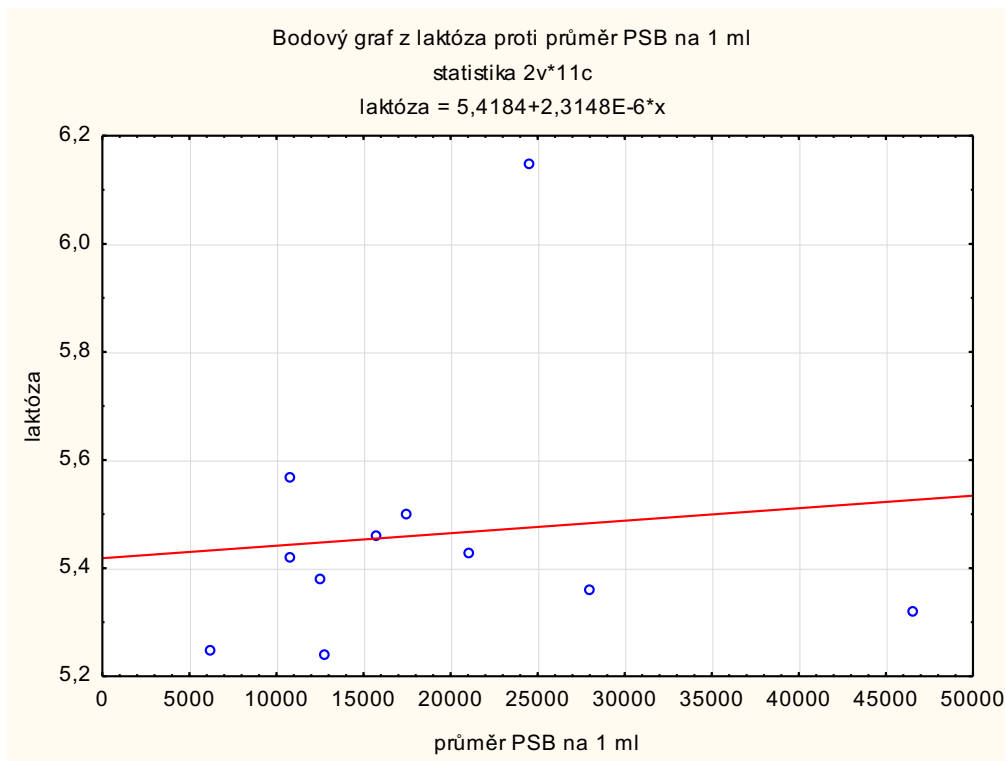
Tabulka č. 7: Výsledky z programu Statistica 12.0 pro korelační a regresní analýzu PSB a laktózy

| N=11 | Výsledky regrese se závislou proměnnou : laktóza (statistika) R= ,10443682 R2= ,01090705 Upravené R2= ----- F(1,9)=,09925 p<,75992 Směrod. chyba odhadu : ,26119 | | | | | |
|--------------------|--|---------------|----------|--------------|----------|----------|
| | b* | Sm.chyba z b* | b | Sm.chyba z b | t(9) | p-hodn. |
| Abs.člen | | | 5,418416 | 0,158689 | 34,14478 | 0,000000 |
| průměr PSB na 1 ml | 0,104437 | 0,331511 | 0,000002 | 0,000007 | 0,31503 | 0,759918 |

Tabulka č. 8: Výsledky z programu Statistica 12.0 pro korelační a regresní analýzu PSB a laktózy

| Statist. | Statistické shrnutí;ZP: laktóza (statistika) |
|------------------|---|
| | Hodnota |
| Vícenás. R | 0,104436818 |
| Vícenás. R2 | 0,010907049 |
| Upravené R2 | -0,0989921678 |
| F(1,9) | 0,0992459208 |
| p | 0,759918094 |
| Sm. chyba odhadu | 0,261192338 |

V tabulce č. 7 vyšla p hodnota 0,760, což je vyšší hodnota, než námi stanovená hodnota $\alpha = 0,05$. Dle tohoto výsledku lze usoudit, že výsledky jsou statisticky shodné a není mezi nimi statisticky průkazný rozdíl. Při pohledu do tabulky č. 8 si lze všimnout, že vícenásobné R dosahuje hodnoty 0,104, což značí velmi slabou závislost. Lze tedy konstatovat, že počet somatických buněk nemá v našem případě vliv na změnu obsahu laktózy. Celkový PSB byl velmi nízký, tudíž nemohl nijak významně měnit obsah laktózy v buvolím mléce. Tento výsledek získaný z programu Statistica 12.0 nám koreluje s tvrzením učiněným na základě výsledků měření průměrného obsahu laktózy v buvolím mléce (obrázek č. 21, kde lze z odečtu grafu vyčíst, že byl obsah laktózy stabilní i při zvýšené jedné hodnotě PSB.



Obrázek č. 24: Grafické zobrazení korelace mezi PSB a laktózou

Obrázek č. 24 nám potvrzuje výsledky získané z programů Statistica 12.0 a Microsoft Excel, kdy PSB neměl významný vliv na obsah laktózy ve vzorcích buvolího mléka.

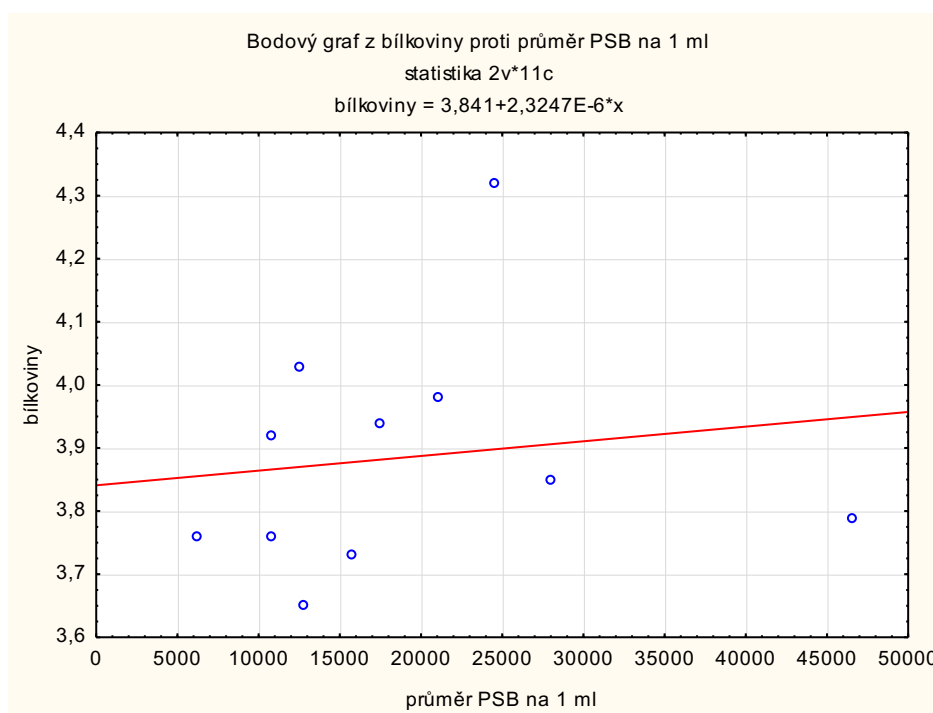
Tabulka č. 9: Výsledky z programu Statistica 12.0 pro korelační a regresní analýzu PSB a bílkovin

| N=11 | Výsledky regrese se závislou proměnnou : bílkoviny (statistika) R= ,14083723 R2= ,01983512 Upravené R2= ----- F(1,9)=,18213 p<,67958 Směrod. chyba odhadu : ,19363 | | | | | |
|--------------------|--|---------------|----------|--------------|----------|----------|
| | b* | Sm.chyba z b* | b | Sm.chyba z b | t(9) | p-hodn. |
| Abs.člen | | | 3,840958 | 0,117643 | 32,64918 | 0,000000 |
| průměr PSB na 1 ml | 0,140837 | 0,330011 | 0,000002 | 0,000005 | 0,42677 | 0,679577 |

Tabulka č. 10: Výsledky z programu Statistica 12.0 pro korelační a regresní analýzu PSB a bílkovin

| Statist. | Statistické shrnutí; ZP: bílkoviny (statistika) |
|------------------|--|
| | Hodnota |
| Vícenás. R | 0,140837225 |
| Vícenás. R2 | 0,0198351241 |
| Upravené R2 | -0,0890720844 |
| F(1,9) | 0,182128661 |
| p | 0,679577231 |
| Sm. chyba odhadu | 0,193633111 |

V tabulce č. 9 vyšla p hodnota 0,680, což je opět vyšší hodnota, než námi stanovená hodnota $\alpha = 0,05$. Dle tohoto výsledku lze znovu usoudit, že výsledky jsou statisticky shodné a není mezi nimi statisticky významný rozdíl. Při pohledu do tabulky č. 11 vícenásobné R dosahuje hodnoty 0,104, což značí velmi slabou závislost (-0,3 – 0 – 0,3). Lze tedy konstatovat, že PSB nemá v našem případě vliv na změnu obsahu bílkovin v mléce. Celkový PSB byl velmi nízký, tudíž nemohl nijak významně měnit obsah bílkovin v buvolím mléce. Tento výsledek získaný z programu Statistica 12.0 nám koreluje s tvrzením učiněným na základě výsledků měření průměrného obsahu bílkovin v buvolím mléce (obrázek č. 21, kde lze z odečtu grafu vyčíst, že byl obsah bílkovin stabilní i při zvýšené jedné hodnotě PSB).



Obrázek č. 25: Grafické zobrazení korelace mezi PSB a bílkovinami

Obrázek č. 25 nám opět potvrzuje, že výsledky získané v programu Statistica 12.0 a Microsoft Excel tvrdí to samé. Tedy, že v tomto výzkumu PSB neovlivňuje obsah bílkovin v buvolím mléce. Pozorované faktory spolu nekorelují.

6 Diskuze

Mléko a mléčné výrobky už od nepaměti patří mezi jeden z hlavních zdrojů bílkovin, minerálních látek, laktózy a mnoha dalších, pro nás nutričně prospěšných látek. Mléko je a bude součástí našich jídelníčků, avšak nesmíme zapomenout na stále se zvyšující populaci. Proto je vhodné zkoumat alternativní druhy mlék než jen to kravské. Buvolí mléko je složením podobné tomu kravskému, avšak vykazuje vyšší tučnost. Zároveň se musí i pamatovat na to, aby alternativní mléko, než je to kravské, splňovalo vhodné technologické vlastnosti pro výrobu dalších mléčných výrobků a bylo chuťově přijatelné pro spotřebitele. Chov buvolů je ekonomicky náročnější, jelikož výtěžnost buvolího mléka je nižší. Nejznámějším výrobkem z buvolího mléka je Mozzarella di Bufala Campana, která si svoji cestu ke svým zákazníkům stále hledá (chuťově je výraznější a někomu může vadit její koncová pachůť).

Tato práce byla napsána s cílem zjištění a propojení vlivu technologie chovu na počet somatických buněk v mléce.

6.1 Vliv počtu somatických buněk na obsah laktózy a bílkovin v mléce

Mezi jeden z primárních ukazatelů zdravotního stavu mléčné žlázy dojnice je počet somatických buněk. Ten je zároveň i důležitý jako jedno z mnoha kritérií pro jakost a hygienickou nezávadnost mléka. Vysoký počet somatických buněk snižuje výtěžnost mléka a může způsobit ekonomické ztráty, protože mléko je hůře zpracováváno a může i vykazovat jiné technologické vlastnosti. Proto je důležité, aby tento faktor byl chovatelem kontrolován a došlo tak k včasnému zabránění zvyšujícímu se počtu somatických buněk v mléce.

Pro stanovení počtu somatických buněk lze použít fluorescenční mikroskopii či průtokovou cytometrii, kde obě metody pracují na stejném principu, tedy detekci vyzářeného signálu pomocí laserů. Většina studií probíhá nejčastěji v zemích, kde buvol je primárním zdrojem mléka – Itálie, Indie, Turecko a Pákistán (Khedkar et al. 2016; Khan 2021).

Dle námi naměřených výsledků se celkový počet somatických buněk průměrně pohyboval okolo 18 750. Sice u vzorku č. 6 byl naměřen nejvyšší PSB, a to 46 500 na 1 ml vzorku mléka, nicméně tento výkyv byl pouze jediný. Lze tedy spekulovat, zda za tento výkyv měla vliv změna teplot, jiný přísun krmiva, fáze laktace či cokoli jiného, jelikož takto náhle zvýšený PSB neměl nijak výjimečný vliv na změnu obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce.

Studie Cerón-Muñoz et al. (2002) se pomocí průtokové cytometrie zabývala faktory, které ovlivňují počet somatických buněk a složení mléka. Tato studie probíhala v Brazílii ve značně delším období (1997–2000), tudíž byl pozorován vliv doby laktace na počet somatických buněk v buvolím mléce. V průměru naměřili $63\,610 \pm 185\,690$ PSB na 1 ml vzorku, přičemž celkový vývoj PSB v době laktace byl nejvyšší v časovém období, kdy dojnice dosahovaly nejvyššího denního nádoje, tudíž docházelo k častějšímu namáhání vemene a manipulaci s ním. Což i vedlo k tomu, že při zvýšeném PSB byl i nižší výtěžek mléka a docházelo tak k ekonomickým ztrátám.

Zároveň i ve studii, kterou provedli Cerón-Muñoz et al. (2002), potvrdili, že zvýšený počet somatických buněk je spojen s poklesem obsahu laktózy v mléce. Zároveň byl i zjištěn vliv fáze laktace na obsah laktózy v mléce. Jimi naměřený průměrný obsah laktózy ve vzorcích buvolího mléka byl v rozmezích od 4,96 do 5,34 %, což se shoduje s námi naměřenými výsledky, kde jsme se pohybovali v celkovém průměru okolo 5,46 %. Na tvrzení o vlivu PSB na obsah laktózy se shodl i Costa et al. (2020), kdy ve skutečnosti za pokles laktózy u dojnic se zánětem vemene můžou právě zvýšené hodnoty PSB.

Studie Sharif et al. (2007) dělala výzkum od ledna do března 2006 na PSB a laktózu, kde naměřili od 206 000 do 1 210 000 PSB na 1 ml mléka. Právě vzorek s nejvyšším PSB obsahoval i nejméně laktózy, konkrétně $2,66 \pm 0,37$ %. Což opět potvrdilo tvrzení většiny studií, že zvýšený PSB má vliv na snížení obsahu laktózy v buvolím mléce. Vzorek s nejnižším PSB obsahoval $5,10 \pm 0,09$ % laktózy, který jim i zároveň vyšel i na mastitidu negativní (California Mastitis Test). Námi naměřené výsledky ani zdaleka nedosahovaly jimi naměřených nejnižších hodnot PSB (206 000 PSB na 1 ml mléka). Právě mastitidu detekovali až u 969 000 PSB na 1 ml, kde se výrazně snížil obsah laktózy na $4,66 \pm 0,08$ %.

Studie, kterou provedl Husain et al. (2012) se podobala té, kterou provedl Sharif et al. (2007). Vzorek, který byl na mastitidu negativní obsahoval $364\,000 \pm 0,43$ PSB na 1 ml a obsah laktózy byl $5,1 \pm 0,2$ %. Sice opět byly naměřeny vyšší hodnoty PSB než u nás, ale obsah laktózy odpovídal nám zjištěnému průměru 5,46 %. Naopak nejvyšší hodnota PSB byla 6 269 000 PSB na 1 ml vzorku. U tohoto vzorku byla i testem potvrzena mastitida a obsah laktózy klesnul na $3,9 \pm 0,4$ %.

To, že zvýšený PSB má negativní vliv na obsah bílkovin v mléce potvrdila i studie Costa et al. (2020), protože byla snížena výtěžnost buvolího mléka na výrobu sýrů, jelikož kaseinová bílkovina byla potlačena právě zvýšeným PSB.

Podobně tomu bylo i u studie provedené Husain et al. (2012), kteří potvrdili vliv PSB na obsah bílkovin v buvolím mléce. Sice pokles nebyl nijak výrazný, ale i tak byl zaznamenán pokles obsahu bílkovin u mléka s mastitidou o 0,8 % oproti mléku od zdravé dojnice. U zdravého mléka, kde nebyla California Mastitis testem potvrzena mastitida, byl PSB $364\,000 \pm 0,43$ na 1 ml mléka a obsahovalo $4,8 \pm 0,2$ % bílkovin. Právě u mléka, které vykazovalo mastitidu byl i PSB markantní, tedy 6 269 000 na 1 ml vzorku. Obsah bílkovin klesnul na $4 \pm 0,3$ %.

Studie, kterou provedl Cerón-Muñoz et al. (2002), opět potvrdila tvrzení a zjištění jiných zdrojů a studií. Obsah bílkovin se snížil v závislosti vyššího PSB v buvolím mléce, ale i v závislosti na době laktace. Při počtu $63\,610 \pm 185\,690$ PSB na 1 ml vzorku klesl obsah bílkovin a pohyboval se mezi 4,05 % a 4,59 %. Zároveň i dle nich měl značný vliv na jejich obsah i fáze laktace. Nejvyšší obsah bílkovin byl zjištěn v 1. měsíci laktace (4,6 %). Nejnižší obsah proteinů naměřili v období 3. až 6. měsíce laktace, kde obsah bílkovin byl v tomto období stálý. Nárůst zaznamenali od 7. měsíce do 8. měsíce (obsah bílkovin 4,2 %) laktace.

Tripaldi et al. (2010) naměřili v průměru 314 000 PSB na 1 ml vzorku buvolího mléka. Obsah bílkovin dosahoval v celkovém průměru $4,5 \pm 0,42$ %. Lze tedy u bílkovin shrnout, že

námi naměřený průměrný obsah bílkovin (3,88 %) byl nižší než u ostatních studií, nicméně i tak nelze tvrdit, že námi zkoumaní buvolí měli nízký PSB.

6.2 Možné další vlivy na změnu obsahu laktózy a bílkovin v buvolím mléce

Fáze laktace může být jedním z faktorů, která může ovlivnit procentuální složení mléka, Právě na farmě Ohař, odkud byly vzorky získávány, měli buvolí na podzim 2021 možnost volného pobytu na pastvě s přidavkem sena. V zimním období 2022 byli krmeni slámou a jádrem. Mezi další vlivy, které mohou měnit složení obsahu jednotlivých komponent, patří teplota, roční období nebo složení krmiva.

Studie, kterou provedl Yadav et al. (2013) zjišťovala možnosti vnějších i vnitřních vlivů na změny obsahu bílkovin, laktózy, tuku a denního nádoje. Vliv fáze laktace na dojivost, mléčný tuk a obsah laktózy byl významný. Mléčná bílkovina se ve fázích laktace významně nelišila. Laktóza se významně zvyšovala do 6. měsíce laktace, ale poté již nebyla změna obsahu mléčné laktózy nikterak významná. Dojivost významně poklesla v pozdní fázi laktace s významným současným zvýšením mléčného tuku. Nejméně variabilními složkami mléka zůstal obsah mléčné bílkoviny a laktózy. Studie odhalila, že trend kolísání dojivosti a hlavních složek mléka během celé laktace u buvolů byl srovnatelný s krávy. Úroveň mléčné užitkovosti u buvolů klesla o 9 % během horkých a vlhkých měsíců v důsledku letního stresu a zvýšila se o 10,6 % během zimy při této studii. Během zimy se snížila hladina mléčného tuku a výrazně vzrostl obsah bílkovin. Sledování těchto změn nebylo bohužel nějak u vzorků z české buvolí farmy možné, jelikož vzorky byly odebírány pouze 4 měsíce.

Například studie, kterou provedli Di Francia et al. (2007), zjistila, že přidavek hrachu setého do krmné dávky neměl žádný vliv na obsah bílkovin, laktózy, tuku, denního nádoje a ani na počet somatických buněk. Výsledky byly tedy totožné jak u zkoumané skupiny, která jedla zrna hrachu, tak i u kontrolní skupiny, která jedla sójový dort. Skupina, co konzumovala sóju naměřili 4,59 % bílkovin a 4,9 % laktózy. Druhá skupina, co dostávala přidavek hrachu, obsahovala 4,49 % bílkovin a stejně, jako tomu bylo u sóji, 4,9 % laktózy.

Tripaldi et al. (2003) navrhuje, že by měl být stanoven limit i pro PSB u buvolího mléka. To, že vyšší PSB v mléce negativně ovlivňuje některé mléčné složky a vlastnosti mléka při výrobě sýrů, je nám již známo. Doporučují, že lepších výsledků a vyšší výtěžnosti buvolího mléka se dosahuje, pokud počet nepřekročí 200 000 somatických buněk na 1 ml mléka. Pro kravské mléko je legislativně stanoven limit 400 000 PSB na 1 ml mléka. Díky tomu, že jsou požadované hodnoty PSB kravského mléka takto upraveny, mohou mít laboratoře a výrobci lepší přehled o zdravotním stavu dojníc. Vzhledem k tomu, že tato legislativa pro buvolí mléko zatím chybí, přicházejí tím chovatelé buvolů a výrobci produktů z buvolího mléka o možnost využití kontroly kvality buvolího mléka a zdravotního stavu buvolů.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo stanovit počty somatických buněk v buvolím mléce a vliv technologie chovu na PSB z buvolí farmy Ohař. Hypotéza zněla, že v chovech buvolů je nižší výskyt mastitid a tím pádem i počty somatických buněk jsou v limitech společně s celkovou hygienickou jakostí mléka, než je tomu u mléka kravského. Během této práce bylo odebráno a následně v laboratoři proměřeno celkově 11 vzorků buvolího mléka.

Celková analýza počtu somatických buněk probíhala na přístroji LACTOSCAN SCC a složení mléka se zaměřením na laktózu a bílkoviny, bylo prováděno na přístroji MilkoScan FT 120.

Celkový počet somatických buněk v buvolím mléce je nízký, tudíž je i vhodné pro technologické zpracování mléka na výrobu jogurtů, sýrů, tvarohů či zákysů, jako je tomu u mléka kravského. Je ovšem zapotřebí si ale uvědomit, že sice buvolí mléko má vyšší výtěžnost než mléko kravské, nicméně buvol má nižší denní nádoj mléka. Proto jeho chov patří mezi ekonomicky náročnější. Je to tedy i jeden z faktorů, proč je v České republice pouze jedna jediná buvolí farma.

Ze statistického šetření lze zjistit, že výsledky z programu Statistica 12.0, Microsoft Excel a jimi i následně vygenerovaných grafů se shodují. Buvolí mléko nevykazovalo vysoké hodnoty PSB, tudíž nebyl zjištěn jejich vliv na změnu složení mléka. Obsah laktózy a bílkovin nevykazoval změny ani při jedné náhle zvýšené hodnotě PSB, která se při dalším odběru vzorků vrátila ke svému průměru.

Vzhledem ke slabým změnám obsahu laktózy a bílkovin ve stejných odběrech, kdy nejnižších hodnot dosahovaly 9.12.2021 a nejvyšších 10.2.2022, lze konstatovat, že v tyto dny PSB odpovídal celkovému průměru a nemusel je nijak ovlivnit. Je tedy možné, že za tento náhlý výkyv může buď změna krmiva či změna denních teplot.

Bylo by tedy zajímavé pozorovat vývin PSB v průběhu celého roku v závislosti na denní teplotě, typu krmiva či fázi laktace. Právě teplota patří mezi jeden z možných hlavních vlivů na PSB, protože vyšší teploty jsou pro rozvoj mastitid a bakterií optimální a zároveň i laktóza je teplotně variabilní.

8 Literatura

Abd El-Razik KAEL-H, Arafa AA, Fouad EA, Younes AM, Almuzaini AM, Abdou AM. 2021. Isolation, identification and virulence determinants of *Streptococcus agalactiae* from bovine subclinical mastitis in Egypt. *The Journal of Infection in Developing Countries* **15**:1133-1138. Available at <https://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/12668> (accessed September 16, 2021).

AGRO – partner. 2016. Robot ohlídá zdraví vašich dojnic. *Zemědělec* **35**:18-18.

Akers RM, Nickerson SC. 2011. Mastitis and its Impact on Structure and Function in the Ruminant Mammary Gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **16**:275-289. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10911-011-9231-3> (accessed September 8, 2021).

Algharib SA, Dawood A, Xie S. 2020. Nanoparticles for treatment of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Drug Delivery* **27**:292-308. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10717544.2020.1724209> (accessed September 16, 2021).

Alhussien MN, Dang AK. 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary World* **11**:562-577. Available at <http://www.veterinaryworld.org/Vol.11/May-2018/1.html> (accessed September 8, 2021).

Barth A. 2007. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1767**:1073-1101. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005272807001375> (accessed February 17, 2022).

Blum SE, Heller ED, Leitner G. 2014. Long term effects of *Escherichia coli* mastitis. *The Veterinary Journal* **201**:72-77. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023314001543> (accessed September 16, 2021).

Bobbo T, Cipolat-Gotet C, Bittante G, Cecchinato A. 2016. The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield, and curd nutrient recovery. *Journal of Dairy Science* **99**:5104-5119. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216302491> (accessed September 15, 2021).

Cerón-Muñoz M, Tonhati H, Duarte J, Oliveira J, Muñoz-Berrocal M, Jurado-Gámez H. 2002. Factors Affecting Somatic Cell Counts and Their Relations with Milk and Milk Constituent Yield in Buffaloes. *Journal of Dairy Science* **85**:2885-2889. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030202743762> (accessed March 22, 2022).

Costa A, Neglia G, Campanile G, De Marchi M. 2020. Milk somatic cell count and its relationship with milk yield and quality traits in Italian water buffaloes. *Journal of Dairy Science* **103**:5485-5494. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030220302356> (accessed May 28, 2021).

Couperus AM, Schroeder F, Klukas R, Huber J, Wittek T, Peham JR. 2021. Influence of Different Lactation Stages on Circadian Rhythmicity of Metabolic Biomarkers in Dairy Cows: A Pilot Study. *Animals* **11**. Available at <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/4/1043> (accessed November 2, 2021).

DeVries TJ, Aarnoudse MG, Barkema HW, Leslie KE, von Keyserlingk MAG. 2012. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *Journal of Dairy Science* **95**:5730-5739. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212005735> (accessed September 20, 2021).

Di Francia A, De Rosa G, Masucci F, Romano R, Borriello I, Grassi C. 2007. Effect of *Pisum sativum* as protein supplement on buffalo milk production. *Italian Journal of Animal Science* **6**:472-475. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4081/ijas.2007.s2.472?needAccess=true> (accessed March 24, 2022).

Doerfler RL, Petzl W, Rieger A, Bernhardt H. 2018. Impact of robot scrapers on clinical mastitis and somatic cell count in lactating cows. *Journal of Applied Animal Research* **46**:467-470. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2017.1336442> (accessed September 20, 2021).

Dutta P et al. 2020. Whole genome analysis of water buffalo and global cattle breeds highlights convergent signatures of domestication. *Nature Communications* **11**:1-13. Available at <http://www.nature.com/articles/s41467-020-18550-1> (accessed September 6, 2021).

Fucá N, Impoco G, Licitra G. 2013. Milk fat globules' microstructure. 1-14 in *Milk fat: composition, nutritional value and health implication*. 1st edition. Novinka, New York.

Georgiev IP. 2008. Differences in chemical composition between cow colostrum and milk. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* **11**:3-12.

Gutiérrez-Méndez N. 2020. Introductory Chapter: Lactose. in *Lactose and Lactose Derivatives*. IntechOpen. Available at <https://www.intechopen.com/books/lactose-and-lactose-derivatives/introductory-chapter-lactose> (accessed September 14, 2021).

Han Y, Gu Y, Zhang AC, Lo Y-H. 2016. Review: imaging technologies for flow cytometry. *Lab on a Chip* **16**:4639-4647. Available at <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6LC01063F> (accessed February 2, 2022).

Hanuš O, Hronek M, Hyšpler R, Yong T, Tichá A, Fikrová P, Hanušová K, Sojková K, Kopecký J, Jedelská R. 2014. Relationship between somatic cell count and lactose content in milk of various species of mammals. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* **58**:87-100. Available at <http://acta.mendelu.cz/doi/10.11118/actaun201058020087.html> (accessed February 2, 2022).

Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease* **6**:1-16. Available at <http://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-511X-6-25> (accessed September 8, 2021).

Hussain R, Javed MT, Khan A. 2012. Changes in Some Biochemical Parameters and Somatic Cell Counts in the Milk of Buffalo and Cattle Suffering from Mastitis. *Pakistan Veterinary Journal* **32**:418-421. Available at http://www.pvj.com.pk/pdf-files/32_3/418-421.pdf (accessed March 24, 2022).

Jiang J, Li X, Mao F, Wu X, Chen Y. 2021. Small molecular fluorescence dyes for immuno cell analysis. *Analytical Biochemistry* **614**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269720305959> (accessed March 4, 2022).

Kadlec P, Melzoch K, Voldřich M. 2009. Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin. Key Publishing, Ostrava.

Keefe G. 2012. Update on Control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for Management of Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **28**:203-216. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749072012000278> (accessed February 28, 2022).

Khan MS. 2021. Water Buffalo. in Reference Module in Food Science. Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012818766100235X> (accessed September 6, 2021).

Khedkar CD, Kalyankar SD, Deosarkar SS. 2016. Buffalo Milk. 522-528 in Encyclopedia of Food and Health. Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123849472000933> (accessed September 7, 2021).

Klimešová M, Skřivánek M, Hanuš O, Nejeschlebová L. 2019. Streptokoková mastitida a počet somatických buněk. *Mlékařské listy* **30**:1-5. Available at http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2019/veda_173_1_s.1-5.pdf.

Lambertz C, Sanker C, Gauly M. 2014. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science* **97**:319-329. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213007832> (accessed November 23, 2021).

LeJeune J T, Rajala-Schultz P J. 2009. Unpasteurized Milk: A Continued Public Health Threat. *Clinical Infectious Diseases* **48**:93-100. Available at <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/595007> (accessed September 8, 2021).

Lower SK, Yongsunthon R, Casillas-Ituarte NN, Taylor ES, DiBartola AC, Lower BH, Beveridge TJ, Buck AW, Fowler VG. 2010. A Tactile Response in *Staphylococcus aureus*. *Biophysical Journal* **99**:2803-2811. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006349510010593> (accessed September 16, 2021).

- Luo J, Wang ZW, Wang F, Zhang H, Lu J, Guo HY, Ren FZ. 2014. Cryo-SEM images of native milk fat globule indicate small casein micelles are constituents of the membrane. *RSC Adv* **4**:48963-48966. Available at <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA06171C> (accessed April 2, 2022).
- Malviya R, Bansal V, Pal OP, Sharma PK. 2010. High performance liquid chromatography: A short review. *Journal of Global Pharma Technology* **2**:22-26.
- Marai IFM, Haebe AAM. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress — A review. *Livestock Science* **127**:89-109. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141309002777> (accessed September 8, 2021).
- Miciński J, Kowalski IM, Zwierzchowski G, Szarek J, Pierożyński B, Zabłocka E. 2013. Characteristics of cow's milk proteins including allergenic properties and methods for its reduction. *Polish Annals of Medicine* **20**:69-76. Available at <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1230801313000155> (accessed September 13, 2021).
- Miciński J, Kowalski I, Szarek J, Zwierzchowski G. 2012. Health-promoting properties of selected milk components. *Journal of Elementology*. Available at <http://jsite.uwm.edu.pl/articles/view/379/> (accessed September 13, 2021).
- Moradi M, Omer AK, Razavi R, Valipour S, Guimarães JT. 2021. The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: A review. *International Dairy Journal* **113**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694620302545> (accessed September 13, 2021).
- Moroni P, Sgoifo Rossi C, Pisoni G, Bronzo V, Castiglioni B, Boettcher PJ. 2006. Relationships Between Somatic Cell Count and Intramammary Infection in Buffaloes. *Journal of Dairy Science* **89**:998-1003. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721658> (accessed May 28, 2021).
- Muselík J. 2012. Aplikace blízké infračervené spektroskopie ve farmaceutické analýze. *Chem Listy* 2012; 106, 10–15.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, In.: Úřední věstník Evropské unie L 139 ze dne 30. 4. 2004. Lucemburk: Úřad pro úřední tisky Evropských společenství, 2004-. S. 55. ISSN 1725-5163.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0853-20141117&from=HU>

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 ze dne 11. prosince 2018 o veterinárních léčivých přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES; <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0006&from=EN>

Navrátil L, Rosina J. 2019. Medicínská biofyzika. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Grada Publishing, Praha.

Navrátilová P. 2012. Hygiena produkce mléka. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno.

Ndahetuye JB, Twambazimana J, Nyman A-K, Karege C, Tukei M, Ongol MP, Persson Y, Båge R. 2020. A cross sectional study of prevalence and risk factors associated with subclinical mastitis and intramammary infections, in dairy herds linked to milk collection centers in Rwanda. Preventive Veterinary Medicine **179**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587719304453> (accessed September 13, 2021).

Novak P, Vokralova J, Broucek J. 2009. Effects of the stage and number of lactation on milk yield of dairy cows kept in open barn during high temperatures in summer months. Archives Animal Breeding **52**:574-586. Available at <https://aab.copernicus.org/articles/52/574/2009/> (accessed November 23, 2021).

Patel AH, Sharma HP, Khede K. 2021. Milk Proteins: An Overview. Food and Agriculture Spectrum Journal **2**:1-4.

Peeler EJ, Green MJ, Fitzpatrick JL, Morgan KL, Green LE. 2000. Risk Factors Associated with Clinical Mastitis in Low Somatic Cell Count British Dairy Herds. Journal of Dairy Science **83**:2464-2472. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200751381> (accessed September 20, 2021).

Piwczyński D, Sitkowska B, Ptak E. 2021. Genetic relationship among somatic cell score and some milking traits in Holstein-Friesian primiparous cows milked by an automated milking system. *Animal* **15**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751731120300963> (accessed February 27, 2022).

Puggioni GMG, Tedde V, Uzzau S, Guccione J, Ciaramella P, Pollera C, Moroni P, Bronzo V, Addis MF. 2020. Evaluation of a bovine cathelicidin ELISA for detecting mastitis in the dairy buffalo: Comparison with milk somatic cell count and bacteriological culture. *Research in Veterinary Science* **128**:129-134. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528819307684> (accessed February 27, 2022).

Rakib MRH, Zhou M, Xu S, Liu Y, Asfandyar Khan M, Han B, Gao J. 2020. Effect of heat stress on udder health of dairy cows. *Journal of Dairy Research* **87**:315-321. Available at https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022029920000886/type/journal_article (accessed February 3, 2022).

Ruegg P. 2010. Mastitis control hinges on dry and fresh cow care. *Hoard's Dairyman*, Fort Atkinson. Available at <https://hoards.com/article-346-mastitis-control-hinges-on-dry-and-fresh-cow-care.html> (accessed November 2, 2021).

Růžek L, Voříšek K, Popelářová E, Rada V, Vlková E, Růžková M. 2015. *Mikrobiologie: pracovní sešit. Desáté přepracované vydání. Česká zemědělská univerzita, katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, V Praze.*

Sanderson MJ, Smith I, Parker I, Bootman MD. 2014. *Fluorescence Microscopy. Cold Spring Harbor Protocols* **2014**. Available at <http://www.cshprotocols.org/lookup/doi/10.1101/pdb.top071795> (accessed February 17, 2022).

Sharif A, Ahmad T, Bilal MQ, Yousaf A, Muhammad G. 2007. Effect of severity of sub-clinical mastitis on somatic cell count and lactose contents of buffalo milk. *Pakistan Veterinary Journal* **27**:142-144. Available at http://pvj.com.pk/pdf-files/27_3/page%20142-144.pdf (accessed March 24, 2022).

Soukup A. (2004). *Fluorescenční mikroskopie* [online]. In: Soukup, A. *Botanická mikrotechnika*. Praha: Karlova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, ©Aleš Soukup 2004 [cit. 18.12.2018]. dostupné na [www: http://kfrserver.natur.cuni.cz/studium/prednasky/mikro/mscope/fluor/fluor.htm](http://kfrserver.natur.cuni.cz/studium/prednasky/mikro/mscope/fluor/fluor.htm)

Spina AA, Ceniti C, Trimboli F, Britti D, Lopreiato V. 2021. Suitability of Protein Content Measured by MilkoScan FT-Plus Milk Analyzer to Evaluate Bovine and Ovine Colostrum Quality. *Animals* **11**. Available at <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/9/2587> (accessed February 2, 2022).

Stupka R. 2013. Chov zvířat. 2. vyd. Powerprint, Praha.

Šustová K. 2015. Mlékárenské technologie: (návody do cvičení). Mendelova univerzita v Brně, Brno.

Šustová K, Kuchtík J, Kalhotka L. 2016. Vliv zvýšeného počtu somatických buněk na kvalitu mléka. *Mlékařské listy* **27**:13-16. Available at http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2016/154-155/veda_154_1316.pdf.

Tripaldi S, Terramoccia C, Bartocci S, Angelucci M, Danese V. 2003. The Effects of the Somatic Cell Count on Yield, Composition and Coagulating Properties of Mediterranean Buffalo Milk. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **16**:738-742. Available at https://www.animbiosci.org/upload/pdf/16_111.pdf (accessed March 24, 2022).

Tripaldi C, Palocci G, Miarelli M, Catta M, Orlandini S, Amatiste S, Di Bernardini R, Catillo G. 2010. Effects of Mastitis on Buffalo Milk Quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **23**:1319-1324. Available at <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201018861578131.pdf> (accessed March 24, 2022).

Tomar AKS, Pandey HO. 2009. Effect of seasonal variation in buffalo breeding. *Indian Farming* **59**:23-25.

Turk R et al. 2021. Milk and serum proteomes in subclinical and clinical mastitis in Simmental cows. *Journal of Proteomics* **244**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1874391921001767> (accessed September 13, 2021).

Valeur B, Santos MB e. 2013. Molecular fluorescence: principles and applications. 2nd ed. Wiley-VCH, Weinheim.

Vieira RKR, Rodrigues M, Santos PKS, Medeiros NBC, Cândido EP, Nunes-Rodrigues MD. 2021. The effects of implementing management practices on somatic cell count levels in bovine milk. *Animal* **15**:1-6. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751731121000070> (accessed May 28, 2021).

Votrubová O. 2010. *Anatomie rostlin. 3., přeprac. vyd.* Karolinum, Praha.

Working method of LACTOSCAN SCC. 2020. Available at <https://autocellcount.com/page/method-scc> (accessed February 3, 2022).

Xiao Y, Chen Q, Guang C, Zhang W, Mu W. 2019. An overview on biological production of functional lactose derivatives. *Applied Microbiology and Biotechnology* **103**:3683-3691. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s00253-019-09755-6> (accessed September 14, 2021).

Yadav SP, Sikka P, Kumar D, Sarkar S, Pandey AK, Yadav PS, Sethi RK. 2013. Variation in milk constituents during different parity and seasons in Murrah buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences* **83**:747-751.

zootechnika.cz. 2022. Mastitidy - choroby přežvýkavců. Available at <https://www.zootechnika.cz/clanky/zaklady-chovatelstvi/zoohygiena-a-choroby-hospodarskych-zvirat/choroby-prezvykavcu/mastitidy.html> (accessed April 2, 2022).

http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1685&typ=html

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

CPM – celkový počet mikroorganismů

FIR – vzdálená infračervená oblast

FTIR – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Ig – imunoglobulin

KTJ – kolonie tvořící jednotku

MIR – střední infračervená oblast

NEB – negativní energetická bilance

NIR – blízká infračervená oblast

PSB – počet somatických buněk

RIL – rezidua inhibičních látek

SD – směrodatná odchylka

10 Seznam zdrojů obrázků

Obrázek č. 1: Buvol domácí <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id163418/>

Obrázek č. 2: Buvolí farma ve švýcarském Schangnau v oblasti Emmenthal zaměřující se překvapivě na mozzarella

<https://www.nytimes.com/2006/06/12/world/europe/12swiss.html>

Obrázek č. 3: Mléčná žláza <https://docplayer.cz/amp/3780414-Lidstvo-mleko-ziskava-a-vyuziva-od-skotu-koz-ovci-buvolu-jaku-velbloudu-lam-zebu-sobu-koni.html>

Obrázek č. 6: Silně zanícené vemeno mastitidou

<https://www.osel.cz/1210-transgenni-kravy-odolne-proti-mastitide.html>

Obrázek č. 7: *Staphylococcus aureus*

<https://www.biomerieux-industry.com/pharma-healthcare/resources/pharma-microorganisms-library/2020-03-02-prevention-and-control>

Obrázek č. 8: *Streptococcus agalactiae*

<https://thenativeantigencompany.com/products/streptococcus-agalactiae-cells-heat-inactivated/>

Obrázek č. 9: *Escherichia coli*

<https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/journal/bakterien-als-co2-fresser-forscher-zwingen-e-coli-zur-u-11126>

Obrázek č. 10: Robotická škrabka ve spojení lamelového povrchu

<https://cookstowndairyservices.com/wp-content/uploads/2019/01/JOZ-1.jpg>

Obrázek č. 11: Průtoková cytometrie <https://infekce.lf1.cuni.cz/flowcyt1.htm>

Obrázek č. 12: LACTOSCAN SCC <https://autocellcount.com/shop/somatic-cell-count>

Obrázek č. 13: Princip emisních a excitačních filtrů

<http://kfrserver.natur.cuni.cz/studium/prednasky/mikro/mscope/fluor/fluor.htm>

Obrázek č. 14: Princip fluorescenční obrazové cytometrie

<https://autocellcount.com/shop/somatic-cell-count>

Obrázek č. 15: MilcoScan FT 120

<http://blankingdesign.com/design/science-medical-products/foss-milkoscan-ft120/>

Obrázek č. 16: Elektromagnetické záření

<https://labguide.cz/fluorochromy/elektromagneticke-spektrum/>

Obrázek č. 17: Infračervený spektroskop

<https://www.vscht.cz/files/uzel/0005766/Infračervená+spektrometrie.pdf?redirected>

Obrázek č. 18: Lactochip 4R

https://lactoscan.com/editor/ufo/manuals/SCC/IM_SCC_EN.pdf

Obrázek č. 19: Zkumavka s barvivem SOFIA GREEN

<https://autocellcount.com/page/safe-fluorescence-cyanine-dye>

12 Samostatné přílohy

Příloha č. 1: PSB v jednotlivých vzorcích buvolího mléka

| Číslo vzorku | Počet somatických buněk na 1 ml |
|---------------------|--|
| 1A | 3000 |
| 1B | 8000 |
| 1C | 5000 |
| 1D | 9000 |
| 2A | 17000 |
| 2B | 20000 |
| 2C | 14000 |
| 2D | 12000 |
| 3A | 10000 |
| 3B | 2000 |
| 3C | 17000 |
| 3D | 14000 |
| 4A | 10000 |
| 4B | 14000 |
| 4C | 15000 |
| 4D | 12000 |
| 5A | 37000 |
| 5B | 35000 |
| 5C | 19000 |
| 5D | 21000 |
| 6A | 23000 |
| 6B | 56000 |
| 6C | 56000 |
| 6D | 51000 |
| 7A | 18000 |
| 7B | 21000 |
| 7C | 13000 |
| 7D | 18000 |
| 8A | 11000 |
| 8B | 9000 |
| 8C | 15000 |
| 8D | 8000 |

| | |
|-----|-------|
| 9A | 34000 |
| 9B | 28000 |
| 9C | 14000 |
| 9D | 22000 |
| 10A | 12000 |
| 10B | 16000 |
| 10C | 23000 |
| 10D | 33000 |
| 11A | 12000 |
| 11B | 9000 |
| 11C | 10000 |
| 11D | 19000 |

Příloha č. 2: Průměrný obsah laktózy [%] ve vzorcích buvolího mléka

| vzorek | průměr laktóza [%] | SD |
|-----------------------|--------------------|-------|
| 1 | 5,25 | 0,014 |
| 2 | 5,46 | 0,021 |
| 3 | 5,57 | 0,000 |
| 4 | 5,24 | 0,000 |
| 5 | 5,36 | 0,014 |
| 6 | 5,32 | 0,007 |
| 7 | 5,50 | 0,014 |
| 8 | 5,42 | 0,007 |
| 9 | 6,15 | 0,021 |
| 10 | 5,43 | 0,014 |
| 11 | 5,38 | 0,000 |
| Celkový průměr | 5,46 | |

Příloha č. 3: Průměrný obsah bílkovin [%] ve vzorcích buvolího mléka

| vzorek | průměr bílkoviny [%] | SD |
|-----------------------|-----------------------------|-----------|
| 1 | 3,76 | 0,007 |
| 2 | 3,73 | 0,007 |
| 3 | 3,76 | 0,014 |
| 4 | 3,65 | 0,014 |
| 5 | 3,85 | 0,000 |
| 6 | 3,79 | 0,007 |
| 7 | 3,94 | 0,007 |
| 8 | 3,92 | 0,000 |
| 9 | 4,32 | 0,007 |
| 10 | 3,98 | 0,000 |
| 11 | 4,03 | 0,007 |
| Celkový průměr | 3,88 | |