

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin (FAPPZ)**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce  
přežvýkavců**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Jakub Gajdoš**

**Program studia:**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Vedoucí práce:**

**Ing. Veronika Legarová, Ph.D.**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce přežvýkavců“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne datum odevzdání

\_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád(a) bych touto cestou poděkoval Ing. Veronice Legarové, Ph.D. za odborné vedení v průběhu psaní této bakalářské práce.

# Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce přežvýkavců

## Souhrn

Tato práce má za úkol poukázat na změny mléčných složek, které byly způsobeny zvýšeným množstvím somatických buněk (SB) v mléce. Somatické buňky v mléce jsou buňky, které pochází především z epitelu mléčné žlázy a krve. Jejich zvýšená hodnota v mléce tedy indikuje poškození či opotřebení vnitřní tkáně vemene přežvýkavců, a proto jsou důležitým hygienickým parametrem při zpeněžování mléka. Existuje mnoho faktorů, které ovlivňují zvyšování počtu somatických buněk (PSB). Mezi neinfekční faktory patří především: stáří dojnic; stádium laktace, kde nejvyšší hodnoty PSB byly naměřeny krátce po otelení, poté se PSB snižoval a následně opět stoupal až do konce laktace; větší míra stresu a namáhání struků vemene u vysoko-produkčních dojnic a v neposlední řadě je důležitým faktorem roční období, jelikož některé extrémní teploty během zimy a léta mohou vyvolat zvýšený stres u zvířat, což může dále zhoršit jejich imunitu a příjem krmiv. Za nejvýznamnější faktor, který ovlivňuje zvýšené PSB v mléce přežvýkavců je považována mastitida, což je zánět mléčné žlázy, který způsobuje celosvětové ekonomické ztráty v mlékárenském průmyslu v řádu miliard korun českých ročně. Jde především o napadení mléčné žlázy patogeny z vnějšího prostředí chovu. Při zvyšování počtu somatických buněk dochází ke zvýšené aktivitě imunitního systému včetně různých enzymatických lipáz a proteáz, jež rozkládají složky mléčné sušiny, jako jsou mléčné bílkoviny či tuky, které jsou velmi důležité pro kvalitu výsledného mléka a mléčných produktů. Mastitidu lze nejčastěji klasifikovat na několik typů, konkrétně na klinickou, subklinickou a chronickou. Nejčastějším typem mastitidy u dojených přežvýkavců je subklinický průběh, kde nejsou na první pohled patrné žádné změny vemene a mléka, nicméně je zjiitelná díky snížené produkci mléka a zvýšenému PSB. Mastitidu způsobuje hned několik druhů patogenů. Ty dělíme na nakažlivé a enviromentální. Mezi nejdůležitější z patogenů nacházejících se ve vemeni (nakažlivé patogeny) se řadí: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*. Mezi nejvýznamnější patogeny pocházejících z prostředí patří *Streptococcus uberis* či *Streptococcus dysgalactiae* a koliformní bakterie, jako jsou *Escherichia coli* a *Klebsiella*. Bylo zjištěno, že každé zvíře má jinou tělesnou stavbu a je různým způsobem ovlivňováno patogeny. U koz a ovcí se díky jejich apokrinní sekreci mléka pohybuje množství somatických buněk v řádu 1 500 000-3 000 000 v 1 mL. Buvoli jsou odolnější vůči účinkům působení patogenů, nicméně míra výskytu mastitidy je u nich podobná jako u krav. Práce by tedy měla sumarizovat důvody, proč je důležité hlídat hodnoty PSB u dojených přežvýkavců a také by měla upozornit na důležitost kvalitních hygienických podmínek chovů a s tím související správnou techniku dojení.

**Klíčová slova:** mléko, somatické buňky, kvalita, technologie

# Factors influencing the number of somatic cells in the milk ruminants

## Summary

The aim of this work is to point out the changes in milk components that were caused by the increased amount of somatic cells (SC) in milk. The somatic cells in milk are cells that come from the epithelium of the mammary gland and blood. Their increased value in milk therefore shows damage to the internal tissue of the udder of ruminants. That's why they are an important hygienic indicator in the monetization of milk. There are many factors influencing the increasing somatic cell count (SCC). Noninfectious factors include in particular: the age of dairy cows; the lactation stage, where the highest SCC values were measured shortly after calving, then SCC values decreased and rose again until the end of lactation; greater stress and strain on the udder teat in high-yielding dairy cows and, last but not least, the season is an important factor, as some extreme temperatures during the winter and summer can cause increased stress in animals, which can further impair their immunity and their feeding habits. Mastitis is considered to be the most important factor that affects increased SCC in milk.

It is an inflammation of the mammary gland, which causes global economic losses in the dairy industry starting from a billion Czech crowns a year. The glands are attacked by pathogens in an outer breeding environment. As the number of somatic cells increases, the immune system starts to show more activity in the form of enzymatic lipases and proteinases, further decomposing dry matter of milk, such as caseins and fats. These components are very important for the quality of milk and dairy products. Mastitis can be often classified into several types: clinical, subclinical and chronic. The most common type of mastitis in milked ruminants is the subclinical case, where there are no obvious changes in udder and milk at first glance, but it is detectable due to reduced milk production and increased SCC. Mastitis is caused by several types of pathogens. We divide them into contagious and environmental. Among the most important pathogens found in the udder are: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*. The most important environmental pathogens include: *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* and coliform bacteria such as *Escherichia coli* and *Klebsiella*. It was found that each animal has a different body structure and is affected differently by pathogens. In goats and sheep, due to their apocrine type of milk secretion the value of somatic cells ranges from 1,500,000 to 3,000,000 in 1 milliliter of milk. Buffaloes are more resistant to the effects of pathogens, however, the incidence of mastitis is similar to that of cows. This work should draw attention to the importance of quality hygienic conditions of breeding and the related proper milking technique.

**Keywords:** milk, somatic cells, quality, technology

# Obsah

1. Úvod .....	7
2. Cíl práce .....	9
3. Literární rešerše .....	10
<b>3.1. Složení mléka .....</b>	<b>10</b>
3.1.1. Mléčný tuk .....	10
3.1.1.1. Struktura tuků v mléce .....	11
3.1.2. Mléčné bílkoviny .....	12
3.1.3. Laktóza .....	12
3.1.3.1. Metabolismus a trávení laktózy .....	13
3.1.4. Minerální látky .....	13
3.1.5. Somatické buňky .....	13
<b>3.2. Porovnání vlastností mléka různých druhů přežvýkavců oproti mléku kravskému.</b>	<b>14</b>
3.2.1. Vlastnosti kozího mléka .....	16
3.2.2. Vlastnosti ovčího mléka .....	17
3.2.3. Vlastnosti buvolího mléka .....	18
<b>3.3. Vodní buvoli (<i>Bubalus bubalis</i>) .....</b>	<b>20</b>
3.3.1. Vývoj a taxonomické zařazení buvolů .....	20
3.3.2. Význam vodních buvolů ostatním přežvýkavcům .....	21
3.3.3. Odolnost buvolů oproti ostatním přežvýkavcům .....	22
<b>3.4. Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce přežvýkavců .....</b>	<b>22</b>
3.4.1. Mastitida .....	22
3.4.1.1. Typy mastitidy .....	23
3.4.1.2. Patogeneze mastitidy .....	24
3.4.1.3. Patogeny mastitidy .....	25
3.4.1.4. Důsledky mastitidy týkající se krav .....	26
3.4.1.5. Náklady na mastitidu u krav .....	27
3.4.1.6. Důsledky mastitidy týkající se buvolů .....	28
<b>3.5. Vliv somatických buněk na technologické vlastnosti mléka .....</b>	<b>29</b>
3.5.1. Syřitelnost mléka .....	29
3.5.2. Fermentabilita mléka .....	30
3.5.3. Termostabilita mléka .....	32
4. Závěr .....	35
5. Literatura .....	37

# 1 Úvod

Tato bakalářská práce se zabývá tématem, jak moc velký dopad mají zvýšené hodnoty somatických buněk v mléce přežvýkavců na kvalitu jejich mléka a následné produkty z nich vyrobené.

Termín somatické, nebo-li tělní buňky označuje buňky, které pochází z krve či epitelu mléčné žlázy a mají funkci sekundární obrany hned po zakončení strukového kanálku mléčné žlázy. Jejich hlavní funkce je tedy imunitní odpověď proti nemocem a následné opravy poškozené tkáně. Při napadení mléčné žlázy patogeny může dojít až k rozsáhlé intramamární infekci (mastitidě), což indukuje zvýšení počtu somatických buněk v mléce. Zvýšení somatických buněk tedy odkazuje na špatnou hygienu produkovaného mléka. Hodnota 200 000 somatických buněk v 1 mL mléka už může znamenat, že alespoň jedna čtvrtá vemene dojného zvířete byla pravděpodobně infikována patogeny (Alhussien & Dang 2018).

Bakteriální mastitida u přežvýkavců představuje celosvětově důležitou výzvu mlékárenského průmyslu, způsobující značné ekonomické ztráty v důsledku často subklinického průběhu (bez typických příznaků), který má za následek vytrvání patogenů ve stádě. Následně dochází k poklesu produktivity, zhoršují se kvalitativní a kvantitativní znaky v mléce a také se zhoršují organoleptické vlastnosti a uchovatelnost mléka a mléčných produktů (Restucci et al. 2019).

Každý přežvýkavec má nicméně jinou morfolonii a zvýšené hodnoty počtu somatických buněk (PSB) nemusí působit na každého z nich stejnou mírou. Například u koz a ovcí je dle Chen et al. (2010) zvýšený PSB pohybující se až v hodnotách 1500 000 buněk/1 mL mléka, což je způsobeno především rozdílným apokrinním způsobem sekrece mléka. Nebyly zpozorovány žádné problémy, které by způsobovaly, že dané mléko či výrobek z těchto zvířat není vhodný k lidské spotřebě, ba naopak, kozí a ovčí mléko výrazně nabývá na popularitě ve světě.

Co se týče velkých přežvýkavců, a to konkrétně buvolů, jejich mléko bývá podobně jako kravské mléko ovlivňováno vyšším PSB při výrazně nižších hodnotách v porovnání s malými přežvýkavci. Buvolí mléko také výrazně získalo popularitu hlavně díky jeho lepšímu nutričnímu složení v porovnání s mlékem kravským a to je velmi důležitá surovina pro mléčný průmysl v mnoha rozvojových zemích a dle Costa et al. (2020) také pro italský mléčný průmysl díky známému sýru Mozzarella di Buffala Campana. Při vyšších hodnotách PSB mléka u přežvýkavců mohou nastat výrazné komplikace při zpracování mléka na celosvětově konzumované mléčné produkty jako jsou sýry či jogurty. Je všeobecně známo, že zvýšené množství somatických buněk negativně ovlivňuje technologické vlastnosti mléka, které jsou velmi důležité pro výrobu těchto potravin.

Obecně se uvádí například delší doba koagulace bílkovin při sýření, delší doba zrání sýrů díky inhibici mléčných kultur enzymy ze somatických buněk, deformace tvaru sýrů či tvarohů, a především pozměněné typické aroma a chuti sýrů a tvarohů vyrobených z mléka s vysokým PSB (Moradi et al. 2020).

Také při tepelném ošetření mléka je potřeba, aby mléko netvořilo gelovou síť a zůstala mu jeho původní tekutá struktura. Stěžejním faktorem, který toto ovlivňuje, je pH. To vlivem zvýšeného počtu somatických buněk může díky enzymům obsažených v mléce, způsobit

zvýšenou proteolýzu a rozklad dalších důležitých složek. Následkem by byla rapidní změna pH a omezení termostability tepelně ošetřených mlék (Chramostová et al. 2003; Talukder & Manir Ahmed 2017).



## **2 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce bylo poukázat na faktory, které ovlivňují počet somatických buněk v mléce přežvýkavců (především buvolím a kravským), jakožto důležitého ukazatele kvality mléka. Dále také popsat komplikace při zpracování mléka se zvýšeným počtem somatických buněk.

## 3 Literární řešerše

### 3.1 Složení mléka

Mléko obecně představuje základní zdroj pro výživu potomků během raného postnatálního období a u jednotlivých druhů přežvýkavců se výrazně liší svým složením a vlastnostmi. Čerstvé mléko a mléčné výrobky jsou v lidské výživě cenným zdrojem bílkovin, tuků, energie a jsou důležitou součástí každodenních konzumovaných potravin (Séverin & Wenshui 2005).

Mléko obsahuje složky, jež poskytují zdraví prospěšné nutriční prvky, imunologickou ochranu a biologicky aktivní látky novorozencům i dospělým. Mléčné bílkoviny jsou hlavním zdrojem řady biologicky aktivních peptidů. Koncentráty těchto peptidů jsou potenciálně zdraví prospěšné nutraceutika pro potravinářské a farmaceutické aplikace. Například při léčbě průjmu, hypertenze, trombózy, zubních chorob, stejně jako minerální malabsorpce a imunodeficience. Syrovátkové proteiny s menší molekulovou hmotností, jako je laktoferin, laktoperoxidáza, lysozym a imunoglobuliny, jsou považovány za antimikrobiální proteiny (Gantner et al. 2015).

Mezi mnoha cennými složkami mléka hraje také důležitou roli vysoká hladina vápníku, jelikož má vápník pozitivní vliv na vývoj, sílu a hustotu kostí u dětí. Zároveň je však důležitý, co se týče prevence osteoporózy u starších lidí. U vápníku bylo také prokázáno, že má příznivý vliv při snižování absorpce cholesterolu, při kontrole tělesné hmotnosti a krevního tlaku (Park 2009).

Složení mléka je považováno za důležitý faktor pro chovatele, mlékárenský průmysl a konečného spotřebitele. Existuje několik faktorů, které jsou rozděleny na environmentální, nutriční, fyziologické a patologické, které významně přispívají k variaci mléčných složek (tuk, bílkoviny, laktóza, tukuprostá sušina (TPS) a celková sušina (S)) (Patbandha et al. 2015).

#### 3.1.1 Mléčný tuk

Hlavním znakem mléčného tuku je široké spektrum zastoupených mastných kyselin, kterých je v něm více než čtyři sta. Mléčný tuk obsahuje v průměru dvě třetiny nasycených a třetinu nenasycených mastných kyselin, jež působí příznivě na cévní systém. Z nasycených mastných kyselin je v mléčném tuku asi 12 % mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým uhlíkatým řetězcem (např. kyselina máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová, laurová) a asi 55 % mastných kyselin s dlouhým řetězcem (myristová, palmitová, stearová). Z nenasycených mastných kyselin je v mléčném tuku zastoupena většina mononenasycených mastných kyselin, zejména kyselina olejová, ale také 2–6 % polynenasycených mastných kyselin, které jsou pro člověka esenciální. Mezi ně patří také omega 3 a omega 6 mastné kyseliny, které jsou v mléce zastoupeny v optimální fyziologické rovnováze a mají preventivní účinky proti onemocnění srdce a různým zánětům. Mléčný tuk obsahuje také kolem 0,5 % konjugované kyseliny linolové (CLA), u které byly již dříve v klinických studiích prokázány potenciální přínosy pro zdraví. Mezi nenasycené mastné kyseliny patří rovněž některé transmastné kyseliny, které

se přirozeně vyskytující v mléce a vznikají v bachoru přežvýkavců. V mléčném tuku jich je 1–8 %. Plnotučné mléko obsahuje jen asi 0,3 g těchto kyselin na 100 ml. Tyto transmastné kyseliny z mléka však nemají na naše zdraví žádný negativní dopad. Někdy je mléčný tuk spojován také s obávaným cholesterolem, jehož obsah kolísá mezi 0,010 a 0,015 %, což představuje asi 100–150 mg v 1 litru plnotučného mléka. Cholesterol je základní součástí buněčných membrán a prekurzorem hormonů, je tudíž pro život nezbytný. Při běžné vyvážené a přiměřené stravě představuje průměrný příjem cholesterolu z mléčných výrobků méně než čtvrtinu z celkové doporučené denní spotřeby. Při bilancování složení mléčného tuku je potřeba si také uvědomit, že obsah mléčného tuku v mléčném výrobku tvoří jen malou část z celkového složení výrobku (v případě mléka a jogurtů to je 0–4 %, u sýrů 0–35 %, ve smetaně přibližně 10–45 %) (Kopáček 2014).

### **3.1.1.1 Struktura mléčného tuku**

Tuk je v mléce rozptýlen ve formě kapének nazývaných kuličky či globule mléčného tuku (milk fat globule (MFG)), jejichž distribuce velikosti se může mezi jednotlivými druhy mléka lišit. Michalski et al. (2002) dále uvádí, že velikost průměru tukové kuličky se pohybuje v rozmezí 0,1 až 15  $\mu\text{m}$ .

Tukové kuličky (MFG) se skládají z jádra tvořeného převážně z triacylglycerolů (TG: 98 % z mléčných lipidů), což jsou estery glycerolu a mastných kyselin. Toto jádro MFG je potaženo biologickou membránou, která je výsledkem sekrečního mechanismu tukových kuliček z epiteliálních buněk mléčné žlázy (Ménard et al. 2010).

Tyto membrány jsou bohaté na bílkoviny, glykoproteiny, glycerofosfolipidy, sfingolipidy, cholesterol, enzymy a další drobné komponenty. Membrána globule mléčného tuku se liší v závislosti na druhu zvířete. Například u kobyliho mléka jsou tukové kuličky pokryty membránou složenou ze tří vrstev, a to konkrétně vnitřní proteinovou vrstvou, mezivrstvou tvořenou fosfolipidy a vnější glykoproteinovou vrstvou. Kdežto tukové globule kravského mléka jsou pokryty pouze jednovrstvou ochrannou membránou sestávající z proteinů a fosfolipidů (tedy bez glykoproteinů). Právě fosfolipidy jsou vynikající emulgátorová činidla, která zabraňují agregaci a spojování tukových kuliček (Gantner et al. 2015; Garau et al. 2021).

Membrána tukových kuliček je také fyzickou bariérou proti hydrolýze triacylglycerolů lipolytickými enzymy. Větší kuličky mléčného tuku (charakteristické pro mléka s vysokým obsahem tuku) mohou mít méně stabilní membránu a může se zmenšit odolnost proti deformaci a srůstání za mechanického tlaku ve srovnání s menšími tukovými kuličkami (obsaženými v mléce s nízkým obsahem tuku). Proto, větší velikost kuliček mléčného tuku v mléce s vyšším obsahem tuku může usnadnit jejich narušení během zpracování. Navíc velké tukové kuličky mají schopnost rychle se pohybovat směrem nahoru a přecházet z vodné fáze za vzniku krémové vrstvy na povrchu mléka. Pokud jde o stravitelnost mléčného tuku, tak platí že, čím menší je tuková globule, tím je metabolismus lipidů účinnější (Gantner et al. 2015).

### 3.1.2 Mléčné bílkoviny

O bílkovinách obsažených v mlezivu a mléce je známo, že vyvíjí širokou škálu nutričních, funkčních a biologických aktivit. Kromě toho, že jsou mléčné bílkoviny vyváženým zdrojem esenciálních aminokyselin, přispívají ke struktuře a sensorickým vlastnostem různých mléčných výrobků (Park 2009).

Dusík v mléce je distribuován mezi nerozpustnými bílkovinami (kaseiny), rozpustnými bílkovinami (syrovátkové bílkoviny) a neproteinovým dusíkem. Poměry frakcí těchto bílkovin jsou u jednotlivých druhů přežvýkavců různé (Balthazar et al. 2017). Kaseiny se vyskytují v mléce ve formě koloidních částic (Horne 2016) a dělí se na  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 2-,  $\beta$ - a  $\kappa$ - kasein (Severin & Wenshui 2005). Jejich hlavní biologickou funkcí je přenášet vápník a fosfát, a také vytvářet sraženinu v žaludku pro účinné trávení. Proteiny mléčné syrovátky jsou globulární proteiny, které jsou rozpustnější ve vodě než kaseiny, a jejich hlavními frakcemi jsou  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, sérový albumin, imunoglobuliny a laktoferin (Haug et al. 2007; Ebringer et al. 2008). Syrovátka je tekutina, která zbývá po sražení mléka za vzniku sýra, a používá se v mnoha výrobcích určených k lidské spotřebě, jako je ricotta a hnědý sýr, např. Mysost. Koncentrovaná syrovátka je přísadou do bezpočtu produktů, nejčastěji pekařských a pečivářských výrobků jako je chléb, krekry, pečivo a v neposlední řadě lze syrovátku využít jako krmivo pro zvířata. Rychlost uvolňování aminokyselin během trávení a jejich absorpce do oběhu se může mezi mléčnými bílkovinami lišit a syrovátkové bílkoviny jsou považovány za rychle stravitelné bílkoviny, které v postprandiální plazmě poskytují vysoké koncentrace aminokyselin (Haug et al. 2007).

Dle obsahu různých druhů bílkovin v mléce se obecně rozlišuje mléko „kaseinové“ (tj. mléko savců s jednoduchým žaludkem, které je na kasein relativně bohaté) a mléko „albuminové“ (tj. mléko nepřežvýkavce, které má úměrně vyšší obsah syrovátkových bílkovin oproti bílkovin kaseinových). Kaseinová frakce představuje přibližně 80 % bílkovin kravského a ovčího mléka, zhruba 50 % bílkovin kobyliho mléka a méně než 50 % bílkovin mateřského mléka. Relativní podíl hlavních složek mléčného kaseinu se liší nejen mezi přežvýkavci a nepřežvýkavci, ale také mezi druhy přežvýkavců. Vzhledem k těmto různým relativním podílům se charakteristiky kaseinových micel také liší velikostí, hydratací a mineralizací u různých druhů zvířat. Například micely ovčího a koziho kaseinu mají v průměru vyšší mineralizační úroveň a jsou méně hydratované, solvatované a tepelně méně stabilní než micely kravského kaseinu (Claeys et al. 2014).

### 3.1.3 Laktóza

Laktóza ( $\beta$ -D-galaktopyranosyl-(1  $\rightarrow$  4)-D-glukopyranosa) je specifický disacharid, vyskytující se výhradně v mléce savců, který vykazuje zajímavé nutriční vlastnosti, mezi které patří relativně nízká sladící schopnost, nízká výhřevnost a nízký glykemický index. Má také prebiotické vlastnosti a zvyšuje vstřebávání vápníku a hořčíku (Schaafsma 2008).

Laktóza je dále zodpovědná za osmotickou rovnováhu mezi krví a alveolárním lumenem v mléčné žláze. Tento disacharid tvoří hlavní podíl mléčné sušiny a jeho syntéza a

koncentrace v mléce je ovlivněna hlavně zdravím vemene, energetickou bilancí a metabolismem krávy. Laktóza také přispívá k energetické hodnotě mléka a je důležitou složkou v potravinářském a farmaceutickém průmyslu (Costa et al. 2019).

### **3.1.3.1 Metabolismus a trávení laktózy**

Tento mléčný cukr existuje ve dvou formách (izomerech), alfa a beta, které se liší svojí konfigurací podle polohy hydroxylové skupiny z jedné glukózové jednotky. Ve vodném roztoku existuje alfa a beta laktóza v rovnováze, s převahou formy beta laktózy (63 %). Po vstřebání laktózy z mléka, je rozložena do svých monosacharidových složek galaktózy a glukózy převážně enzymem  $\beta$ -galaktosidázou (laktázou). Po rozdělení jsou tyto monosacharidy aktivně absorbovány a transportovány přes portální žílu do jater. Následně po absorpci je galaktóza v játrech přeměněna na glukózu prostřednictvím Leloirovi dráhy.

Právě nedostatek jednoho či více enzymů podílejících se na trávení laktózy a metabolismu galaktózy může vést metabolickým poruchám známým jako intolerance laktózy a galaktosémie (Schaafsma 2008).

### **3.1.4 Minerální látky**

Minerální látky jsou pro lidské tělo nepostradatelné a vykonávají řadu životně důležitých funkcí, mezi ně patří aktivity enzymového kofaktoru, metaloproteinů, tvorby vitamínů a kostí, osmolarity, absorpce živin a transport kyslíku. Mléko je velmi dobrým zdrojem makrominerálních látek Ca, Mg, P, K a také 3 mikrominerálních látek I, Se a Zn. Dále obsahuje makronutrienty Na, S společně s mikronutrienty B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo a Ni, nicméně mléko není hlavním zdrojem těchto minerálních látek v lidské stravě (Stergiadis et al. 2019).

### **3.1.5 Somatické buňky**

Dalšími důležitými složkami přirozeně se vyskytujícími v syrovém mléce jsou somatické buňky (SB), kde převládajícím buněčným typem, kromě prolévaných epiteliálních buněk, jsou u většiny druhů leukocyty, makrofágové, buňky polymorfonukleárních neutrofilů (PMN) a lymfocyty (litalu al. 2014). Dle Tripaldi et al. (2010) je nárůst PSB z velké části způsoben právě PMN, jejichž primární funkcí je požití a destrukce invazních mikroorganismů, stejně jako sekrece zánětlivých regulátorů.

Množství SB, obvykle uváděných jako PSB počet somatických buněk (SCC), se v mléce používá jako důležitý ukazatel zdraví vemene, protože SB se podílejí na ochraně mléčné žlázy před infekcí jako součást vrozeného imunitního systému. PSB v mléce je ovlivněn mnoha faktory, jako jsou živočišné druhy, úroveň produkce mléka, fáze laktace, také individuální a environmentální faktory a postupy řízení chovu (Li et al. 2014).

Hodnoty PSB byly také změřeny u buvolů při diagnostice mastitidy a Moroni et al (2006) zjistili, že hodnota PSB 200 000/ml je pravděpodobně orientační hodnota infekce vemene. Vezmeme-li si jako příklad kravské mléko, když je PSB > 200 000 buněk/mL, vemeno považováno za infikované, a když PSB > 400 000 buněk/mL, je mléko považováno za nevhodné

k lidské spotřebě v Evropské unii (EU). Právní prahová hodnota PSB pro přijetí mléka v mlékárenském průmyslu se v různých zemích liší, např. hodnoty pro mléko skotu v Německu, Kanadě a USA jsou 100 000; 500 000 a 750 000 buněk/mL. U kozího a ovčího mléka je mezní hodnota  $1 \times 10^6$  v USA, ale v EU zatím není definována (Li et al. 2014).

Somatické buňky jsou také podstatným zdrojem endogenních proteinů, včetně enzymů. Po lýze somatických buněk se do mléka uvolňuje velké množství enzymů a mezi nimi lipázy (např. lipoproteinová lipáza), oxidázy (např. kataláza a laktoperoxidáza), glykosidázy (např. lysozym) a proteázy včetně elastázy, kolagenázy a katepsiny B, C, D a G, které přispívají k hydrolyze důležité mléčné bílkoviny kaseinu. Kromě toho je plazmin hlavním proteolytickým enzymem v mléce, a to jak ze zdravých vemen, tak z vemen se zvýšeným PSB. Plazmin je tepelně stabilní alkalická serinová proteináza, která existuje v mléce jako součást komplexního systému, včetně jeho zymogenu (plazminogenu), aktivátorů plazminogenu a inhibitorů plazminu i plazminogenu. Hladina aktivního plazminu v mléce je ovlivněna rovnováhou aktivátor-inhibitor, přičemž rovnováha v mastitidním mléce je ve prospěch aktivace (Talukder & Manir Ahmed 2017).

Přestože je PSB platným kvantitativním znakem pro identifikaci stavu zánětu mléčné žlázy, není tak přesný, jelikož je více ovlivnitelný vnějšími faktory a neposkytuje informace o distribuci každé buněčné populace. Tyto informace by však mohly být získány variací polymorfonukleárních leukocytů (PMN), lymfocytů a makrofágů, což odráží rozsah zánětlivé reakce zvířete. Kromě toho existují důkazy, že různé podíly těchto buněčných populací v rámci specifických úrovní PSB by mohly modifikovat konečnou charakteristiku mléčných výrobků, jakož i různé kategorie environmentálních mikroorganismů (např. rod *Clostridium*), které, ačkoliv nepatogenní, mají silně nepříznivou mléčnou aktivitu. Navzdory tomu, vzhledem k absenci rychlého a vysoce výkonného analyzátoru mléka, schopného počítat rozdílné buněčné populace v mléce, nebyly tyto informace k dispozici. Nedávné technologické pokroky však tuto situaci změnilly a jsou k dispozici nové nástroje, které počítají mléčné diferenciální somatické buňky (DPSB, definované jako poměr PMN a lymfocytů) a mohou být integrovány do denního záznamového systému jednotlivých vzorků mléka. DPSB byl navržen jako užitečný biomarker v mléce k nepřímé identifikaci mastitidy, odhalení zánětlivých reakcí také při nízkých hodnotách PSB a schopnost určit stupeň mastitidy v kombinaci s PSB (Stocco et al. 2020).

### **3.2 Porovnání vlastností mléka různých druhů přežvýkavců oproti mléku kravskému**

Přestože mléko všech savců obsahuje stejné hlavní složky, tak se složení mléka může výrazně lišit, a to nejen mezi přežvýkavci a nepřežvýkavci, ale také mezi různými druhy těchto dvou skupin, mezi různými variantami chovu v rámci stejného druhu a mezi jednotlivými zvířaty. Rozdíly ve složení mléka se netýkají pouze relativních poměrů složek mléka, ale vyskytují se také na molekulární úrovni (např. monomerní oproti dimerním proteinům, odlišná sekvence aminokyselin).

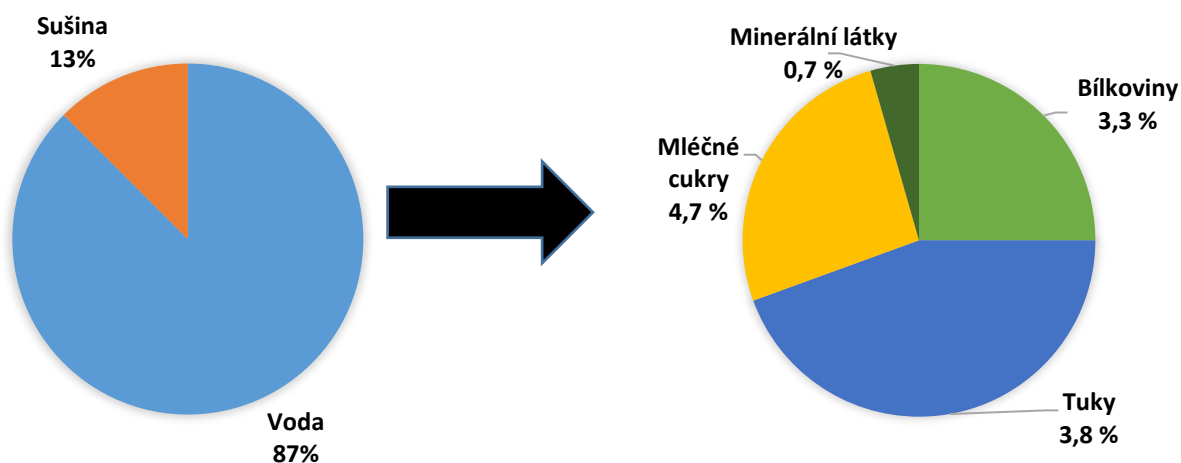
Velmi obecně lze říci, že mléko od přežvýkavců obsahuje vyšší obsah bílkovin („kaseinové mléko“) a tuku (v procentech více nasycených mastných kyselin a mononenasycených mastných kyselin (MUFA), ale méně polynenasycených mastných kyselin

(PUFA)) ve srovnání s mlékem nepřezvýkavců („albuminové mléko“). Obsah minerálních látek a vitamínů je také vyšší v mléce přezvýkavců, nicméně mléko albuminové obsahuje více laktózy (Claeys et al. 2014).

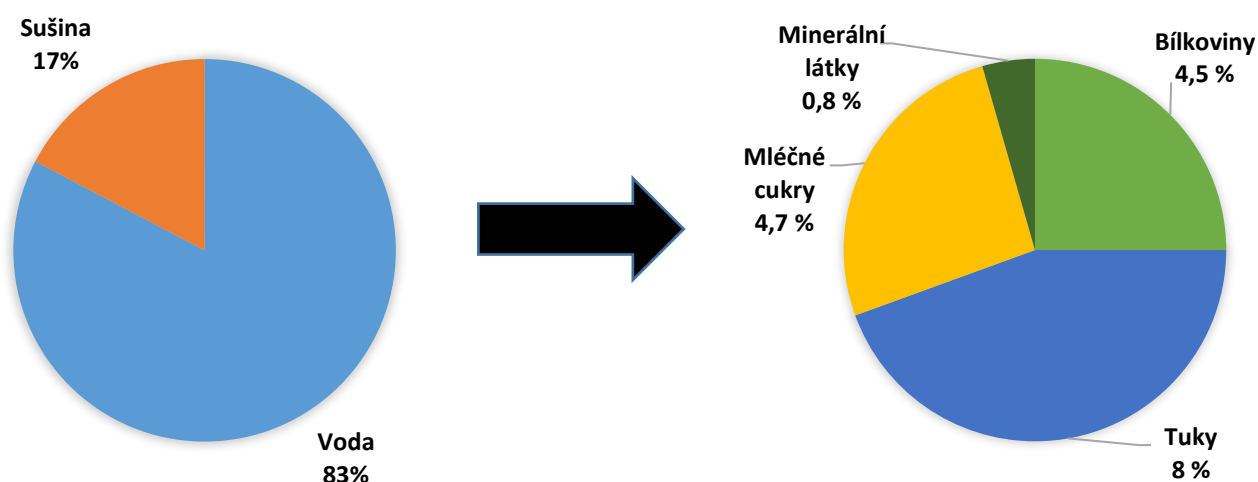
V tabulce č. 1 jsou znázorněny rozdíly v obsahu základních mléčných složek u různých druhů přezvýkavců. Následující obrázky č. 1 a 2 pak detailněji znázorňují podíl hlavních složek kravského a buvolího mléka.

Tabulka č. 1 Porovnání průměrných hodnot mléčných komponent mezi druhy přezvýkavců dle Kopáčka (2014)

Druh mléka	Voda	Bílkovina	Tuk	Mléčný cukr	Minerální látky
	%				
Kravské	87,5	3,3	3,8	4,7	0,7
Kozí	86,6	3,6	4,2	4,8	0,8
Ovčí	83,9	5,2	6,2	4,2	0,9
Buvolí	82,7	4,5	8	4,7	0,8



Obrázek č. 1 Průměrné složení kravského mléka dle Kopáčka (2014), upraveno autorem



Obrázek č. 2 Průměrné složení buvolího mléka dle Kopáčka (2014), upraveno autorem

### 3.2.1 Vlastnosti kozího mléka

Kozí mléko má obdobné zastoupení hlavních složek jako mléko kravské. Oproti kravskému je však snadněji stravitelné. Důvodem je jiné složení bílkovin a jemně rozptýlený tuk, podobně jako u mléka mateřského. Kozí mléko obsahuje oproti kravskému například velmi malý podíl  $\alpha$ 1-kaseinu a relativně vyšší zastoupení  $\beta$ -kaseinu, což z hlediska kaseinového profilu přibližuje kozí mléko více k mléku mateřskému. Kozí mléko je oproti kravskému téměř bílé barvy, protože organismus kozy má omezenou schopnost vstřebávat a vylučovat do mléka  $\beta$ -karoten. Chuť a vůně mléka se vyznačuje typickým nádechem po kozině, způsobené vyšším obsahem kyseliny kapronové a kaprinové (Kopáček 2014).

Ve srovnání s kravským mlékem vykazovalo kozí mléko také řadu nutričně žádoucích vlastností, včetně nižších koncentrací nasycených mastných kyselin, které jsou spojeny se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění (C12:0, C14:0, C16:0), výhodnější poměr sodíku a draslíku, vyšší koncentrace mastných kyselin s pozitivním vlivem na lidské zdraví, včetně cis izomerů polynenasycených mastných kyselin, kyseliny eikosapentaenové a kyseliny dokosaheptaenové. Dále oproti mléku kravskému bylo v kozím mléce zjištěno větší množství zdraví prospěšných isoflavonů a několik významných minerálních látek jako B, Cu, Mg, Mn, P (Stergiadis et al. 2019). Kozí mléko má také menší velikost tukových kuliček ve srovnání s mlékem kravským a buvolím. Srovnávací průměry tukových kuliček pro kozí, kravské, buvolí a ovčí mléko byly uváděny jako 3,49; 4,55; 5,92 a 3,30  $\mu$ m, v daném pořadí. Menší velikost tukových kuliček kozího mléka by měla zajistit lepší stravitelnost ve srovnání s mlékem kravským (Park 2009).

Dalším rozdílem od mléka kravského je vyšší obsah jódu v kozím mléce, který může být žádoucí u dospělých (protože nedostatek I je hlavním nedostatkem živin v celosvětovém měřítku), ale u dětí ve věku 1-3 let je třeba postupovat opatrně, protože konzumace přiměřeného množství kozího mléka může dosáhnout horních tolerovatelných limitů dodávky I. Kromě toho kozí mléko mělo nižší koncentrace prospěšných omega-3 PUFA, VA, lignanů a



minerálních látek Ca, S a Zn, které vykonávají hlavní metabolické funkce v lidském těle (Stergiadis et al. 2019).

Chen et al. (2010) dále uvedl, že kozí a ovčí mléko má vyšší PSB než kravské mléko, kvůli apokrinálnímu způsobu sekrece mléka.

### 3.2.2 Vlastnosti ovčího mléka

Ovčí mléko představuje přibližně 36,5 % celkové světové produkce mléka malých přežvýkavců a je mezi spotřebiteli populárnější ve formě mléčných výrobků, jako je sýr či jogurt, a to především díky vyššímu obsahu tuku a tukuprosté sušiny. Největším světovým producentem ovčího mléka je Čína. Dalšími významnými producenty jsou Turecko, Řecko a Sýrie (Mohapatra et al. 2019).

Ovčí mléko je bílé až krémově zbarvené s charakteristickou natrpklou příchutí. Složení a vlastnosti mléka jsou ovlivněny především plemenem ovce. Vyšší obsah zejména tuku a bílkovin jsou v porovnání s kravským mlékem příčinou vyšší nutriční a energetické hodnoty. Dle Mohapatra et al. (2019) obsahuje ovčí mléko také vyšší množství vápníku, fosfátů a hořčiku než v mléce kravském. Ovčí mléko má také vyšší viskozitu a titrační kyselost, hůře ale prokysává a pomaleji se sráží (Kopáček 2014).

Mezi přežvýkavci je průměrná velikost tukových kuliček nejmenší právě v ovčím mléce, což je výhodné pro stravitelnost a efektivnější metabolismus lipidů ve srovnání s kravským mlékem. Struktura a složení globulární membrány je podobná tuku kravského a kozího mléka a představuje přibližně 1 % celkového objemu mléčného tuku (Recio et al. 2009).

Bylo zjištěno, že ovčí syrové mléko má vysoký podíl mastných kyselin (FA) s krátkým a středním řetězcem, které jsou cenné pro zdravou výživu. Profil FA syrového mléka byl ve větší míře ovlivněn stádiem laktace než faktorem plemene. Relativní podíl většiny nasycených mastných kyselin s krátkým a středním řetězcem se snižoval s postupem laktace, zatímco podíl nenasycených FA se zvyšoval. Kyselina palmitová a olejová vykazovaly svůj nejvyšší podíl během pozdní laktace. Aterogenní a trombogenní indexy se snížily; na druhé straně se poměr hypocholesterolaemických/hypercholesterolaemických (h/H) mastných kyselin zvýšil při pozdní laktaci. Čím nižší jsou hodnoty indexu aterogenity (AI) a trombogenity (TI), tím zdravější je potravina. Tyto indexy ukazují vztah mezi mastnými kyselinami v potravinách a jejich přínosem k prevenci koronárních onemocnění. Hladiny metabolicky hodnotných krátkých a středních řetězců FA, kapronových (C6:0), kaprylových (C8:0), kaprinových (C10:0) a laurických (C12:0) jsou významně vyšší u ovcí a koz než u kravského mléka. Tyto FA jsou spojeny s charakteristickou příchutí sýrů a mohou být také použity k detekci příměsí mléka z různých druhů. Charakteristickým indikátorem u ovčího mléka je vyšší koncentrace kyseliny máselné (C4:0), konjugované kyseliny linolové (CLA) a obsahu omega-3 mastných kyselin než u jiných mlék přežvýkavců. Přítomnost esenciálních  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 FA v mléčném tuku, stejně jako v jiných méně častých FA, jako jsou izomery kyseliny linolové, získala rostoucí zájem kvůli poptávce spotřebitelů po zdravé výživě (Mohapatra et al. 2019).

Co se týče bílkovin, jsou kaseinové micely v ovčím mléce bohatší na vápník ve srovnání s micelami v kravském mléce a při výrobě ovčího sýra tedy není potřeba žádná přísada  $\text{CaCl}_2$ ,

což je technologická výhoda. Kromě toho je k výrobě kvalitního tvarohu z ovčího mléka potřeba méně syřidla nebo chymosinu ve srovnání s kravským nebo kozím mlékem (Balthazar et al. 2017).

Ovčí mléko je dále nejbohatším zdrojem syrovátkových bílkovin (1,02 g/100 g) a má také vysokou koncentraci kaseinu, a to až - 4,18 g/100 g.  $\beta$ -laktoglobulin je hlavním syrovátkovým proteinem v ovčím mléce a obsah  $\alpha$ -laktalbuminu v ovčím mléce je také vyšší než obsah v mléce kravském.

Kasein z ovčího mléka je složen z 9,1–10,2 %  $\kappa$ -kaseinu, 12–16,4 %  $\alpha_2$ -kaseinu, 33,9–39,9 %  $\alpha_1$ -kaseinu a 37–42,3 %  $\beta$ -kaseinu (zatímco stejné kaseiny v kravském mléce jsou přibližně 12, 10, 37 a 35 %)(Mohapatra et al. 2019).

### 3.2.3 Vlastnosti buvolího mléka

Buvolí mléko tvoří 12 % celosvětové produkce mléka a přibližně 80 % celkové produkce mléka v Indii a Pákistánu. Buvolí mléko je zde preferováno před kravským především kvůli jeho křídově bílé barvě, vyššímu obsahu tuku, bílkovin, celkové sušiny a jeho lahodné krémové chuti oproti mléku kravskému (Khan et al. 2017).

Studie Ménard et al. (2010) prokázala, že velikost tukových globulí (MFG) v buvolím mléce nabývá znatelně větších rozměrů než tukové kuličky v mléce ostatních přežvýkavců. Právě větší velikost tukových kuliček v buvolím mléce příznivě ovlivňuje fyzikálně-chemické a funkční vlastnosti sýrů. Zároveň jsou však větší MFG méně stabilní, hůře se stloukají a jsou více ovlivnitelné teplotou, což má za následek horší schopnost buvolího mléka tvořit smetanu oproti mléku kravskému.

U mlék kravských i buvolích jsou hlavními mastnými kyselinami kyselina palmitová (C16:0), kyselina olejová (C18:1c9), kyselina myristová (C14:0) a kyselina stearová (C18:0). Ačkoliv tuky u obou druhů mléka obsahovaly asi 70% nasycených mastných kyselin, buvolí mléko obsahovalo významně vyšší množství nasycených mastných kyselin a nižší množství nenasycených mastných kyselin než kravské mléko. Buvolí mléko dále obsahovalo významně nižší množství mastných kyselin se středním řetězcem (C8:0 až C12:0) (Ménard et al. 2010).

Pokud jde o mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, tak buvolí mléko obsahovalo výrazně vyšší obsah kyseliny myristové (C14:0), kyseliny palmitové (C16:0) a nižší obsah kyseliny stearové (C18:0) než kravské mléko. Vzhledem k mononenasyceným mastným kyselinám obsahovala buvolí mléka výrazně nižší množství kyseliny olejové (C18:1 c9) a výrazně vyšší množství transmastných kyselin C18:1, zejména kyseliny vakcenové (trans-C18:1). Kyselina vakcenová je hlavní transmastnou kyselinou C18:1 nalezenou v mléce a pochází z biohydrogenačních mechanismů v bacheru zvířat.

Dále obsahovalo buvolí mléko významně vyšší množství kyseliny rumenové (C18:2 c9 tr11), která je hlavním izomerem konjugované kyseliny linolové (CLA), než v kravském mléce. Tyto výsledky jsou důležité pro konzumaci buvolího mléka, protože izomery CLA jsou považovány za antikarcinogenní, antiaterogenní a antidiabetické složky (Ménard et al. 2010).

Mezi hlavní proteiny v buvolím mléce patří:  $\alpha_1$ -kasein ( $\alpha_1$ -CN),  $\alpha_2$ -kasein ( $\alpha_2$ -CN),  $\beta$ -kasein ( $\beta$ -CN),  $\kappa$ -kasein ( $\kappa$ -CN),  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -LG) a  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA). Ve srovnání

s kravským mlékem obsahovalo buvolí mléko vyšší množství  $\alpha$ -s2-kaseinu a  $\kappa$ -kaseinu. Větší množství  $\kappa$ -CN v buvolím mléce lze považovat za faktor, který urychluje enzymatické fáze koagulace syřidla a zároveň zmenšuje potřebné množství proteolytického enzymu chymosinu při výrobě sýrů. Kromě kvantitativních rozdílů v obsahu hlavních proteinových frakcí mezi buvolím a kravským mlékem byly zjištěny kvalitativní rozdíly v aminokyselinové sekvenci hlavních proteinů buvolího mléka oproti mléku jiných přežvýkavců. Bylo však zjištěno vysoké procento podobnosti mezi hlavními bílkovinami buvolího a kravského mléka, oba druhy mlék mají totiž podobný počet aminokyselinových zbytků a variabilní aminokyselinové substituce ve svých polypeptidových řetězcích. Na základě složení aminokyselin byly buvolí  $\alpha$ s-CN a  $\beta$ -CN hydrofobnější než ty kravské. Dále se kaseinové micely buvolího mléka lišily zvýšeným obsahem anorganického fosforu, kyseliny citrónové, vápenatých a hořečnatých iontů než micely kravského kaseinu (Abd El-Salam et al. 2011).

$\alpha$ s1-CN buvolího mléka se skládá z jediného 199 zbytkového polypeptidového řetězce s vysokou podobností k variantě  $\alpha$ s1-CN kravského mléka. Mezi buvolím a kravským  $\alpha$ s1-CN bylo zjištěno pouze 9 substitucí, které odpovídají 97,2 % homologii. Fosforylace se vyskytuje v podobných lokalitách jako u krav  $\alpha$ s1-CN, tj. na Ser 41,46, 48, 64, 66, 67, 68 a 75, ale ne na Ser 115 jako u krávy  $\alpha$ s1-CN obklopené hydrofobními aminokyselinami. Absence fosforylace na Ser 115 posiluje hydrofobní povahu buvolího  $\alpha$ s1-CN. To může vysvětlovat vyšší citlivost buvolího  $\alpha$ s-CN na  $\text{Ca}^{2+}$  ve srovnání s kravským mlékem. Obecně platí, že buvolí  $\alpha$ s1-CN vykazoval sníženou fosforylaci ve srovnání s  $\alpha$ s1-CN jiných přežvýkavců (Abd El-salam et al. 2011).

$\kappa$ -CN je kaseinová frakce charakterizovaná tím, že má sacharidovou složku a veškerou kyselinu N-acetylneuramenovou (kys.sialová) přítomnou v kaseinových micelách. Buvolí  $\kappa$ -CN obsahoval méně kyseliny sialové než kravský  $\kappa$ -CN. Frakce  $\kappa$ -kaseinu bez sacharidů představuje 40 %  $\kappa$ -CN u buvolů, což představuje pouze 25 % celkového  $\kappa$ -CN v kravském mléce, což vysvětluje nízký obsah kyseliny sialové v buvolím  $\kappa$ -CN (Abd El-Salam et al. 2011).

Kaseinové micely v buvolím mléce mají velikost v průměru 190 nm, kdežto v kravském mléce byly zjištěny micely asi o 10-20 nm menší než v mléce buvolím. Zdá se, že vyšší koncentrace kaseinu v buvolím mléce a jeho téměř 100% výskyt v koloidní formě má primární vliv na zvýšení počtu kaseinových micel a sekundární dopad na velikost. Větší koncentrace kaseinu je tedy převedena na větší počet kaseinových micel v 1 mL buvolího mléka ve srovnání s počtem kaseinových micel v 1mL kravského mléka (Ahmad et al. 2013).

Khan et al. (2017) dále zjistili, že koncentrace vitamínu E byla v buvolím mléce výrazně vyšší (5,5 mg/100 ml) oproti mléku kravskému (2,1 mg/100 ml). To samé platilo i pro vitamín C, který v buvolím mléce byl v množství 3,66 mg/100 ml a v kravském 0,94 mg/100 ml. Dále byl v buvolím mléce vyšší obsah aminokyselin obsahujících síru, selen a zinek. Zároveň byly v buvolím mléce zjištěny menší koncentrace  $\beta$ -karotenu, což je důvod, proč je buvolí mléko křídově bílé. Právě vyšší obsah těchto látek v buvolím mléce (krom  $\beta$ -karotenu) způsobuje jeho lepší antioxidační vlastnosti oproti mléku kravskému.

Z technologického hlediska může buvolí mléko poskytovat širokou škálu produktů jako: máslo, máslový olej (přepuštěné máslo nebo ghí), měkké a tvrdé sýry, kondenzovaná mléka,

zmrzlinu, jogurt a podmáslí. Díky charakteristicky vysokému obsahu tuku a bílkovin je buvolí mléko velmi vhodné ke zpracování. Například výroba 1 kg másla vyžaduje 14 kg kravského mléka, kdežto u buvolího mléka stačí na výrobu 1 kg másla pouze 10 kg. V mnoha zemích se z buvolího mléka vyrábí především tradiční sýry, jako mozzarella a ricotta v Itálii, gemir v Iráku, paneer v Indii, domianti v Egyptě, pecorino v Bulharsku a nakládané sýry ze zemí Středního východu (Ménard et al. 2009).

Obsah tuku a bílkovin je v buvolím mléce v poměru přibližně 2:1. Dalším charakteristickým rysem buvolího mléka je vysoký poměr kaseinu k bílkovinám (81-84 %) ve srovnání s mlékem skotu (78 %). Vysoký obsah vápníku v kaseinových micelách má navíc za následek rychlejší koagulaci syřidla, zvýšené napětí sýřeniny a rychlejší synerezi (Tripaldi et al. 2005).

### **3.3 Vodní buvoli (*Bubalus bubalis*)**

#### **3.3.1 Vývoj a taxonomické zařazení buvolů**

Buvoli patří do říše *Animalia* (živočichové), kmene *Chordata* (strunatci), třídy *Mammalia* (savci), řádu *Artiodactyl* (sudokopytníci), podřádu *Ruminantia* (přežvýkavci), čeledi *Bovidae* (turovití) a podčeledi *Bovinae* (tuři). Existují dva hlavní druhy buvolů. Buvol asijský (*Bubalus bubalis*) a buvol africký (*Syncerus caffer*). Asijský buvol pochází z Indie, kde k domestikaci pravděpodobně došlo ve třetím tisíciletí př. n.l., a z Číny, kde k domestikaci došlo v pátém tisíciletí př. n.l. Asijského vodního buvola (*Bubalus bubalis*) lze rozdělit na dva poddruhy. Buvol říční a buvol bažinný. Co se týče buvola afrického existují dva poddruhy: buvol kapský (*Syncerus caffer caffer*) a buvol lesní (*Syncerus caffernanus*).

Během období pleistocénu byl *Bubalus* distribuován z jižní Asie do Evropy. Jak se s postupem času oteplevalo a bylo sušší klima, tak se oblast rozšíření zmenšila na Indii, Indonésii a části jihovýchodní Asie. Předpokládá se, že buvoli byli do Itálie dovezeni ze střední Evropy v šestém století nebo z Tuniského zálivu v sedmém století. K přesunu populací vodních buvolů do Austrálie, Afriky a Ameriky došlo teprve nedávno (Michelizzi et al. 2010). Na obrázku č. 3 lze vidět buvola říčního a na obrázku č. 4 buvola bahenního.



Obrázek č. 3 Buvol říční, online 1



Obrázek č. 4 Buvol bahenní, online 2

### 3.3.2 Význam vodních buvolů ve světě

Na světě dnes žije více než 168 milionů vodních buvolů, z toho asi 161 milionů v Asii; 2,7 milionů v Africe; 3,3 milionů v Jižní Americe a zbytek je distribuován v Evropě a v Austrálii. V Jižní Americe je velká populace kříženců bažinného buvola/buvola říčního, protože mnoho buvolů bylo dovezeno z Indie, kde převládají říční buvoli, a z Austrálie, která má vysokou populaci buvola bažinného. Těchto 168 milionů vodních buvolů tvoří pouze 11,1 procent světové populace skotu (Michelizzi et al. 2010).

Od doby, kdy byli vodní buvoli domestikováni před 3-6 tisíci lety, mají v mnoha vysoce zalidněných zemích ekonomický význam jako zvířata, využitá k chovu na maso, k mléčné produkci a jako tažná zvířata. Na rozdíl od jiných domestikovaných turů se populace vodních buvolů v posledních 20 letech celosvětově zvyšovala asi o 2 % ročně. Vodní buvol poskytuje více než 5 % světové zásoby mléka, které obsahuje méně vody a více tuku, laktózy, bílkovin a minerálních látek, než mléko kravské.

Mléko vodního buvola se používá k výrobě másla, máslového oleje, vysoce kvalitních sýrů a dalších vysoce kvalitních mléčných výrobků. Buvoli mají také libovější maso, které obsahuje méně tuku a cholesterolu než hovězí maso, a přitom má srovnatelnou chuť. Jejich kůže může být použita k výrobě kvalitních kožených výrobků. Navíc vodní buvoly využívají méně stravitelná a levnější krmiva než ostatní přežvýkavci, což z jejich chovu dělá významně ekonomicky výhodný (Michelizzi et al. 2010; Sel et al. 2020; Feng et al. 2021).

V posledním desetiletí se produkce buvolího mléka značně zvýšila a dosáhla druhého místa v celkové mléčné produkci ve světě hned za mlékem kravským. Mezi hlavní mimoevropské výrobce buvolího mléka lze řadit Indii, Pákistán, Čínu a Nepál. Mezi evropskými zeměmi to jsou především Itálie, Turecko, Bulharsko a Řecko (Cazacu 2014).

### **3.3.3 Odolnost buvolů oproti ostatním přežvýkavcům**

Vodní buvoly se typicky vyskytují v tropických a subtropických lesích, vlhkých pastvinách a bažinách. I když jsou to suchozemská zvířata, tráví značnou část času válejších se v bahně či řekách, aby se ochladili. Přestože se buvoly pohybují v oblastech, ve kterých se hojně vyskytuje mnoho různých parazitů, jsou vodní buvoly poměrně zdravá zvířata. Jsou ale jako ostatní dobytek náchylní k většině chorob a parazitů, včetně trypanosomiózy, tuberkulózy, brucelózy, moru a piroplazmózy, nicméně jsou pro ně účinky těchto onemocnění často méně škodlivé (Michelizzi et al. 2010; Dogan et al. 2020).

Právě díky válení se v bahně jsou vodní buvoly méně náchylní ke klíšťatům a jiným ektoparazitům. Kvůli tomu jsou buvoly odolní například vůči bzučivce lidožravé, která je hlavním škůdcem hospodářských zvířat ve Střední a Jižní Americe. Předpokládá se totiž, že larvy této bzučivky se udusí v bahně, ve kterém se buvoly vají.

Přestože má chov vodních buvolů mnoho výhod, zůstávají tato zvířata méně využitá. Zejména proto, že chovatelé a farmáři vodních buvolů čelí mnoha výzvám a problémům, jako je špatná reprodukční účinnost, suboptimální produkční potenciál, vyšší než normální výskyt neplodnosti a nižší míra přežití telat (Michelizzi et al. 2010).

## **3.4 Faktory ovlivňující počet somatických buněk v mléce přežvýkavců**

### **3.4.1 Mastitida**

Mastitida je charakterizována fyzikálními, chemickými, bakteriologickými změnami v mléce a patologickými změnami ve žlázové tkáni vemene, což ovlivňuje kvalitu a množství mléka. Bakteriální kontaminace mléka od postižených krav dělá z mléka produkt nevhodný pro lidskou spotřebu a poskytuje mechanismus šíření nemocí, jako je tuberkulóza, bolest v krku, horečka Q, brucelóza, leptospiróza atd. a má zoonotický význam (Sharma et al. 2011). Stupeň těchto změn závisí na patogenitě bakterií způsobujících mastitidu a množství postižené tkáně ve žláze, zejména v oblasti postiženého epitelu. Mezi hlavní změny vemene patří únik iontů, bílkovin a enzymů z krve do mléka v důsledku zvýšené propustnosti, invaze do fagocytující buňky do mléčného oddílu a pokles syntetické kapacity žlázy, což má za následek snížení koncentrace určitých složek mléka (Pyörälä 2003).

Tuto nemoc lze na první pohled identifikovat díky abnormalitám rozpoznatelným na vaku vemene jako například: otok vemene, zvýšená teplota, bolestivé reakce zvířete při pouhém dotyku, zarudnutí částí vemene či jeho ztvrdnutí. Tyto příznaky jsou jasně patrné na obrázku č. 5. Další příznaky mastitidy mohou být identifikovány při dojení, kdy má mastitidní mléko oproti zdravému vodnatý vzhled, obsahuje hnis, krvavé vločky či krevní sraženiny (Bhosale et al. 2014).



Obrázek č. 5 Infekce vemene dojnice (Mastitida) dle Bhosale et al. (2014)

### 3.4.1.1 Typy mastitidy

V první řadě lze mastitidu dělit dle viditelných příznaků na subklinickou a klinickou, kde převládajícím typem je subklinická mastitida, která nemá viditelné příznaky na vemeni či v mléce a je zjistitelná díky snížené produkci mléka a vysokému počtu PSB v mléce. Kdežto u mastitidy klinické jsou změny na pohled zjistitelné. Klinická mastitida se dělí na perakutní, akutní, subakutní a chronickou.

Pro perakutní mastitidu je typické, že postižená zvířata mají teplotu mezi 41-42 °C, jejich vemeno oteče a stává se extrémně bolestivým. Nastane kasace mléka při sekreci a mléko obsahuje i stopy krve. Tuto formu způsobují konkrétně patogeny *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium pyogenes*, *Escheria coli* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Co se týče akutního stavu, tak zvířeti oteče vemeno a místo mléka vytéká žlutá či hnědá tekutina s vločkami či sraženinami. Infekce je rozšířena v jedné čtvrti či v celém vemeni. Tuto formu způsobují *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*. Při subakutním stavu se dochází ke změnám pouze v mléce, nikoliv ve tkáních vemene. To znamená, že mléko vykazuje při subakutním stavu přítomnost patogenů. V případě chronické mastitidy vemeno ztvrdne, supramamární lymfatická uzlina se stane hmatatelnou. Čtvrtě se zpevní a mohou se stát nodulární a občas až atrofické. Mléko má poté často zelenou až žlutozelenou barvu a odporně páchne. K chronické formě mastitidy vedou často tuberkulózní infekce (Bhosale et al. 2014).



### 3.4.1.2 Patogeneze mastitidy

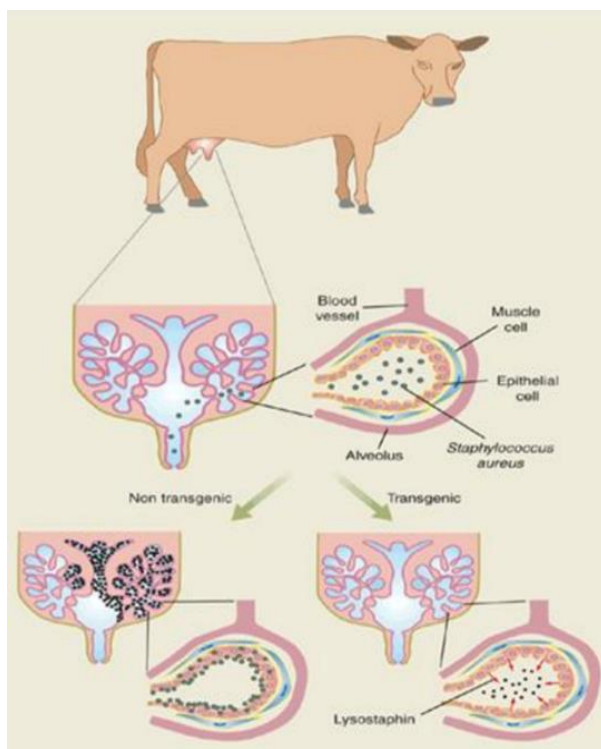
Během dojení mohou být bakterie přítomny v blízkosti otevření kanálu struku, a to buď prostřednictvím špinavých a mokrych podmínek na konci struku, přes léze na konci struku nebo kolonizaci, na kontaminovaných površích dojících jednotek. Konec struku slouží jako první ochranná bariéra těla proti infekci. Hladký svalový svěrač, který obklopuje strukový kanál, udržuje strukový kanál uzavřený a zabraňuje tak úniku mléka a brání bakteriím ve vstupu do struku. Buňky lemující strukový kanál produkují keratin, vláknitý protein s lipidovými složkami (mastné kyseliny s dlouhým řetězcem), které mají bakteriostatické vlastnosti. Poškození či namáhání struku jej činí náchylnější k bakteriální invazi, kolonizaci a infekci kvůli poškození keratinu nebo sliznic, které obklopují sinus struku.

Zánětlivá reakce je zahájena, když bakterie vstoupí do mléčné žlázy. Tyto bakterie se množí a produkují toxiny, enzymy a složky buněčné stěny, které stimulují produkci četných mediátorů zánětu zánětlivými buňkami. Velikost zánětlivé reakce může být ovlivněna kauzálním patogenem, stádiem laktace, věkem, imunitním stavem krávy, genetikou a nutričním stavem.

Polymorfonukleární neutrofilní (PMN) leukocyty a fagocyty se pohybují z kostní dřeni směrem k invazním bakteriím a jsou přitahovány ve velkém počtu chemickými přenašeči nebo chemotaktickými látkami z poškozených tkání. Shluky PMN mohou projít společně s buňkami produkujícími mléko do aleveolárních lumen, čímž zvyšují počet somatických buněk (PSB) a poškozují sekreční buňky.

V místě infekce PMN obklopuje bakterie a uvolňuje enzymy, které tyto bakterie následně zničí. Leukocyty v mléce mohou také uvolňovat specifické látky, které přitahují více leukocytů do oblasti pro boj s infekcí. Počet somatických buněk zůstává ve velkých koncentracích po odstranění bakterií, dokud nedojde k hojení žlázy. Sraženiny vytvořené agregací leukocytů a faktorů srážení krve mohou blokovat malé kanály a zabránit úplnému odstranění mléka z mléčné žlázy. Poškození epiteliálních buněk a zablokování malých kanálků může v některých případech vést až k tvorbě zjizvené tkáně, což může znamenat trvalou ztrátu funkce této části mléčné žlázy. V jiných případech může zánět ustoupit, může dojít k opravě tkáně a funkce se může vrátit v této laktaci nebo až v té následné (Jones 2009). Patogeneze je ukázána na následujícím obrázku č. 6.





Obrázek č. 6 Patogeneze Mastitidy dle Bhosale et al. (2014)

### 3.4.1.3 Patogeny mastitidy

Bakterie způsobující onemocnění jsou často označovány jako patogeny. Nejčastější patogeny mastitidy se nacházejí buď ve vemeni (nakažlivé patogeny) nebo v okolí krávy (environmentální patogeny), jako je podestýlka, hnůj, půda atd. Patogeny nakažlivé mastitidy (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*) se šíří z infikovaných struků vemene na struky vemene jiného zvířete během procesu dojení prostřednictvím kontaminovaných vložek strukových nástavců, rukou dojičů, papírových nebo látkových ručníků používaných k praní nebo sušení více než jedné krávy a případně mouchami. Ačkoli se během dojení mohou objevit nové infekce způsobené environmentálními patogeny (jiné streptokoky, jako jsou *Streptococcus uberis* či *Streptococcus dysgalactiae* a koliformní bakterie, jako jsou *Escherichia coli* a *Klebsiella*), primární expozice se zdá být mezi dojením. Koliformní infekce jsou obvykle spojeny s nehygienickým prostředím (hnůj a/nebo špinavé, mokré podmínky), zatímco *Klebsiella* se nachází v pilinách, které obsahují kůru nebo půdu. Přibližně 70-80 % koliformních infekcí se stává klinickými (abnormální mléko, otok vemene nebo systémové příznaky, které zahrnují oteklé čtvrti, vodnaté mléko, vysokou horečku, depresivní apetit nebo zvýšenou tělesnou teplotu). Environmentální patogeny jsou často zodpovědné za většinu klinických případů. Asi 50 % infekcí environmentálních streptokoků vykazuje klinické příznaky. 60-70 % infekcí environmentálních patogenů existuje méně než 30 dní a není snadné je odhalit. Období sucha je doba největší náchylnosti k novým infekcím streptokoků v životním prostředí, zejména první 1-2 týdny a poslední 7-10 dní před otelením nebo časnou laktací. Výskyt při otelení je dvakrát vyšší než při sušení. Infekce během časného období sucha jsou

kontrolovatelné antibiotickou terapií suchých krav, ale infekce v pozdním období sucha nejsou. Na Novém Zélandu je většina infekcí během období sucha a časně laktace způsobena *Streptococcus uberis*, ale *Staphylococcus aureus* dominuje během laktace. Terapie suchých krav eliminuje 70 % environmentálních streptokokových infekcí (Jones 2009).

#### 3.4.1.4 Důsledky mastitidy týkající se krav

Mastitida je i nadále ekonomicky nejzásadnější nemocí dojnic a představuje 38 % celkových přímých nákladů na běžné produkční choroby. Je velmi obtížné odhadnout ztráty spojené s klinickou mastitidou, které vyplývají z nákladů na léčbu, porážku, smrt a sníženou produkci mléka. Philpott (1984) prokázal inverzní lineární vztah mezi počtem somatických buněk (PSB) nad 200 000 buněk/ml a výtěžkem (2,5% snížení výnosu mléka pro každých 100 000 buněk/ml zvýšení PSB). Kromě výše uvedených nákladů bylo prokázáno, že klinická i subklinická mastitida nepříznivě ovlivňuje následnou plodnost (Bradley 2002).

Když se počet somatických buněk v mléce zvyšuje, dochází během klinické nebo subklinické mastitidy k významnému poklesu mléčných bílkovin a vápníku. Zánětlivé buňky a poškozené epitelální buňky uvolňují různé produkty včetně hydrolytických enzymů, jako je laktátdehydrogenáza a beta galaktosidáza. Během mikrobiálního usmrcování vedou volné radikály produkované z leukocytů k poškození epitelálních buněk mléčné žlázy s následným snížením produkce mléka. Peroxidace lipidů volnými radikály je klíčovým faktorem různých patologií tkáně mléčné žlázy včetně zánětů. Malondialdehyd je jedním z peroxidačních produktů přítomných v mléce dojnic, které lze použít k identifikaci vztahu mezi počtem somatických buněk a zánětem vemene. Některé minerální látky, včetně Zn, Cu a Se, hrají zásadní roli při zajišťování účinného tělesného růstu, snížení počtu somatických buněk v mléce a zvýšené produkci mléka. Tyto minerální látky jsou také přítomny ve vylučovaném mléce a jejich hladina je ovlivněna mastitidou (Hussain et al. 2012).

Mastitida způsobená hlavními patogeny způsobuje značné změny složení mléka (tabulka č. 2), včetně zvýšení PSB. Typy přítomných proteinů se dramaticky mění. Kasein, hlavní mléčný protein s vysokou nutriční kvalitou, klesá a zvyšuje se obsah syrovátkové bílkoviny nižší kvality, což nepříznivě ovlivňuje kvalitu mléčných výrobků, jako je výtěžnost sýra, chuť a kvalita. Sérový albumin, imunoglobuliny, transferin a další sérové proteiny přecházejí do mléka, protože se mění vaskulární permeabilita. Laktoferin, hlavní antibakteriální protein vázající železo v sekreci mléčné žlázy, zvyšuje koncentraci, pravděpodobně kvůli zvýšenému výkonu mléčné tkáně a malému příspěvku PMN. Rozklad mléčných bílkovin může nastat v mléce od krav s klinickou nebo subklinickou mastitidou v důsledku přítomnosti proteolytických enzymů. Plazmin zvyšuje proteolytickou aktivitu více než 2krát během mastitidy. Plazmin a enzymy odvozené ze somatických buněk mohou dále způsobit rozsáhlé poškození kaseinu ve vemeni před odstraněním nakaženého mléka. Zhoršení počtu mléčných bílkovin v důsledku mastitidy může pokračovat během zpracování a skladování. Mastitida zvyšuje vodivost mléka a koncentrace sodíku a chloridů jsou zvýšené. Draslík, obvykle převládající minerál v mléce, klesá. Protože většina vápníku v mléce je spojena s kaseinem, narušení syntézy kaseinu přispívá ke snížení vápníku v mléce (Jones 2009).

Tabulka č. 2 Změny v kravském mléce kvůli zvýšenému PSB dle Jones (2009)

Složka mléka	Zdravé mléko	Mastitidní mléko
	%	
Tuk	3,5	3,2
Laktóza	4,9	4,4
Celková bílkovina	3,61	3,56
Celkový kasein	2,8	2,3
Syrovátková bílkovina	0,8	1,3
Sérový albumin	0,02	0,07
Laktoferin	0,02	0,10
imunoglobuliny	0,10	0,60
sodík	0,057	0,105
chlór	0,091	0,147
draslík	0,173	0,157
vápník	0,12	0,04

#### 3.4.1.5 Náklady na mastitidu krav

V České republice představuje jedna dojnice s výskytem mastitidy ekonomickou ztrátu více jak 5 000 Kč za rok. Na této částce se podílí z více jak tří čtvrtin snížení prodeje mléka, více jak 10 % vyloučení mléka z dodávky, méně jak 10 % zvýšení nákladů na obměnu stáda a náklady na léky a léčení dojnice. V České republice postihují mastitidy přibližně 15 % dojnic ve stádě.

V Evropské unii jsou ztráty způsobené mastitidami odhadovány na 200 – 300 euro na krávu na rok. Odhad ekonomických ztrát, které jsou způsobeny mastitidami, je dosti obtížný, a proto jsou tyto ekonomické aspekty uvedeny pouze pro dojný skot, jelikož u buvolů nebyly k dispozici. Ekonomické ztráty v důsledku mastitid jsou způsobeny především snížením produkce mléka, nutností vyloučení mléka z dodávky do mlékárny, vyšším vyřazováním krav (tzn. vyššími náklady na obměnu stáda dojnic), snížením nákupní ceny mléka v důsledku snížení jeho kvality, zvyšováním nákladů na veterinární péči a léčiva, zvýšením potřeby práce. Z výše uvedených důvodů je nezbytné provádět výzkum v oblasti mastitid a poznatky ze základního výzkumu přenášet do běžné praxe, což je poměrně komplikované (konference Čapek)

V Americe stojí mastitida mlékárenský průmysl asi 1,7-2 miliardy dolarů ročně, což je 11 % celkové produkce mléka v USA. Velká část těchto nákladů je připisována snížené produkci mléka, vyřazeného mléka a náhradám, které se odhadují na 102, 24 a 33 dolarů na krávu za rok. Zřejmé náklady na léčebné léky, práci a veterinární služby jsou nízké, odhadují se na celkem 13 dolarů za krávu. Celkové náklady na mastitidu v průměrném stádě jsou přibližně 171 dolarů na krávu, což činí 18,6 milionu dolarů nákladů na mlékárenský průmysl ve Virginii

ročně. Pokud by cílem pro každé stádo bylo mít ne více než 3 případy klinické mastitidy na 100 krav za měsíc, průměrné stádo 128 krav by mohlo zvýšit roční čistý příjem o 57 dolarů na krávu, což by znamenalo celkový roční příjem stáda 7 296 dolarů. Základním principem kontroly mastitidy je, že onemocnění je kontrolováno buď snížením expozice konců struků potenciálním patogenům, nebo zvýšením odolnosti dojnic vůči infekci (Jones 2009).

#### 3.4.1.6 Důsledky mastitidy týkající se buvolů

Podobně jako v mléce kravském se s postupně zvyšující hladinou somatických buněk stává mléko více mastitidní a tudíž méně vhodné k lidské spotřebě. Tento stav zapříčinila infekce vemene způsobena mikroorganismy, a to převážně patogeny jako *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus bovis* a *Streptococcus agalictae*. Mastitidní patogeny jsou poté vylučovány společně s leukocyty ve vysokých koncentracích mlékem přímo z vemene. Napadená čtvrt vemene tedy produkuje abnormální mléko, které vykazuje jednoznačně horší vlastnosti (Dhakal et al. 2005).

Dle Cerón-Muñoz et al. (2002) byla snížena výtěžnost mléka a zároveň byly pozorovány změny mléčných komponent jako laktóza či obsah chlóru. Respektive se snížil obsah laktózy, a naopak zvýšil obsah chlóru v mastitidním mléce. Při překročení prahové hodnoty PSB 200 000 somatických buněk v 1 mL se obsah celkového proteinu markantně snížil a zároveň se snížil obsah kaseinu v mléce ku celkovému proteinu. Snížení poměru kasein/protein při vyšším PSB může být způsobeno více faktory: sníženou syntézou kaseinu, zvýšením syrovátkových bílkovin a degradací kaseinu způsobenou větší tvorbou enzymu zvaný plasmin, jehož obsah se zvyšuje v přítomnosti mastitidy. Následně byly zjištěny horší koagulační vlastnosti syřidla, konkrétněji se prodloužila doba srážení a doba tuhnutí tvarohu a zároveň se snížila jeho pevnost. Což může být způsobeno zvýšenou aktivitou některých enzymů z důvodu napadení mléčné žlázy patogeny (Tripaldi et al. 2003; Tripaldi et al. 2010).

Tabulka č. 3 Změny v buvolím mléce kvůli zvýšenému PSB dle Hussain et al. 2012

Složka mléka	Zdravé mléko		Mastitidní mléko	
	%			
Tuk	6,6		4,6	
Proteiny	4,8		4,0	
Laktóza	5,1		3,9	
Tukuprostá sušina	9,9		8,0	
Celková sušina	13,4		18,5	

### 3.5 Vliv somatických buněk na technologické vlastnosti mléka

#### 3.5.1 Syřitelnost

Již bylo zmíněno, že během mastitidy a v důsledku poškození intramamárního epitelu dochází ke snížené syntéze a sekreci některých mléčných sloučenin. Zároveň se z mléčných alveolů oddělují epitelální buňky, čímž je umožněn volný tok složek krevního séra do mléka. To může způsobit změny komponent v mléce, které mohou zapříčinit jeho rozdílné technologické vlastnosti, což může následně ovlivnit produkt z tohoto mléka vyrobený (Moradi et al. 2020).

Sýření je prvním krokem při přeměně mléka na sýr. Jde o štěpení  $\kappa$ -kaseinu chymosinem, který podporuje agregaci kaseinových micel a tvorbu gelové sítě v mléce, která se posléze stane tvarohem. Vlastnosti sýření mléka jsou definovány řadou měřítek, včetně doby tvorby gelu, pevnosti gelu, rychlosti zpevnění tvarohu a propojenost gelové sítě. Tyto vlastnosti jsou ovlivněny řadou kompozičních a fyzikálně-chemických faktorů v mléce včetně pH, celkové koncentrace sušiny, obsahu bílkovin, obsahu volného a micelárního vápníku a obsahu fosforečnanu vápenatého, který řídí stav asociace kaseinových proteinů do micelárních struktur a mechanismus agregace kaseinových micel (Liu et al. 2014).

Sýr je široce konzumovaný mléčný výrobek po celém světě a vyrábí se různými způsoby, které poskytují více vlastností jako jedinečné příchutě, textury a vůně. Použití mléka s vysokým obsahem PSB však může vést k vzniku sýrů se změněnými vlastnostmi. Obecně platí, že při výrobě sýrů existuje přímý vztah mezi kvalitou, vhodností mléka a jeho PSB. Například použití mléka s vysokým obsahem PSB může negativně ovlivnit koagulaci, zrání, konečný výnos, chemické složení, celkovou strukturu a vývoj neobvyklých chutí sýra. Také stojí za to zdůraznit, že několik zpráv ukázalo významné protichůdné výsledky o skutečné funkci SB v procesu výroby sýra. Důvody rozdílného chování mléka s vysokým PSB na jakost sýrů souvisejí především s vlastnostmi mléka každého druhu, úrovní SB, typem sýra a procesem výroby sýra.

Vlastnosti koagulace mléka jsou důležité pro kontrolu kvality při výrobě sýrů, pro předvídání potenciálních anomálií během zpracování i v konečném produktu a také pro nepřímé předvídání výtěžnosti sýra. Syřidlové a primární startovací kultury se podílejí hlavně na tvorbě tvarohového tvarohu. Rozsáhlé změny ve složení mléka, například v mléce s vysokým obsahem PSB, by mohly významně ovlivnit funkci syřidla a startovací kultury, což by následně narušilo koagulaci mléka. SB jsou koncentrovány v tvarohu, protože v syrovátce bylo pozorováno významné snížení PSB při výrobě kozího sýra v závislosti na procesu výroby sýra, což může ovlivnit vlastnosti sýra (Moradi et al. 2020).

Je dobře známo, že doba srážení syřidla a doba zpevnění ovčího mléka se významně zvyšují s vyšším PSB. Pevnost tvarohu na druhé straně vykazuje opačný trend, zvláště když je pozorován pokles obsahu kaseinu. Bylo však zjištěno, že pokud jsou stejné parametry srážení měřeny v mléce s různými hodnotami PSB, ale se standardizovanou hodnotou pH mléka na 6,50, rozdílly se významně zmenšily. Doba srážení a doba zpevnění tvarohu zůstaly vyšší u mléka s vyšším PSB, ale ne významně, zatímco pevnost tvarohu byla výrazně nižší u mléka s vyšším PSB.

Pokud jde o kozí mléko, nebyl zjištěn žádný vliv zvýšeného PSB, ať už na pH mléka nebo na vlastnosti syřidla (doba koagulace syřidla, rychlost zpevnění a pevnost tvarohu (Raynal-Ljutovac et al. 2007).

Vliv PSB na vlastnosti ovčího mléka a jakost sýřeniny je sumarizován v Tabulce č. 4. Z této tabulky především vyplývá, že změna PSB měla průkazný vliv na pH a TK, nicméně na druhou stranu změny v PSB neměly průkazný vliv na syřitelnost a jakost sýřeniny. Průkazně nejvyšší pH mléka 6,82 bylo zjištěno v mléce s nejvyšším PSB, nicméně u ostatních skupin bylo pH mléka poměrně vysoce vyrovnané a pohybovalo se v rozmezí od 6,62 do 6,70. Právě zvýšení pH, vlivem vysokého PSB, bylo pravděpodobně způsobené přestupem součásti krve do mléka. Titrační kyselost mléka se snižovala z 10,10 °SH na 8,66 °SH v závislosti se zvyšujícím se PSB. Doba syřitelnosti mléka byla poměrně vyrovnaná a konkrétně se pohybovala v rozmezí od 186 do 257 sekund, přičemž nejdelší doba sýření byla zjištěna u skupiny s nejvyšším PSB. Naproti tomu nejkratší doba srážení byla zjištěna u skupiny s druhým nejvyšším PSB. Co se týká jakostní třídy (JS), její hodnoty se pohybovaly v rozmezí tříd od 2,28 do 1,90, když nejlepší JS byla zjištěna u mléka, jež obsahovalo od 51 000 do 100 000 SB v 1 ml mléka. Naproti tomu nejhorší jakost sýřeniny (třída) byla paradoxně zjištěna u skupiny, jejíž mléko obsahovalo nejnižší PSB.

Je tedy třeba doplnit, že v případě této studie byly sledované bahnice na první laktaci a byly chovány ve velmi kvalitních podmínkách a po celou dobu sledování byly v dobrém zdravotním a výživném stavu. Na základě těchto skutečností hodnoty PSB pohybovaly na velmi nízké úrovni, většina vzorků mléka obsahovala méně jak 200 000 SB v 1 ml mléka, tudíž nelze předpokládat, že by se při tak nízkém PSB projevil vliv počtu somatických buněk na syřitelnost a jakost sýřeniny (Novotná et al. 2006).

Tabulka č. 4 Vliv PSB na složení ovčího mléka dle Novotná et al. (2006)

Skupina PSB	n	PH	TK (°SH)	Syřitelnost (s)	JS (třída)
0-10 tis. Sb/ mL	16	6,70	10,10	228	2,28
11-50 tis. Sb/mL	16	6,70	9,73	227	2,20
51-100 tis. Sb/mL	10	6,63	9,53	227	1,90
101-200 tis. Sb/mL	7	6,62	9,36	186	2,21
201 tis. a více Sb/mL	7	6,82	8,66	257	2,07

n = počet dojených zvířat; TK = titrační kyselost; JS = jakostní třída

### 3.5.2 Fermentabilita

Zakysané mléčné výrobky tvoří velmi širokou kategorii. Jedná se vesměs o mléčné výrobky, u kterých byla část mléčného cukru laktózy přeměněna účinkem nejčastěji bakterií mléčného kvašení na kyselinu mléčnou a vlivem zvýšené kyselosti přitom došlo k vysrážení bílkovin. Fermentace mléka je jedním příkladů prodloužení trvanlivosti výrobků biologickou

konzervací. Podle použité suroviny, druhu bakteriálních kultur, popřípadě dalších přísad a technologických kroků je možné zakysané mléčné výrobky dělit na kysané či zakysané mléčné výrobky jako například kysané mléko, smetanový zákys, zakysané podmásli, zakysaná smetana, kysané mléčné nápoje; dále je dělíme na acidofilní mléka; jogurty včetně jogurtového mléka; keфіry; keфіrová mléka a kysaný mléčný výrobky s bifidokulturou (Kopáček 2014; vyhláška č.397/2016 Sb.).

Je všeobecně známo, že nízký počet somatických buněk v mléce pozitivně ovlivňuje růst startovací kultury, zatímco vysoká hodnota PSB může prodloužit fermentační proces až o 2–4 hodiny, v některých případech dokonce i zastavit. Tyto výsledky mají význam pro výrobu sýrů a jiných fermentovaných výrobků vyrobených z pasterizovaného mléka (Lindmark-Mannsson et al. 2000).

V pasterovaném mléce s vysokým PSB byl pozorován nárůst volných mastných kyselin, to poté vede ke zvýšenému žluknutí těchto volných mastných kyselin, což má za následek nepříjemnou chuť. Zároveň dochází v mléce s vysokým PSB k zvýšené hydrolyze kaseinu a tato rozsáhlá proteolytická reakce může vést k akumulaci malých hydrofobních peptidů v mléce, což způsobuje následnou hořkost fermentovaného výrobku (Maréchal et al. 2011).

Bylo zjištěno, že zvýšená hodnota PSB má malý vliv na jogurt z kravského mléka, nicméně u jogurtu z ovčího mléka s hodnotou PSB až 3 000 000 buněk·ml<sup>-1</sup> může způsobit špatný vývoj chuti. Pokud jde o jogurty z kravského mléka, nezdá se, že by hladina PSB výrazně ovlivňovala pH a titrační kyselost, obsah tuku a bílkovin nebo mikrobiologické vlastnosti. Naopak, pH ovčího jogurtu s vysokým obsahem PSB se během fermentace snižovalo mnohem rychleji (když je PSB nad 3 000 000 buněk·ml<sup>-1</sup>) a bylo výrazně nižší po 15 dnech skladování. Použití kravského mléka obsahujícího méně než 400 000 buněk·ml<sup>-1</sup> umožnilo, aby byl jogurt skladován po dobu 30 dnů bez zjištění organoleptických změn. Naopak kravský jogurt s vysokým obsahem PSB se vyznačuje ztrátou konzistence po 20 dnech skladování při teplotě 5 °C a poklesem chuti po 30 dnech skladování při teplotě 5 °C. Stejným způsobem se během skladování zvýšila viskozita jogurtů vyrobených z mléka s vysokým obsahem PSB, zatímco u jogurtů vyrobených z mléka s nízkým obsahem PSB nebyla pozorována žádná podobná změna. Kromě vlivu na chuť a trvanlivost nebyla pozorována žádná korelace mezi vzhledem a vůní a hladinou PSB. Kromě toho se v mastitidním mléce snižuje aktivita a růst startovací kultury. Mléko s vysokým obsahem PSB (>400 000 buněk·ml<sup>-1</sup>) prodloužilo fermentační proces až o 2 až 3 hodiny. Mikroorganismy jako startovací kultury produkující kyselinu mléčnou jsou poté více ovlivněny antimikrobiálními složkami produkovanými během mastitidy než mikroorganismy produkující aroma (nesterterové dozrávající kultury). Účinek vysokého PSB však může záviset na druhu použité kultury, protože okyselující aktivita *Streptococcus thermophilus* je zvýšena, zatímco aktivita *Lactobacillus acidophilus* je inhibována (Maréchal et al. 2011).

Například při výrobě jogurtového nápoje z kravského mléka zvaný ayran byly pozorovány určité rozdíly v rychlosti acidifikace mezi mlékem s vysokým PSB a oproti mlékům s nízkým PSB. Mléko s vysokým PSB vykazovalo pomalejší rychlost acidifikace až do druhé hodiny koagulace ve srovnání se ostatními vzorky. Tyto údaje ukázaly, že během prvních dvou

hodin koagulace může mít vyšší počet somatických buněk v mléce inhibiční účinek na vývoj bakterií mléčného kvašení ze startovací kultury. To lze připsat vyšší citlivosti kultury *Lactobacillus bulgaricus* na inhibiční faktory v životním prostředí. To by mohlo být důvodem pro delší prodlevu startovací mikroflóry ayranu, která určovala pomalejší okyselení během prvních dvou hodin koagulace. Nicméně navzdory pozorovanému počátečnímu zpoždění fermentačního procesu v mléce s vysokými PSB byla rychlost acidifikace po druhé hodině koagulace značně zrychlena a na konci procesu měla tato mléka hodnoty pH a koncentraci kyseliny mléčné podobné jako u ostatních zkušebních vzorků. Doba koagulace mléka pro všechny vzorky byla 4 hodiny (Ivanova et al. 2020).

### 3.5.3 Termostabilita

Termostabilita je schopnost mléka odolat vysokým teplotám bez viditelné koagulace či gelovatění. Vyjadřuje se jako čas, za který došlo ke sražení mléka při 140 °C. Jedná se o důležitou vlastnost, která je důležitým parametrem při hodnocení kvality syrového mléka, a to zejména při ošetření mléka pasteračním nebo sterilačním záhřevem, kterým je mléko vystaveno během jeho procesního zpracování. Termostabilitu ovlivňuje mnoho faktorů: pH mléka, obsah solí, močoviny, laktózy, obsah a složení proteinů a další (laktace, zdraví dojnice nebo roční období) (Chramostová et al. 2003).

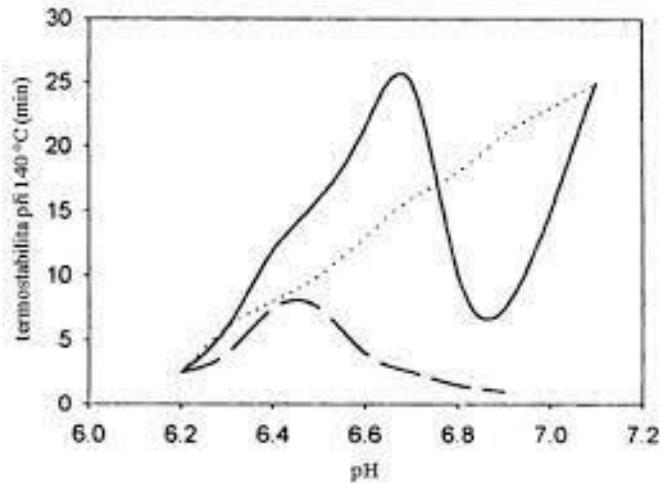
Schopnost mléka odolat vysokoteplotním ošetřením bez ztráty stability je poměrně jedinečná a umožňuje výrobu mnoha sterilizovaných mléčných výrobků s dlouhou trvanlivostí. Mezi tyto produkty patří UHT mléko a smetana, sterilizovaná mléka v plechovkách, odpařené mléko, slazené kondenzované mléko a sušené mléko, zejména ty, které jsou určeny k rekonstituci a rekombinaci do sterilizovaných výrobků (tepelně stabilní prášky). Značné znalosti o tepelné stabilitě mléka umožnily relativně snadno vyřešit většinu praktických problémů manipulací se zpracovatelskými a kompozičními proměnnými.

Z průmyslového hlediska byla tepelná stabilita mléka normální koncentrace zředka problémem. V posledních letech však bylo na trh uvedeno mnoho nových tekutých mlék, obohacených vysokým množstvím vápníku, hořčíku a zinku, kakaa a čajových extraktů. Vzhledem k tomu, že mnoho z těchto přísad má negativní vliv na tepelnou stabilitu, vyžadují tyto výrobky velmi pečlivou manipulaci s formulací, aby bylo dosaženo požadované tepelné stability a je často obtížné dosáhnout požadované trvanlivosti tepelné stability. Některé problémy týkající se tepelné stability koncentrovaného mléka, zejména plnotučného homogenizovaného rekombinovaného odpařeného mléka, zůstávají nevyřešeny. Tyto problémy souvisejí převážně se sezónními výkyvy a změnami tepelné stability mezi jednotlivými šaržemi. Praktická řešení problémů s tepelnou stabilitou zahrnují následující: manipulace s předeřívacími úpravami, přizpůsobení přirozeného pH mléka maximální tepelné stabilitě, přidání různých úrovní fosfátů, přidání podmásli a fosfolipidů na vhodné úrovni, kombinace výše uvedených ošetření (Singh 2004).

Jeden z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících termostabilitu je tedy pH. Z hlediska závislosti termostability na pH je možné mléka rozdělit do dvou skupin, a to na tzv. mléka typu A a B. Jak můžeme vidět na obrázku č. 6 vykazuje mléko typu A při pH kolem 6,7 maximální



hodnoty termostability a při pH kolem 6,9 naopak minimální hodnoty. Naproti tomu termostabilita mléka typu B pozvolna roste s rostoucím pH. Úpravou složení mléka lze dosáhnout konverze mezi oběma typy. V případě změny z typu A na typ B se jedná např. o snížení koncentrace anorganického fosfátu. Ke změně z typu B na typ A dochází například po přidavku dvojmocných kationtů vápníku či předeřtání mléka na 80 °C po dobu 30 minut (Chramostová et al. 2003).



Obrázek č. 6 Závislost termostability na pH dle Chramostová et al. (2003)

———— A mléko; ..... B mléko; - - - - - A mléko 3x zahuštěné

Termostabilitu mléka ovlivňuje i obsah koloidního kalcium fosfátu, který má zásadní roli pro stabilitu kaseinových micel, a tedy i termostabilitu mléka. Bylo zjištěno, že odstranění 40 % kalcium fosfátu zvýší termostabilitu v rozmezí pH 6,4 - 7,4 a odstranění 60 - 100 % kalcium fosfátu zvýší termostabilitu při pH 6,4 - 7,0, ale naopak zhorší termostabilitu při pH vyšším než 7,1. Vliv má i obsah rozpustných solí. Mléko s nižším poměrem celkového vápníku a fosforu (1,37 - 1,75) vykazuje vyšší hodnoty termostability. Syrovátkové bílkoviny ovlivňují termostabilitu v celém rozmezí pH, přičemž při zvýšení jejich obsahu dochází ke zhoršení termostability mléka. Přidáním jednotlivých syrovátkových bílkovin, konkrétně  $\beta$ -laktoglobulinu, je možné docílit konverze mléka typu B na typ A. I obsah kaseinu má vliv na termostabilitu mléka. Zvýšením koncentrace  $\kappa$ -kaseinu dochází ke konverzi mléka typu A na B. Ostatní typy kaseinu ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ) mají menší vliv na stabilitu mléka. Mezi další faktory, které jsou schopné ovlivnit termostabilitu mléka, patří i obsah močoviny. Zvýšení její koncentrace o přibližně 6 mmol/L má za následek zvýšení termostability mléka, avšak vysoké koncentrace močoviny již nemají na termostabilitu žádný vliv. Dalším významným faktorem je laktóza, při zvýšení její koncentrace na přibližně 150 % dochází ke snížení termostability u typu A v celém rozsahu pH a minimální hodnoty se posunou do alkaličtějšího pH (Chramostová et al. 2003).

Pokud jde o UHT ošetření kozího mléka, tak bylo zjištěno, že zvýšení obsahu syrovátkových bílkovin spojené s velmi vysokým PSB by mohlo způsobit určité problémy. U kravského mléka způsobily biochemické změny způsobené vysokým PSB nižší tepelnou stabilitu mléka. Vzhledem k dlouhým dobám skladování (asi 3 měsíce) lze u tohoto typu mléka pozorovat vliv proteolýzy vyvolané vysokým PSB (působením plazminu) a to následně způsobí

tvorbu gelové sítě mléka. Dále bylo zjištěno, že aktivátor plazminogenu je tepelně stabilní a že jeho sedimentace probíhá především v kravském mastitidním mléce. Některé technologické úpravy, jako je mikrofiltrace, mohou umožnit eliminaci účinků somatických buněk a tím omezit účinky plazminogenu (Raynal-Ljutovac et al. 2007).

Proteolýza v mléce může být způsobena proteázami obsaženými v somatických buňkách, nativními proteázami (především plazminem) a proteázami produkovanými psychrotrofními bakteriemi během skladování syrového mléka. Tato přirozeně se vyskytující alkalická proteináza je v mléce spojena s kaseinovými micelami a je také přítomna v membráně globulí mléčného tuku. Existuje v syrovém mléce jak ve své aktivní formě (plazmin), tak ve své enzymaticky neaktivní prekurzorové formě, plazminogenu, v poměru mezi 50:1 a 2:1 (plazminogen: plazmin). Syrové mléko obvykle obsahuje přibližně 0,3 mg l<sup>-1</sup> plazminu a až devětkrát více plazminogenu. Plazmin je generován z plazminogenu a tato konverze je výraznější u mléka s vysokým PSB. Některé výsledky studií ukázaly, že plazminogen je neustále přeměňován na plazmin v UHT mléce během skladování, což by mohlo vysvětlit proteolytickou aktivitu nalezenou v hodnocených UHT mlécích.

Bylo zjištěno, že (nepřímo) ošetřená UHT mléka s vysokým a nízkým obsahem PSB měla velmi malou zbytkovou plazminovou aktivitu a nízkou tendenci ke tvorbě gelu. Nicméně s přidaným plazminogenem začalo mléko s vysokým i nízkým obsahem PSB vykazovat gelaci, která byla výraznější u mléka s vysokým obsahem PSB. To dospívá k závěru, že nízké hladiny plazminu, vyplývající z aktivace plazminogenu zvýšenou hladinou aktivátoru plazminogenu v mléce s vysokým obsahem PSB, byly zodpovědné za tuto zvýšenou gelaci (Talukder & Manir Ahmed 2017).

## 4 Závěr

Mléko je obecně považováno za velmi důležitou a celosvětově využívanou potravinu. Právě s rostoucí populací jeho popularita značně vzrostla, jelikož mléko obsahuje spoustu nutričně významných látek, které přispívají k správnému fungování lidského organismu. Aby bylo mléko a výrobky z něj vhodné k lidské spotřebě, musí splňovat určité parametry kvality jako je: počet somatických buněk (PSB), počet kolonie tvořících jednotek mikroorganismů (CPM), nesmí obsahovat rezidua inhibičních látek jako jsou například antibiotika. Teprve až poté se mléko upravuje a dále zpracovává na různé produkty.

V této bakalářské práci bylo nejprve popsáno základní složení mléka a byly konkrétně vysvětleny důležité nutriční vlastnosti jednotlivých mléčných komponent a jejich přínos pro lidskou výživu a zdraví.

Dále bylo vymezeno, co jsou somatické buňky a proč jsou důležité jako jeden z indikátorů zánětu vemene přežvýkavců. Byli zde popsány i maximální přípustné limity počtu somatických buněk v 1 mL mléka pro vstup do mlékárenského průmyslu u různých druhů přežvýkavců a v různých zemích. Tyto limity byly u kravského mléka dle mého názoru v zemích jako je například Kanada či USA velmi vysoké a výrazně překračující maximální povolené limity dle EU (tzn. 400 000 somatických buněk v 1 mL mléka). Přičemž mléko s počtem somatických buněk nad 200 000/1mL už může indikovat počátek infekce vemene. Co se týče ovčího a kozího mléka, tak u nich dokonce ani nebyli ve většině států nastaveny žádné horní hranice PSB. U malých přežvýkavců dokonce ani nejsou tak početné výzkumy týkající se počtu somatických buněk, jako je tomu u krav či buvolů, což by se dle mne mělo napravit a to už jen z důvodu bezpečnosti zpracování těchto druhů mlék na potraviny pro běžnou konzumaci.

V dalších kapitolách byla porovnána rozdílná složení mléka u různých druhů přežvýkavců vůči mléku kravskému a je nutné podotknout, že každé z porovnávaných mlék vykazovalo specifické vlastnosti typicky charakteristické pro dané mléko zvířete. Především byly jak slovně, tak graficky popsány rozdílné prvky buvolího mléka oproti kravskému. Z hlediska základních mléčných komponent vykazovalo buvolí mléko až o 4 % větší podíl sušiny než u kravského mléka. Sušina buvolího mléka obsahovala především větší podíl bílkovin (o 1,2 % více) a tuku (o 4,2 % více). Obsah laktózy a minerálních látek byl u buvolího i kravského mléka téměř totožný. Dále bylo zjištěno, že tukové kuličky a kaseinové micely byly znatelně větší v buvolím mléce než tomu bylo u mléka kravského. Díky těmto zjištěným faktům lze jednoznačně potvrdit vyšší kvalitu a nutriční hodnotu buvolího mléka oproti kravskému.

Následně byla popsána taxonomie a důležitost vodního buvola (*Bubalus bubalis*) ve světě, také zde bylo nastíněno téma, proč jsou buvoli považováni za odolnější zvířata než krávy vůči různým nemocem a parazitům. U buvolů byly pozorovány případy napadení chorobami či parazity stejně jako je tomu u jiných přežvýkavců, nicméně u nich byly pozorovány menší dopady těchto napadení. To mohlo být způsobeno nižší hygienou chovu buvolů, jelikož jsou buvoli zvyklejší na špinavější chov a drsnější podmínky, než je tomu u krav. Dále na to mohlo mít vliv to, že buvoli nejsou prozatím prošlechtěni v takové míře, jako je tomu u krav. V tomto směru bych doporučil provést další výzkum, jelikož chov buvolů se v poslední době ukázal jako ekonomicky velmi výhodný z hlediska mnoha pozitivních vlastností produktů vyráběných z

buvolů. Další cesta, kterou by se mohl výzkum buvolů ubírat, by měla být soustředěna na zlepšení reprodukce a lepší podmínky pro zvýšení míry přežití buvolích telat, jelikož dle Michelizzi et al. (2010) byly toto jedny z největších potíží při chovu buvolů.

Dále byl popsán hlavní faktor ovlivňující počet somatických buněk v mléce přežvýkavců a to zánět vemene nebo-li mastitida. Se zvyšujícím počtem somatických buněk nastaly nevratné změny v mléce, které zhoršili jeho kvalitu. Šlo především o napadení vemene přežvýkavců různými patogeny, které se do struku vemene dostali z okolního prostředí, což je dle mého názoru výsledkem špatné hygieny chovu či techniky dojení. Při napadení struku patogeny mohlo dojít hned k několika faktorům podporujících rozvoj mastitidy. Mezi ně by se daly zařadit například tyto faktory: zvířata neměla dost prostoru pro pohyb a byla stísněna jedno na druhé, přičemž se jejich struky pohybovali blízko sebe a došlo ke kontaktu a přenosu patogenů; struky museli být příliš namáhány při dojení; struk byl špatně ošetřen po dojení; dojící zařízení nemuselo být řádně desinfikováno nebo byl na otírání struků použit stejný hadr u více zvířat. Všem těmto faktorům lze předejít investováním více peněz v chovech přežvýkavců na zlepšení hygieny a prevenci mastitid (například vynaložit více zdrojů na mastitidní testy), v neposlední řadě také lepším proškolením zaměstnanců farem, aby se zabránilo či alespoň omezilo působení mastitid ve stádech přežvýkavců.

V neposlední řadě byly zjištěny negativní změny, které zhoršovaly technologické vlastnosti mléka s vysokým PSB. Parametry jako syřitelnost, fermentabilita a termostabilita jsou velmi důležité pro zpracování mléka na mléčné produkty, které v dnešní době konzumují lidé po celém světě v hojných počtech. Proto zhoršení těchto parametrů způsobené vysokým PSB představuje problémy pro výrobce potravin, kteří z tohoto mléka chtějí vyrábět své produkty. Výroba je díky vyšším hodnotám PSB nějakým způsobem znevýhodněna oproti produktům ze zdravého mléka s nízkým PSB, ať už se jedná o prodloužení výroby či prodloužení zrání těchto výrobků. Mohou dokonce nastat i nevratné změny ve výrobku s vysokým PSB, které negativně ovlivní jeho sensoriku a také skladovací dobu.

## 5 Literatura

Abd El-Salam, M. H., & El-Shibiny, S. 2011. A comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. In *Dairy Science and Technology* **91**: 663-699.

<https://doi.org/10.1007/s13594-011-0029-2>

Ahmad, S., Anjum, F. M., Huma, N., Sameen, A., & Zahoor, T. 2013. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences* **23**: 62-74

Alhussien, M. N., & Dang, A. K. 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. In *Veterinary World* **11**: 562-577. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.562-577>

Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrão, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili, N., Mortazavian, A. M., Nascimento, J. S., Silva, M. C., Freitas, M. Q., Sant'Ana, A. S., Granato, D., & Cruz, A. G. 2017. Sheep Milk: Physicochemical Characteristics and Relevance for Functional Food Development. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **16**: Issue 2. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12250>

Bhosale RR, Osmani RA, Ghodake PP, Shaikh SM. 2014. Mastitis: An Intensive Crisis in Veterinary Science. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences Vol. 2*: 96-103

Bradley, A. J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *Veterinary Journal* **164**: 166-128. <https://doi.org/10.1053/tvj.2002.0724>

Cazacu, S., Rotsios, K., & Moshonas, G. 2014. Consumers' Purchase Intentions towards Water Buffalo Milk Products (WBMPs) in the Greater Area of Thessaloniki, Greece. *Procedia Economics and Finance* **9**: 407-416. [https://doi.org/10.1016/s2212-5671\(14\)00042-2](https://doi.org/10.1016/s2212-5671(14)00042-2)

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. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74376-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74376-2)

Claeys, W. L., Verraes, C., Cardoen, S., de Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., & Herman, L. 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. In *Food Control* **42**: 188-201. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.045>

Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Sneddon, N. W., Shalloo, L., Franzoi, M., de Marchi, M., & Penasa, M. 2019. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **102**: 5883-5898. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15955>

- 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. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18009>
- Čapek M, Sláma P, Pavlík A, Turková L. 2010. Mastitis and economical losses in dairy farms. Pages 41-43 in Pavlík A, Sláma P, Škarpa P, editors. *Animal psychology: Proceedings of International Conference*. Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Valtice, Czech republic.
- Dhakai, I. P. 2006. Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health* **53**: 81-86. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00918.x>
- Dogan, Y.N., Duz, M., Dogan, I., Gurler, Z. 2020. The Relation between Biochemical Parameters, Milk Amyloid A, Somatic Cell Count, and Some Pathogens in Buffalo Milks. *KSU Journal of Agriculture and Nature* **23**: 1379-1385.
- Ebringer, L., Ferencík, M., & Krajčovič, J. 2008. Beneficial health effects of milk and fermented dairy products - Review. *Folia Microbiologica* **53**: 378-394. <https://doi.org/10.1007/s12223-008-0059-1>
- Feng, L. , Yuxia, Ch. , Zichen, W., Zipeng, L., Ahmad, M.J., Ming, L., Tengyun, G., Shenhe, L. 2021. The Effect of Exogenous Melatonin on Milk Somatic Cell Count in Buffalo. *Pakistan Veterinary Journal* **41**: 152-155. DOI: 10.29261/pakvetj/2020.074
- Gantner, V., Mijić, P., Baban, M., Škrtić, Z., & Turalija, A. 2015. The overall and fat composition of milk of various species. In *Mljekarstvo* **65**: 223-231. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0401>
- Garau, V., Manis, C., Scano, P., & Caboni, P. 2021. Compositional Characteristics of Mediterranean Buffalo Milk and Whey. *Dairy* **2**: 469-488. <https://doi.org/10.3390/dairy2030038>
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. 2007. Bovine milk in human nutrition - A review. In *Lipids in Health and Disease* **6**: 25. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Horne, D. S. 2016. Casein: Micellar Structure (Dual-Binding Model). In *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00942-2>
- Hussain, R., Javed, M. T., & 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**:2074-7764.
- Chen, S. X., Wang, J. Z., van Kessel, J. S., Ren, F. Z., & Zeng, S. S. 2010. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. *Journal of Dairy Science* **93**: 1345-1354. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2366>

- Chramostová J, Vrzáková Z, Němečková I, Čurda L. 2014. Termostabilita mléka a faktory, které ji ovlivňují. *Mlékařské listy* **146**:14-17
- Ivanova, I., Uzatici, A., Bilgoue, E., Balabanova, T., & Ivanov, G. 2020. Effect of somatic cells count of raw cow milk on the fermentation process and quality of ayran. *Food Science and Applied Biotechnology* **3**: 1-8. <https://doi.org/10.30721/fsab2020.v3.i1.73>
- Jones, G. M. 2009. Understanding the Basics of Mastitis. Virginia State University, USA **404**: issue 233.
- Khan, I. T., Nadeem, M., Imran, M., Ayaz, M., Ajmal, M., Ellahi, M. Y., & Khaliq, A. 2017. Antioxidant capacity and fatty acids characterization of heat treated cow and buffalo milk. *Lipids in Health and Disease* **16**: issue 163. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0553-z>
- Kopáček J. 2014. Složení a vlastnosti kravského mléka a jeho význam ve výživě. Pages 4-7 in Michalová I, editor. Jak poznáme kvalitu? Mléko a mléčné výrobky. Sdružení českých spotřebitelů, z. ú. a Potravinářská komora ČR, Počernická 96/272; 108 03 Praha 10 – Malešice.
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., & Gagnaire, V. 2014. Role of somatic cells on dairy processes and products: A review. In *Dairy Science and Technology* **94**: 517-538. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0176-3>
- Lindmark-Månsson, H., Svensson, U., Paulsson, M., Aldén, G., Frank, B., & Johnsson, G. 2000. Influence of milk components, somatic cells and supplemental zinc on milk processability. *International Dairy Journal* **10**: 423-433. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00081-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00081-9)
- Liu, Z., Juliano, P., Williams, R. P. W., Niere, J., & Augustin, M. A. (2014). Ultrasound improves the renneting properties of milk. *Ultrasonics Sonochemistry* **21**: 2131-2137. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.034>
- Maréchal, C. le, Thiéry, R., Vautor, E., & Loir, Y. le. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-A review. In *Dairy Science and Technology* **91**: 247-282. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0009-6>
- Ménard, O., Ahmad, S., Rousseau, F., Briard-Bion, V., Gaucheron, F., & Lopez, C. 2010. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chemistry* **120**: 544-551. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.053>
- Michalski, M. C., Cariou, R., Michel, F., & Garnier, C. 2002. Native vs. damaged milk fat globules: Membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *Journal of Dairy Science* **85**: 2451-2461. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74327-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74327-0)
- Michelizzi, V. N., Dodson, M. v., Pan, Z., Amaral, M. E. J., Michal, J. J., McLean, D. J., Womack, J. E., & Jiang, Z. 2010. Water buffalo genome science comes of age. In *International Journal of Biological Sciences* **6**: 333-349. <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.333>

Ministerstvo Zemědělství. 2016. Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Těšnov 65/17 Praha 1, Nové Město 110 00. Č. 397/2016 Sb.

Mohapatra, A., Shinde, A. K., & Singh, R. 2019. Sheep milk: A pertinent functional food. In *Small Ruminant Research* **181**. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>

Moradi, M., Omer, A. K., Razavi, R., Valipour, S., & Guimarães, J. T. 2021. The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: A review. In *International Dairy Journal* **113**. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104884>

Moroni, P., Rossi, C. S., Pisoni, G., Bronzo, V., Castiglioni, B., & Boettcher, P. J. 2006. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. *Journal of Dairy Science* **89**: 998-1003. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72165-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72165-8)

Novotná L, Kuchtík J, Dobeš I, Šustová K, Zajícová P. 2007 Vliv počtu somatických buněk složení a vlastnosti ovčího mléka a na jakost sýřeniny. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendeliana brunensis*. **2**: 59-64

Park WP. 2009. Overview of Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Page 3 in Park WP editor. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA.

Park WP. 2009. Bioactive Components in Goat Milk. Pages 43-81 in in Park WP editor. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA.

Patbandha, T. K., Marandi, S., Ravikala, K., Pathak, R., Maharana, B. R., & Murthy, K. S. 2015. Association of milk components with intra-mammary inflammation in Jaffrabadi buffaloes. *Veterinary World* **8**: issue 8. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.989-993>

Pyörälä, S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. In *Veterinary Research* **34**: 565-578. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003026>

Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., de Crémoux, R., & Gonzalo, C. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research* **68**: 126-144. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.012>

Recio I, Fuente MA, Juárez M, Ramos M. 2009. Bioactive Components in Sheep Milk. Pages 83-104 in Park Wp editor. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA.

Restucci, B., Dipineto, L., Martano, M., Balestrieri, A., Ciccarelli, D., Russo, T. P., Varriale, L., & Maiolino, P. 2019. Histopathological and microbiological findings in buffalo chronic mastitis: Evidence of tertiary lymphoid structures. *Journal of Veterinary Science* **20**: issue 3. <https://doi.org/10.4142/jvs.2019.20.e28>



Sel, V., Yilmaz, I., & Yanar, M. 2020. Some factors affecting the somatic cell count in the milk of anatolian water buffalos (*Bubalus bubalis*) raised in Igdir Province. *Pakistan Journal of Zoology* **52**: 1225-1230. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20180919120921>

Séverin, S., & Wenshui, X. 2005. Milk biologically active components as nutraceuticals: Review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**: 645-656. <https://doi.org/10.1080/10408690490911756>

Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **24**: 429-438. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>

Schaafsma, G. 2008. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. In *International Dairy Journal* **18**: 458-465. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.11.013>

Singh, H. 2004. Heat stability of milk. *International Journal of Dairy Technology* **57**: issue 2-3. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00143.x>

Stergiadis, S., Nørskov, N. P., Purup, S., Givens, I., & Lee, M. R. F. 2019. Comparative nutrient profiling of retail goat and cow milk. *Nutrients* **11**: issue 10. <https://doi.org/10.3390/nu11102282>

Stocco, G., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Zanini, L., Vairani, D., Dadousis, C., & Zecconi, A. 2020. Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. *Animals* **10**: issue 5. <https://doi.org/10.3390/ani10050753>

Talukder, M., & Ahmed, H. M. 2017. Effect of somatic cell count on dairy products: a review. *Asian Journal of Medical and Biological Research* **3**: 1-9. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v3i1.32030>

Tripaldi, C., Terramoccia, S., 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. <https://doi.org/10.5713/ajas.2003.738>

Tripaldi C. 2005. Buffalo milk quality. Pages 173-183 in Borghese A, editor. Buffalo production and research. Food and agriculture organization of the United nations. Istituto Sperimentale per la Zootecnia Via Salaria, 31 - 00016 Monterotondo, Roma (Italy).

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. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90618>

Online 1 <http://www.sci-news.com/genetics/river-buffalo-genome-05373.html>

Online 2 <https://en.wikipedia.org/wiki/Bubalus>