

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Vliv suplementace *Chlorella* sp. na profil mastných kyselin  
kravského mléka**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Lenka Dědinová**

**Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková**

**© 2015 ČZU v Praze**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv suplementace *Chlorella* sp. na profil mastných kyselin kravského mléka" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

---

## Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat Ing. Miroslavě Potůčkové za odborné vedení a pomoc při zpracování diplomové práce. Také bych chtěla poděkovat Mikrobiologickému ústavu AV ČR a ZS Dublovice a.s. za umožnění veškerých pokusů a především své rodině za podporu během studia.

# Vliv suplementace *Chlorella* sp. na profil mastných kyselin kravského mléka

## Souhrn

Mléčný tuk obsahuje vysoký podíl nasycených mastných kyselin, část z tohoto podílu tvoří kyseliny s krátkým řetězcem, které jsou snadno stravitelné. Avšak nasycené mastné kyseliny jsou látky, které mohou způsobit při vyšší spotřebě onemocnění srdce a cév. Nenasycené mastné kyseliny jsou v mléce zastoupeny monoenoovými (MUFA) a polyenoovými (PUFA) kyselinami. Nenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem  $n-6$  i  $n-3$  jsou potřebné pro syntézu tkáňových mediátorů, které se uplatňují v procesu srážení krve, regulaci tonu cévní stěny či v zánětlivé reakci jako obraně organismu na poškození tkání. PUFA jsou pro lidský organismus esenciální a musí být přijímány ve výživě. Množství lipidů a zastoupení mastných kyselin v mléce je relativně snadno ovlivnitelné výživou dojnic. Jedním ze způsobů, jak zvýšit obsah MUFA a PUFA v mléčném tuku, je použití zdrojů olejů s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin. Řasy mají polyenové mastné kyseliny zapouzdřeny v buňkách a jsou chráněny buněčnými membránami, které dokážou přežvýkavci rozštěpit díky bachorové mikroflóře. Cílem této diplomové práce bylo charakterizovat vliv suplementace krmné dávky dojnic o zelené řasy *Chlorella* sp. na profil mastných kyselin mléka. Byly porovnávány profily mastných kyselin mléka kontrolní (standartní krmná dávka) a experimentální (krmná dávka obohacena přídavkem *Chlorella* sp. v množství 1,5 % hm. celkové sušiny krmiva) skupiny 5 zvířat. Experimentální perioda probíhala po dobu 5 týdnů. Bylo zjištěno, že po 2 týdnech pokusu došlo u experimentální skupiny ke snížení množství nasycených mastných kyselin s dlouhými řetězci, kyseliny palmitové a stearové. Zároveň došlo ke zvýšení obsahu konjugované kyseliny linolové. Rozdíly však nebyly statisticky prokazatelné ( $\alpha > 0,05$ ). Po 16 dnech pokusu byl zaznamenán statisticky významný nárůst ( $\alpha > 0,05$ ) obsahu eikosapentaenové kyseliny v mléce dojnic s krmnou dávkou obohacenou o zelené řasy. Obsah dokosahexaenové kyseliny se u experimentální skupiny také zvýšil, ale nebyl statisticky průkazný ( $\alpha > 0,05$ ).

**Klíčová slova:** mléko, *Chlorella* sp., výživa, mléčný tuk, mastné kyseliny

# Effect of *Chlorella* sp. supplementation on fatty acid profile of cow milk

## Summary

Saturated fatty acids are the highest of the milk lipid content. Short chain acids are an easily digestible part of these saturated fatty acids. However, saturated acids can cause cardiovascular issues in high consumption. Unsaturated fatty acids are either monounsaturated (MUFA) or polyunsaturated fatty acids (PUFA). Long chain unsaturated fatty acids (*n*-6, *n*-3) are required for the synthesis of tissue mediators, which are needed in the blood clotting process, vascular tone-regulation or in inflammatory responses as a defensive mechanism of organisms to tissue damage. Essential PUFA can only be absorbed from food intake of the diet. Total amount of lipids in milk and their ratio are relatively dependant on the dairy cow's feed. Using a source of oils with a high unsaturated fatty acid content is one of the ways to increase the content of MUFA and PUFA in milk fat. Ruminant microflora can cleave cell membranes with encapsulated polyunsaturated fatty acids inside of algal cells. The objective of this paper is the supplementation of dairy cow's feed by 1.5 wt% green algae *Chlorella* sp. to monitor the fatty acid profile of milk. There were control (standard feed) and experimental (supplemented feed) groups, which were compared for five weeks. The amount of long chain saturated fatty acids (palmitic and stearic) was decreased after two weeks of feeding with algae. At the same time, the amount of conjugated linoleic acid increased in the case of milk of the cows fed with the algae supplemented feed. These results were not statistically significant at ( $\alpha > 0.05$ ). The content of eicosapentaenoic acid was raised after sixteen days of observation. EPA content was statistically improved ( $\alpha > 0.05$ ) in milk from cows with the addition of algae to their feed. In addition, docosahexaenoic acid levels were also raised with the enriched feed. DHA improvement was not statistically significant though.

Keywords: milk, *Chlorella* sp., nutrition, milk lipids, fatty acids

# Obsah

1. Úvod.....	8
2. Cíl práce.....	9
3. Literární rešerše .....	10
3.1 Řasy.....	10
3.1.1 <i>Chlorella</i> sp. ....	11
3.1.1.1 Složení biomasy <i>Chlorella</i> sp.....	12
3.1.1.2 Kultivace řas <i>Chlorella</i> sp.....	16
3.1.1.3 Zpracování řas <i>Chlorella</i> sp. ....	16
3.1.2 Využití řas .....	17
3.1.2.1 Řasy jako součást krmiva .....	17
3.2 Mléko .....	19
3.2.1 Složení kravského mléka.....	22
3.2.1.1 Voda.....	22
3.2.1.2 Sušina.....	22
3.2.1.2.1 Sacharidy.....	22
3.2.1.2.2 Dusíkaté látky.....	24
3.2.1.2.3 Lipidy .....	26
3.2.1.2.4 Minerální látky a soli .....	30
3.2.1.2.5 Vitaminy.....	31
3.2.1.2.6 Enzymy .....	31
3.2.1.3 Plyny .....	32
3.3 Výživa dojnic .....	33
3.3.1 Složení bachorové mikroflóry .....	33
3.3.2 Trávení sacharidů u skotu.....	34
3.3.3 Trávení lipidů u skotu.....	35
3.3.4 Trávení proteinů a dusíkový metabolismus u skotu .....	35
4 Materiály a metody .....	37
4.1 Materiály .....	37
4.1.1 Charakterizace biomasy <i>Chlorella</i> sp.....	37
4.1.2 Kultivace řas <i>Chlorella</i> sp.....	38
4.1.3 Složení živného roztoku pro kultivaci řas <i>Chlorella</i> sp. ....	41

4.2 Výživa zvířat .....	43
4.3 Odběr vzorků mléka .....	44
4.4 Chemikálie .....	44
4.5 Přístrojové vybavení.....	45
4.6 Analytické metody .....	45
4.6.1 Stanovení frakcí mastných kyselin plynovou chromatografií .....	45
4.7 Statistická analýza .....	48
5. Výsledky .....	49
5.1 Vliv přídatku řas <i>Chlorella</i> sp. do krmné dávky dojnic na profil mastných kyselin v mléčném tuku .....	50
5.2 Vliv přídatku řas <i>Chlorella</i> sp. do krmné dávky dojnic na vývoj obsahu majoritních mastných kyselin v mléčném tuku.....	64
6 Diskuze .....	76
7 Závěr .....	78
8 Seznam literatury .....	80
9 Seznam zkratk .....	88
10 Přílohy.....	89
Příloha 1: Zastoupení mastných kyselin v řasách <i>Chlorella</i> sp .....	90
Příloha 2 Rozbor vypěstované řasy <i>Chlorella</i> sp .....	92
Příloha 3 Rozbor standartní krmné dávky.....	94
Příloha 4 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích mléka .....	95

# 1 Úvod

Mořské řasy jsou považovány za jedny z prvních forem života na zemském povrchu, jelikož se na planetě Zemi objevily před 3,5 miliardami let tj. v době, kdy převažovaly vody oceánu, a v atmosféře oxid uhličitý. Dlouhá historie řas se odráží i v počtu druhů, které se dnes na Zemi vyskytují. Odhad leží mezi 160 tisíci a 1,2 milionu, z toho počet dosud popsaných druhů se odhaduje na 36 až 43 tisíc.

Mnoho řas či jejich produktů je využíváno v potravinářství. Jedná se především o čeledě *Rhodophyta* a *Phaeophyta*. Jejich produkty (např. agary, algináty a karagenany) jsou pak využívány jako přídatné látky. Tyto hydrokoloidy slouží jako plnidla, emulgátory, stabilizátory nebo protispékavé látky u ovocných šťáv, marmelád, mražených potravin, mléčných výrobků a cukrovinek. Různé druhy chlorofylů a dalších pigmentů (především  $\beta$ -karoten, lykopen, zeaxanthin, lutein a astaxanthin) používaných v potravinářství jsou též získávány z těchto organismů. Řasy jsou také významnou složkou potravy mnoha lidí zejména v Asii, kde jsou součástí národních jídel.

Spotřebitelé v mnoha vyspělých zemích se stále více zajímají o konzumaci zdravých potravin živočišného původu a zejména o ty, jež jsou obohaceny o polyenové nenasycené mastné kyseliny. Z výživového hlediska se jedná především o *n*-3 mastné kyseliny, které jsou známé tím, že regulují důležité metabolické aktivity jako syntézu prostaglandinů, posilují imunitní systém a také snižují riziko nemocí, jako je cukrovka, vysoký krevní tlak, srdeční choroby, artritida a rakovina.



## **2 Cíl práce**

Předchozími pokusy bylo zjištěno, že při suplementace krmné dávky dojnic českého strakatého skotu řasou *Chlorella* sp. došlo ke zvýšení obsahu lipidů a mastných kyselin v jejich mléce, proto si tato práce klade za cíl charakterizaci možných změn profilu mastných kyselin v kravském mléku při popsané změně stravy dojnic.

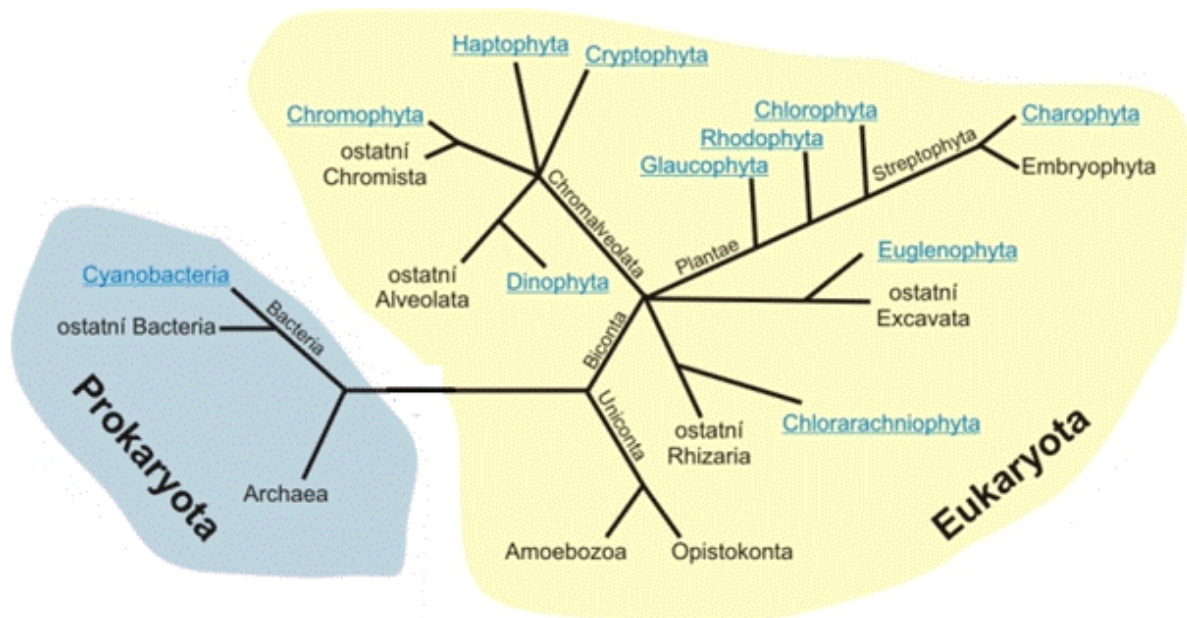
## 3 Literární rešerše

### 3.1 Řasy

Řasy jsou většinou vodní organismy, které žijí buď ve sladké, nebo v mořské vodě. Byly však nalezeny i v ledu, sněhu a některé jsou evolučně přizpůsobeny k životu v horkých pramenech. Podle Marshalla (2007) rozmnožování řas probíhá jednoduchým dělením a díky rychlé schopnosti růstu za příznivých podmínek se dělí jedenkrát až dvakrát denně, díky čemuž jsou nejproduktivnějšími rostlinami na planetě. Lembi a Waaland (2007) uvádí, že řasy patří do skupiny autotrofních organismů, které se vyskytují ve formě jednobuněčných (řasy nebo fytoplankton) nebo mnohobuněčných organismů (makrořasy). Dosahují různých rozměrů, od 0,2 – 2 mm, ale mohou dorůstat až do délky 60 m (Lembi and Waaland, 2007; Marshall, 2007). Klasifikace hlavních typů řas je zobrazena v tab. 1 a jejich vývojová větev na obr. 1 (Christaki, 2010; Margulis, 1992).

**Tabulka 1: Klasifikace hlavních typů řas (Christaki, 2010).**

Skupina řas	Pigmenty	Živiny vznikající po fotosyntéze	Chemické složení buněčné stěny	Existence bičíku
<i>Chlorophyta</i>	Chlorofyl a, b Karotenoidy	škrob	celulóza	2,4 nebo více
<i>Phaeophyta</i>	Chlorofyl c $\beta$ -karoten Fukoxantin	Laminaran mannitol	celulóza	zpravidla 2
<i>Chrysophyta</i>	Chlorofyl, c Karotenoidy Xantofyly Fukoxantin	Laminaran	celulóza oxid křemičitý CaCO <sub>3</sub> chitin	1,3
<i>Pyrrhophyta</i>	Chlorofyl c $\beta$ -karoten Xantofyly	škrob	celulóza	2
<i>Rhodophyta</i>	Chlorofyl c $\beta$ -karoten Xantofyly	škrob	celulóza síra	Chybí



**Obrázek 1: Rozdělení vývojové větve řas (Jihočeská univerzita, 2014).**

V posledních letech je v průmyslu zpracováváno 7,5 – 8 milionů t řasové biomasy ročně, z čehož zhruba 10 tisíc t tvoří řasy pěstované v průmyslovém měřítku (Becker, 2007; McHugh, 2003).

### 3.1.1 *Chlorella* sp.

Jednobuněčná sladkovodní řasa *Chlorella* je jedním z nejpodrobněji prozkoumaných organismů na světě a je považována za jednu z potravin budoucnosti. Kulovité buňky řasy o průměru 3 - 8  $\mu\text{m}$  mají jednoduchý životní cyklus (nejmladší (dceřiná) buňka roste až do stádia buňky dospělé (mateřské), která se dále dělí, nejčastěji na 4 - 8 nových buněk dceřiných, a růstový cyklus se opakuje). *Chlorella* sp. navíc vyniká rychlým růstem, za vhodných podmínek (dostatku živin, světla a přiměřené teploty) může dojít ke zdvojnásobení její hmoty již za 3 - 6 h (oproti tomu šlechtěné kulturní rostliny potřebují nejméně 10 dní).

### 3.1.1.1 Složení biomasy *Chlorella* sp.

V období po druhé světové válce se rod *Chlorella* sp. upřela pozornost vědců díky jeho mimořádně vysoké nutriční hodnotě. Řasová biomasa obsahuje více než 50 % kvalitních proteinů, jejichž aminokyselinové složení se podobá živočišným bílkovinám. Z hlediska jejich zastoupení se v tomto mikroorganismu nalézají ve vyváženém poměru všechny esenciální aminokyseliny, jak je uvedeno v tab. 2 (Doucha, 1998; Kotrbáček, 2002).

**Tabulka 2: Procentuální zastoupení esenciálních aminokyselin v sušině řas rodu *Chlorella* a dalších zdrojů bohatých na bílkoviny (Doucha, 1998).**

Aminokyselina	<i>Chlorella</i> sp. sušina [% hm.]	Kvasnice sušina [% hm.]	Sójové boby sušina [% hm.]
Isoleucin	2,01	2,42	1,80
Leucin	4,14	3,48	2,70
Lysin	3,19	3,60	2,58
Methionin	1,04	1,10	0,48
Phenylalanin	2,57	1,98	1,98
Threonin	2,42	2,11	1,62
Tryptofan	0,80	0,52	0,55
Valin	3,00	2,42	1,86

Sacharidy (nejčastěji škrob) tvoří asi 10 % hm. sušiny řas a tuky 15 % hm. Jejich značná část je zastoupena esenciálními mastnými kyselinami, které jsou pro lidský organismus nenahraditelné. Kompletní zastoupení mastných kyselin je uvedeno v příloze 1 (Ótles, 2001). Tyto látky jsou výchozí surovinou pro tvorbu řady biologicky aktivních sloučenin (prostacyklinů, prostaglandinů, leukotrienů). Esenciální mastné kyseliny v organismu regulují hladinu cholesterolu, upravují krevní tlak a zabraňují srážení krve, účinně se tedy uplatňují při prevenci kardiovaskulárních chorob. Asi 8 % hm. sušiny *Chlorella* sp. reprezentuje vláknina. Základní chemické složení řasy je uvedeno v tab. 3 (Doucha, 1998).

**Tabulka 3: Základní chemické složení biomasy produkčního kmene řas *Chlorella* sp. (Doucha, 1998).**

Složka	obsah v sušině [% hm.]
Proteiny	55 – 58
Sacharidy, vč. polysacharidů	16 – 20
Lipidy <sup>1</sup>	8 – 12
Popeloviny	6 – 8
Chlorofyl	2 – 4
Nukleové kyseliny	3 – 4

<sup>1</sup>Podíl esenciálních nenasycených mastných kyselin v celkovém množství mastných kyselin se za optimálních růstových podmínek pohybuje v rozmezí 40 - 60 % hm.

Kromě 3 - 4 % hm. chlorofylu, zeleného barviva s vysokým obsahem hořčiku, jsou v řasách obsaženy také karotenoidy, což jsou oranžová a žlutá barviva, z nichž nejcennější je  $\beta$ -karoten, produkt, který si lidský organismus nedovede vytvořit a jenž je prekurzorem vitamínu A. Pigmentační účinnost řasových karotenoidů nemá mezi rostlinami obdoby: obohacení krmné směsi pro nosnice o 2 % hm. *Chlorella* sp. zvyšuje koncentraci karotenoidů ve žlutcích až 5x (Doucha, 1998). Vedle známé role  $\beta$ -karotenu jako provitaminu A jsou v posledních letech intenzivně zkoumány jeho antioxidační účinky chránící buňky a tkáň organismu před negativním vlivem volných radikálů, narušujících rovnováhu buněčných struktur a snižujících tak jeho odolnost. Díky této vlastnosti může  $\beta$ -karoten významně napomáhat při prevenci nádorových onemocnění. Bylo prokázáno, že biologická účinnost přírodního  $\beta$ -karotenu převyšuje účinnost syntetického, hojně používaného jako potravinářské barvivo, u něhož naopak vyvstalo podezření, že může při dlouhodobém požívání zvyšovat pravděpodobnost rakovinného bujení u kuřáků. Množství této látky se u rodu *Chlorella* sp. pohybuje nejčastěji v rozmezí od 0,10 do 0,20 % hm. v sušině, což je asi 10 - 20x více než u karotky, nejvýznamnějšího rostlinného zdroje této látky (Le Marchand, 2002).

Důležitou složkou buňky *Chlorella* sp. jsou biologicky vázané a tedy i dobře v organismu využitelné minerální látky (fosfor, draslík, hořčík, vápník a železo), jejichž výčet je uveden v tab. 4. Jejich koncentrace je u řas většinou vyšší než u suchozemských rostlin. Například železa je u zástupců *Chlorella* sp. zhruba 20x více než u pažitky, luštěnin a sezamu, tj. rostlin na železo nejbohatších. Velmi cenný je také obsah dalších potřebných stopových prvků, které jsou součástí řady enzymatických komplexů a vitaminů, nezbytných

pro nerušený průběh látkové výměny ve vyvíjejícím se i dospělém organismu. Mezi tyto prvky patří zejména mangan, zinek, měď, kobalt a molybden (Doucha, 1998; Kvíčala a kol., 1995).

**Tabulka 4: Zastoupení hlavních minerálních látek v sušině *Chlorella* sp. (Doucha, 1998).**

Prvek	[mg/100 g]
Hořčík	300,0
Vápník	230,0
Železo	70,0
Mangan	14,0
Zinek	11,0
Měď	4,0
Kobalt	0,5

V poslední době je zvýšená pozornost věnována studiu funkce selenu a chromu. Přesto, že je potřeba těchto prvků v organismu velmi malá, u obyvatelstva vyspělých zemí byla zjištěna jejich deficience. Příjem selenu na jednoho obyvatele v ČR je hluboce podlimitní u více než 60 % testované populace. Selen je funkční složkou glutathion peroxidázy, která v součinnosti s vitamínem E tlumí destruktivní vliv peroxidačních reakcí na živé buňky. K ochranné funkci selenu se řadí i jeho role při syntéze hormonů štítné žlázy (Kvíčala a kol., 1996). Tento prvek snižuje toxicitu těžkých kovů v organismu, neboť se s nimi váže za vzniku zdraví neškodných sloučenin. Těmito činnostmi zasahuje prakticky do regulace celého metabolismu (Fordyce, 2013). Neméně významným minerálem je chrom. Stabilizuje terciární strukturu bílkovin a je součástí glukózového tolerančního faktoru, který zvyšuje účinek inzulínu s následnou lepší kontrolou hladiny cukru v krvi (Drisdell a kol., 1995). Zmíněné stopové prvky tvoří v buňkách řas nejčastěji komplexy s aminokyselinami. Jejich koncentrace a způsob vazby se dá do značné míry ovlivnit, což otevírá možnost získat biomasu řas s definovaným, většinou zvýšeným, obsahem požadovaných prvků nebo jejich využitelnosti, které jsou podstatně vyšší než u různých hojně prodávaných minerálních směsí, u nichž jsou žádané prvky ve formě anorganických chemických sloučenin (Doucha, 1998).

Další skupinou látek, kterých je obsaženo v řase *Chlorella* sp. výrazně více než v jiných rostlinách, jsou vitamíny. Srovnání jejich obsahu s typickými bohatými zdroji, je

uvedeno v tab. 5. Cenný je například vysoký obsah vitaminů skupiny B, vitaminu C a tokoferolů.

**Tabulka 5: Porovnání obsahu vitaminů u *Chlorella* sp. a dalších, na vitaminy bohatých zdrojů (Doucha, 1998).**

Vitaminy [mg/kg]	<i>Chlorella</i> sp.	Kvasnice	Špenát	Hovězí játra
	Sušina	sušina	čerstvá hmota	čerstvá hmota
B <sub>1</sub> – thiamin	18,00	6,00	0,90	3,00
B <sub>2</sub> – riboflavin	44,00	70,00	1,80	29,00
B <sub>3</sub> – niacin	219,00	-	470,00	310,00
B <sub>5</sub> - kyselina pantotenová	13,00	1,50	6,00	136,00
B <sub>6</sub> – pyridoxin	28,00	0,90	1,80	7,00
B <sub>12</sub> – kobalamin	0,80	23,00	-	0,70
B <sub>9</sub> - kyselina listová	42,00	9,00	0,70	3,00
H - biotin	0,30	3,00	0,07	1,00
E – tokoferol	298,00	280,00	-	10,00
C - kyselina askorbová	655,00	-	470,00	310,00
$\beta$ -karoten	1050,00	-	130,00	360,00

*Chlorella* sp. je též známá růstovým faktorem (*Chlorella* Growth Factor, CGF), což je vodou extrahovatelná frakce buněk obsahující volné aminokyseliny, peptidy, glykoproteiny, polyaminy, některé vitaminy, minerální látky a další doposud neznámé složky. Bylo zjištěno, že CGF podporuje regeneraci tkání, dělení a růst buněk, stimuluje tvorbu leukocytů a lymfocytů, zodpovídajících za syntézu protilátek, které zabezpečují obranyschopnost organismu vůči infekcím, a fagocytární aktivitu, tj. schopnost likvidovat cizorodé bakterie (Doucha, 1998; Yamaguchi, 1992). Dle výsledků studií je extrakt také vhodným prebiotikem při aplikaci probiotik, tj. látek, které pozitivně ovlivňují složení střevní mikroflóry. Singh (1995) prokázal po aplikaci CGF schopnost rychlejší regenerace tkání poškozených ionizujícím zářením. Extrakt je také uplatňován při léčbě chronických zánětů, ekzémů, bércových vředů, popálenin a špatně se hojících ran. Japonské laboratoře opakovaně publikují protinádorovou aktivitu extraktu (Doucha, 1998; Marteau, 1996; Singh, 1995).

Živný roztok řasy podporuje též zakořenění a růst rostlin. Proto je využíván jako zálivka při výsadbě ovocných a lesních stromků či při výsadbě zeleniny. Jeho stimulační efekt je způsoben přítomností fytohormonů (Doucha, 1998).

### **3.1.1.2 Kultivace řas *Chlorella* sp.**

*Chlorella* sp. je nejčastěji pěstována v kruhových bazénech s otáčejícím se míchacím ramenem nebo v protáhlých bazénech, v nichž je 20 – 30 cm silná vrstva anorganického živného roztoku s řasami vystavena slunečnímu svitu. Biomasa je zároveň probublávána oxidem uhličitým (Becker, 2007).

V České republice byl vyvinut unikátní Třeboňský kultivační systém (BCS Engineering, a.s., ČR). Ten je založen na použití nakloněných ploch, po nichž řasová suspenze stéká v tenké vrstvě optimální rychlostí a za optimální turbulence. Intenzita turbulentního proudění je výslednicí rychlosti toku a drsnosti povrchu kultivační plochy. V noci je suspenze řas uložena v provzdušňovaných sběrných nádržích. Zatímco jednosměrně nakloněné plochy prvních kultivačních jednotek byly osázeny hustě uloženými příčnými přepážkami, které tok suspenze zpomalovaly a udržovaly na ploše požadovanou pěticentimetrovou vrstvu řas, bioreaktory současné generace sestávají nejméně ze 2 protisměrně položených meandrovitě uspořádaných spádových ploch bez přepážek. Díky pouze několikamilimetrové kultivační vrstvě je objem suspenze na jednotce 50x menší a sklizňová hustota řas 50x vyšší než u bazénů. To výrazně snižuje energetické nároky na cirkulaci suspenze při kultivaci a na oddělování řas od živného roztoku při sklizni (Doucha, 1998).

### **3.1.1.3 Zpracování řas *Chlorella* sp.**

Po dosažení hustoty kultury řas kolem 30 g sušiny na 1 l živného roztoku je biomasa obvykle sklízena. Prvním krokem je zahuštění suspenze na talířových odstředivkách. Zahuštěné řasy jsou opakovaně promývány pitnou vodou a tak dochází k odstranění zbytku živného roztoku a vedlejších nečistot. Aby bylo dosaženo maximální využitelnosti cenného obsahu buněk, uzavřeného v pevném celulóзовém obalu, v Mikrobiologickém ústavu Akademie Věd České republiky v Třeboni byl vypracován postup, při kterém řasy procházejí zařízením, v němž jsou mechanicky drceny. Po 2 až 3 minutové desintegraci je z 1 ml zahuštěné suspenze, kde je kolem 5 miliard buněk, rozdrceno více než 95 %. Rozdrcením buněk vzroste stravitelnost až 3x a dosáhne tak hodnot platných pro stravitelnost čistých bílkovin (Doucha, 1998).

Posledním krokem zpracovatelské linky je sušení. To probíhá v rozprašovací sušárně, ve které je řasová hmota rozptýlena do mikrokapiček, jejichž povrchová teplota nepřesahuje



po dobu sušení, trvajícího několik sekund, teplotu 60 °C. Celý postup je velice šetrný, takže v usušené biomase jsou zachovány všechny cenné nutriční látky (Doucha, 1998).

### 3.1.2 Využití řas

Becker (1994) uvádí, že nutriční hodnota řas závisí na velikosti buněk, chemickém složení, stravitelnosti a produkci toxických látek. Obsah aminokyselin lysinu, methioninu, tryptofanu, threoninu, valinu, histidinu a isoleucinu je srovnatelný s obsahem aminokyselin ve vejcích a sóje. Stravitelnost bílkovin se liší v závislosti na druhu řasy, sezóně, obsahu polysacharidů a přítomnosti trávicích enzymů. Kromě toho mastné kyseliny řas jsou cenné pro organismy kvůli *n-3* mastným kyselinám. Podle výzkumu Oliveira a kol. (2009) je koncentrace celulózy u řas vyšší než v ovoci a zelenině (Becker, 1994; Becker, 2007; Oliveira a kol., 2009).

V řasách se mohou vyskytovat i toxické látky, třísloviny a kyselina fytová (Rehman and Shah, 2004). Becker (1994) měřením zjistil vyšší obsah nukleových kyselin, který může vést ke zvýšení obsahu kyseliny močové v krevní plazmě, což může mít negativní vliv na zdraví zvířat i lidí. Oliveira a kol. (2009) prokázal výskyt těžkých kovů Cd, Cr, Ni, V, které mohou být při vysokých hodnotách také toxické (Becker, 1994; Oliveira a kol., 2009).

V lékařství je známé využití rodu *Spirulina* při hojení ran. Jiní zástupci jsou uplatňováni při výrobě antibiotik (např. *Dunaliella primolecta* C-525). Řasy s obsahem fenolických látek jsou významné svými antimikrobiálními účinky. Nelze opomenout ani kosmetický průmysl, ve kterém jsou řasy složkou různých krémů, pleťových masek, koupelových solí, šampónů, kondicionérů, mýdel a vlasové kosmetiky. Dlouhou dobu jsou různé druhy řas využívány také jako organická hnojiva s velmi dobrým působením na růst zeleniny, ovoce i květin (McHugh, 2003).

#### 3.1.2.1 Řasy jako součást krmiva

Řasy se začaly využívat jako součást krmiva začátkem 70. let. Bylo provedeno několik studií zabývajících se účinky přídatku těchto organismů na ryby, hospodářská zvířata i zvířata v zájmových chovech. Bylo zjištěno, že suplementace obohacuje výživové složení krmné dávky a může mít pozitivní vliv na zdraví zvířat.

V akvakulturách jsou využívány čerstvé i sušené řasy, nejčastěji rodů *Spirulina* a *Chlorella* (Spolaore a kol., 2006). Mořské řasy jsou hojně přidávány rovněž do krmiv chovaných ryb, protože dlouholeté výzkumy zjistily příznivé výsledky na zvýšení tělesné hmotnosti, ukládání bílkovin ve svalech, odolnost vůči stresu a onemocněním (McHugh, 2003).

Colla a kol. (2008) dokázali, že podání řas *Spirulina platensis* monogastrickým zvířatům, konkrétně králíkům, vedlo ke snížení hladiny HDL cholesterolu v krvi a zvýšení stravitelnosti dusíkatých látek. Kromě toho byl profil mastných kyselin králičího masa obohacen o polynenasycené mastné kyseliny.

Přidáním 2 % hm. řas do diety nosnic byl zvýšen obsah *n*-3 linolenové kyseliny ve žloutcích a zároveň snížen obsah *n*-6 eikosatetraenové kyseliny (Spolaore a kol., 2006). Navíc byla zaznamenána mnohem sytější barva žloutku (Grigorova a kol., 2006). Ginzberg a kol. (2000) studovali roli *Porphyridium* sp. na metabolismus kuřat. Výsledkem přidavku 10 % hm. řas do krmné dávky bylo snížení množství krevního cholesterolu až o 28 % u experimentální skupiny kuřat oproti skupině kontrolní. Výrazně vyšší růstová rychlost a nižší úmrtnost byla pozorována u krůt krmených řasami *Spirulina* v množství 10 g/kg krmiva (Becker, 2004).

Sardi a kol. (2006) podotýkají, že potrava prasat obohacená řasami, vede k rychlejšímu zvyšování tělesné hmotnosti a obohacení masa a podkožního tuku dokosahexaenovou kyselinou. Výzkum Svobody (2009) ukazuje, že biologická dostupnost selenu z řas obohacených o Se je mnohem vyšší než dostupnost minerálu z anorganických forem, což mělo za následek vyšší koncentraci selenu v mlezivu i v krvi prasnic. U prasnic suplementovaných přidavkem *Chlorella* sp. došlo ke zlepšení reprodukčních parametrů a zvýšení produkce mléka o 23 % (Doucha, 2009).

Becker (2007) uvádí, že v současné době je využíváno přibližně 30 % produkce řas pro výrobu krmiv pro přežvýkavce, zejména z důvodu obsahu vysoce kvalitních bílkovin. Chowdhury (1995) zjistil, že při výkrmu telat, kdy použil 10 ml buněk řas *Chlorella* a *Scenedesmus* na 1 l vody, došlo ke zlepšení stravitelnosti celulózy 10x. Tím pak bylo možné snížit dávku olejnatých krmiv ve výživě. Navíc začlenění řas *Ascophyllum nodosum* do krmiva telat infikovaných bakterií *Escherichia coli* mělo za následek pokles patogenních

mikroorganismů ve stolici těchto zvířat. Podání řas skotu může také posílit jeho imunitní systém a zlepšit vlastnosti masa (Belay a kol., 1996; Bach a kol., 2008).

Kulpys a kol. (2009) svými dlouholetými pokusy zjistili zvýšený obsah mléčného tuku, bílkovin a laktózy u dojnic příkrmovaných řasami v porovnání s dojnicemi, jejichž strava neobsahovala žádné řasy. Vědci dokázali, že přidavek rodu *Schizochytrium* sp. do výživy mléčného skotu vedl ke zvýšení obsahu dokosahexaenové kyseliny (DHA) a konjugované kyseliny linolové (CLA) a zároveň ke snížení obsahu nasycených mastných kyselin v jejich mléce (Franklin a kol., 1999). OrRashid a kol. (2008) navíc pozorovali, že se kromě změny obsahu kyselin v mléce měnil také obsah a fyzikální vlastnosti DHA a CLA kyselin v bacheru.

McHugh (2003) se domnívá, že nejvhodnější období pro přidavek řas do krmné dávky hospodářských zvířat je v létě, kdy roste produkce mléka, a v době březosti. Mimo jiné dlouholetými pokusy s ovce prokázal, že ovce krmené přídavkem řas mají vyšší průměrnou tělesnou hmotnost a poskytují větší množství vlny. Elmore a kol. (2005) zjistili, že přidáním řas *Ascophyllum nodosum* do krmné dávky jehňat je jejich maso obohaceno o polynenasycené mastné kyseliny.

### 3.2 Mléko

Mléko definované dle Thompsona a kol. (2009) je sekret samic zhruba 4500 druhů savců, který je produkován k naplnění kompletních nutričních požadavků novorozených mláďat. Jedná se o vodný roztok laktózy, anorganických a organických solí a složek, vyskytujících se ve stopovém množství, kde jsou v koloidní formě přítomny syrovátkové bílkoviny, kasein a emulgované tukové kuličky.

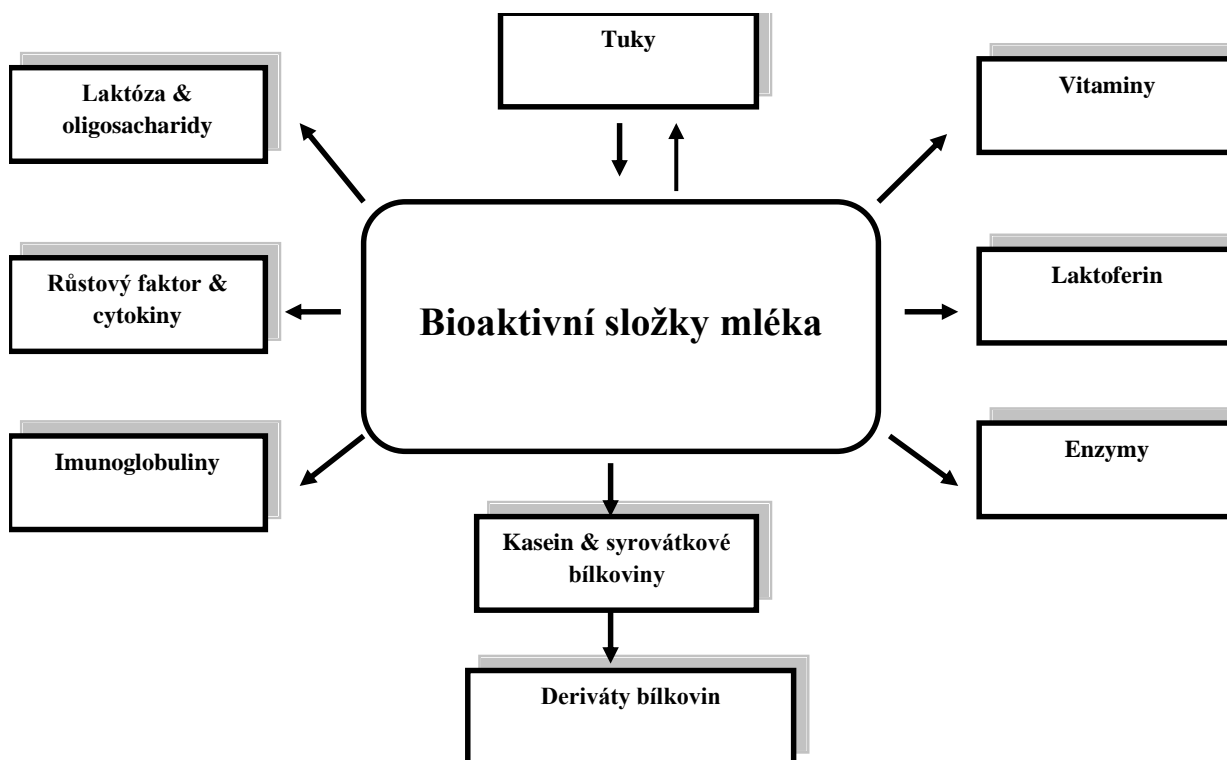
Mléko je komplexní tekutina obsahující stovky složek. Hlavními jsou voda, lipidy, cukry (laktóza) a proteiny, sloužící jako zdroj energie a stavební látky. Dále se v mléce vyskytují minoritní součásti, většinou ve stopovém množství, jako minerální látky, vitaminy, hormony, enzymy, esenciální mastné kyseliny, dusíkaté látky a řada dalších komponentů. Kromě mezidruhových rozdílů ve složení mléka jsou rozdíly i v mléce konkrétního druhu. Ty jsou dány individualitou zvířete, plemennou příslušností, celkovým zdravotním stavem, výživou, fází laktace, věkem, intervalem mezi dojením, ročním obdobím a dalšími faktory.

Obsah hlavních složek různých druhů mléka je uveden v tab. 6 (Fox, 1998; Thompson a kol., 2009).

**Tabulka 6: Složení mléka u různých druhů savců (Fox, 1998).**

Druh mléka	Sušina [% hm.]	Tuk [% hm.]	Bílkoviny [% hm.]	Laktóza [% hm.]	Popeloviny [% hm.]
Kravné	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Ovčí	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
Kozí	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8
Mateřské	12,2	3,8	1,0	7,0	0,2
Prasnice	18,8	6,8	4,8	5,5	stopy
Koňské	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Oslí	11,7	1,4	2,0	7,4	0,5

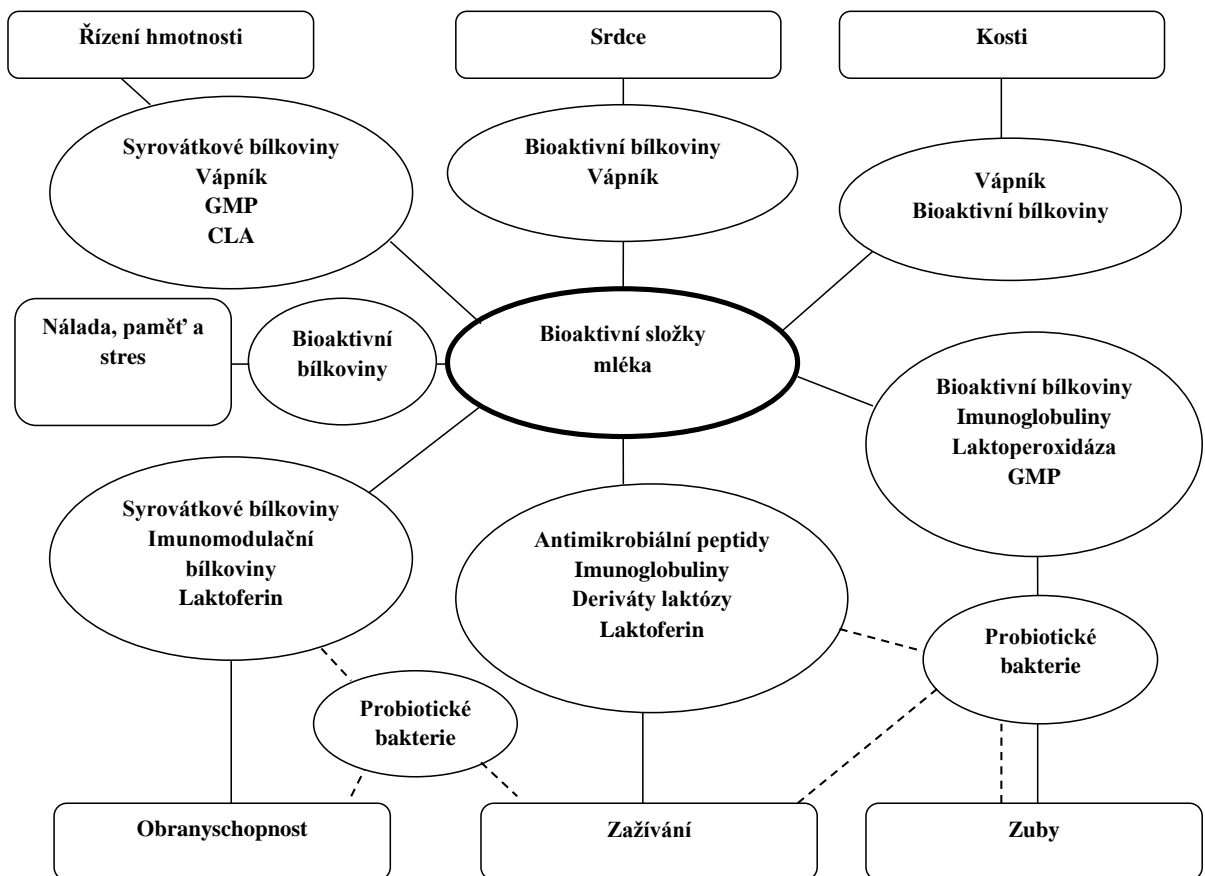
Young (2009) zmiňuje, že mléko obsahuje široké spektrum biologicky aktivních látek, které poskytují ochranu proti enteropatogenům nebo jsou nezbytné pro výrobu a charakteristické vlastnosti některých mléčných výrobků. Vědci za poslední desetiletí ukázali, že např. bioaktivní peptidy v mléce mají velmi důležité antimikrobiální, antioxidační a antihypertenzní účinky. Schematické znázornění biologicky aktivních složek mléka je uvedeno na obr. 2 (Young, 2009).



**Obrázek 2: Schématické znázornění hlavních bioaktivních složek mléka (Young, 2009).**

Mléko je dynamický nestabilní systém, nestabilita je způsobená rozpustností anorganických složek, složek rozkládajících se v závislosti na teplotě a pH, ale také přítomností enzymů, které řídí oxidační, lipolytické a proteolytické pochody. Růst mikroorganismů může způsobit změny v pH nebo redoxním potenciálu (Fox, 1998).

Kravné mléko a mlezivo kromě své základní nutriční hodnoty jsou považovány za důležitý zdroj přírodních bioaktivních látek. V průběhu posledních let došlo k významnému pokroku ve vědě, technice a komerční aplikaci bioaktivních složek přirozeně přítomných v kravném mléce a mlezivu. Bioaktivní složky mléka tvoří zejména specifické bílkoviny, peptidy, sacharidy, složky mléčného tuku a minerální látky, jak je patrné z obrázku 3 (Korhonen, Pihlanto, 2007). Mléčné produkty posilují imunitní systém, snižují zvýšený krevní tlak, pomáhají proti gastrointestinálním infekcím, kardiovaskulárním onemocněním, cukrovce a jsou prevencí proti osteoporóze (FitzGerald a kol., 2004).



Obrázek 3: Bioaktivní složky mléka a jejich funkce (Korhonen, Pihlanto, 2007).

### **3.2.1 Složení kravského mléka**

#### **3.2.1.1 Voda**

Obsah vody v mléce je 87 až 88 % hm. Vyskytuje se ve formě volné vody, vody vázané na koloidy a chemicky vázané. Volná voda tvoří převážnou část této složky. Je rozpouštědlem pro laktózu a minerální látky (Chandan, 2008).

Obsah vázané vody je od 2 do 3,5 % hm. Je vázaná na koloidy a tvoří obaly na povrchu koloidních částic. Chemicky vázaná voda je silně vázána na laktózu (Chandan, 2008).

#### **3.2.1.2 Sušina**

Sušinu tvoří všechny složky, které zůstanou po vysušení při teplotě 100 až 104 °C do konstantní hmotnosti. Sušina tvoří 12 až 13 % celkové hmotnosti mléka. Nejvíce jsou v sušině zastoupeny laktóza, tuk a bílkoviny (Singh, 2013).

##### **3.2.1.2.1 Sacharidy**

V mléce většiny savců je laktóza hlavním sacharidem, ale vyskytují se i další, i když jen v malém množství. Jak uvádí Park a Haenlein (2013), kravské mléko obsahuje okolo 10 mg/l monosacharidů – glukózy a galaktózy a okolo 100 mg oligosacharidů na jeden litr mléka. Harper (1992) upřesňuje obsah laktózy, hlavního mléčného cukru, 4,8 g na 100 g mléka. V mléce se dále nacházejí složené cukry (laktóza, laktulóza), aminocukry (glukosamin, galaktosamin, kyselina neuraminová) a fosforečné estery sacharidů – glukoso-1-fosfát, glukoso-6-fosfát.

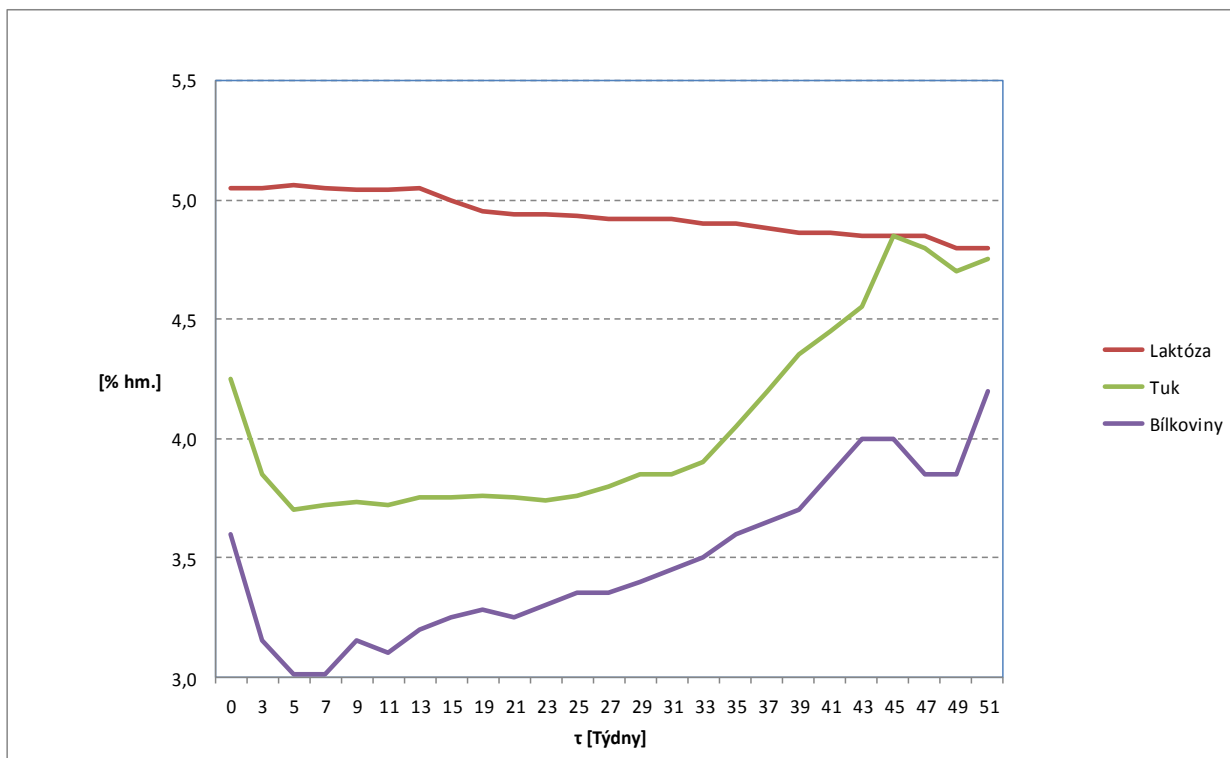
#### **Laktóza**

Hlavním sacharidem v mléce je redukující disacharid laktóza, který je tvořen galaktózou a glukózou vázaných  $\beta(1-4)$ -glykosidickou vazbou. Obsah je variabilní od 0 do přibližně 10 % hm. Mléko je jediným známým zdrojem v přírodě se vyskytující laktózy, která je syntetizována v mléčných epitelárních buňkách ze dvou molekul glukózy absorbovaných z krve. Jedna molekula je fosforylována a přeměněna na sloučeninu galaktóza-fosfát Leloirovou reakcí, která je běžná u živočišných tkání a bakteriálních buněk. Galaktóza-fosfát je kondenzována s druhou molekulou glukózy za účasti enzymu laktóza-syntetáza (Thompson a kol., 2009).

Charakteristický pro laktózu je především fakt, že tento redukující cukr obsahuje volnou karbonylovou skupinu a vyskytuje se částečně ve formě otevřeného řetězce s aldehydickou skupinou v podobě poloacetálového hydroxyly. Ten vytváří chirální centrum přes asymetrický uhlík a vyskytuje se ve dvou enantiomerních  $\alpha$  a  $\beta$ - konfiguracích, které mají odlišné vlastnosti. Laktóza se účastní Maillardovy reakce neenzymového hnědnutí, díky které vznikají hnědě zbarvené polymery a chuťové složky, jež jsou typické pro smažené výrobky. Maillardovo hnědnutí je naopak nežádoucí při výrobě mléčných produktů. Krystalická laktóza má velmi nízkou hygroskopicitu a také malou sladivost, která dosahuje jen 16 % sladivosti jednoprocenního roztoku sacharózy (Thompson a kol., 2009). Laktóza, obzvláště její  $\alpha$ -enantiomer je specifický nízkou rozpustností ve vodě. Z tohoto důvodu je při přípravě mléčných výrobků se sníženým obsahem vody (zahuštěných a sušených) zařazená do výrobního procesu řízená krystalizace.

Laktóza poskytuje 30 % kalorií kravského mléka a je energeticky vydatnější než mléčný tuk. Mléka s vyšší koncentrací laktózy mají nižší obsah lipidů. Tento disacharid je odpovědný z padesáti procent za osmotický tlak mléka. V případě mlék s nižší hladinou laktózy je koncentrace anorganických solí vysoká a slouží k udržení osmotického tlaku na požadované hodnotě (Tamime, 2009).

Koncentrace laktózy úměrně roste při přechodu z mleziva na mléko a klesá s fází laktace (Obrázek 4), stejně jako se zvyšujícím se počtem somatických buněk (MacGibbon, Taylor, 2006).



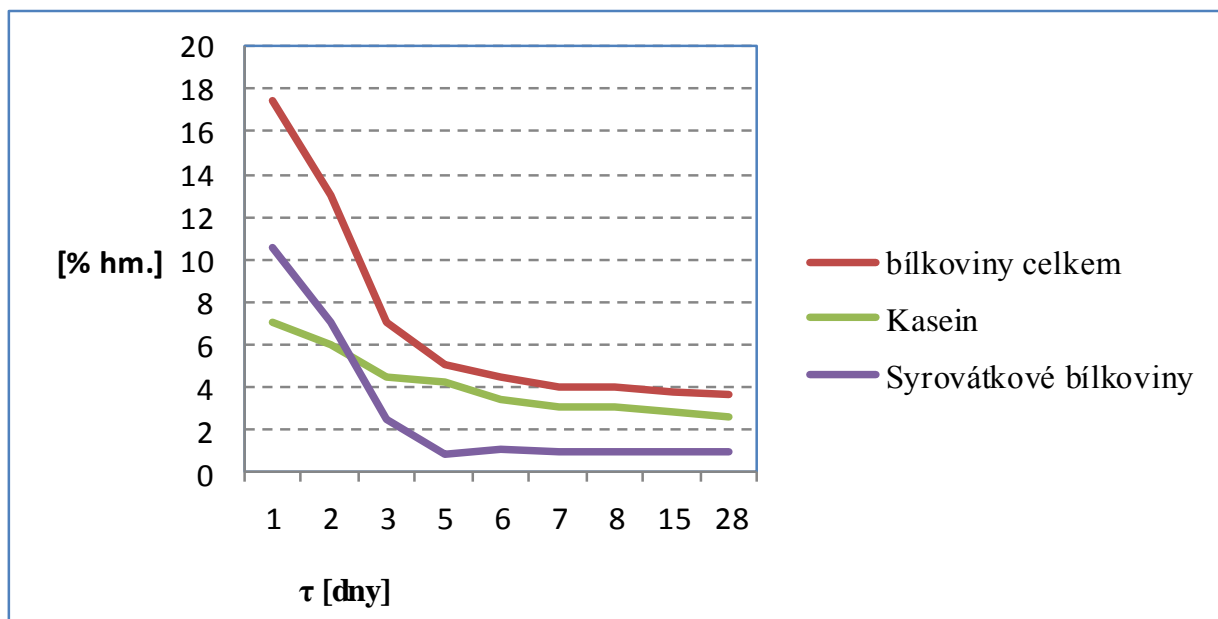
**Obrázek 4: Změny koncentrace hlavních složek kravského mléka v průběhu laktace (Fox, 1998).**

### 3.2.1.2.2 Dusíkaté látky

#### Čistá bílkovina

Mléčné bílkoviny mají jedinečné vlastnosti, jejichž znalost je nutná při technologických procesech zpracování. Průměrný obsah, rozdělení mléčných bílkovin se mění zejména během několika prvních dnů po porodu (obrázek 4 a 5), největší změna se pak projevuje v koncentraci syrovátkových bílkovin. Celková změna obsahu bílkovin během laktace je zaznamenána na obrázku 4. Přírozená funkce mléčných bílkovin spočívá v dodávání esenciálních aminokyselin, potřebných pro rozvoj svalových tkání, s řadou biologicky aktivních proteinů, jako imunoglobuliny, vitaminy a různé bílkovinné hormony. Mláďata různých druhů savců se rodí v jiném stádiu vyspělosti, proto se liší svými nutričními a fyziologickými požadavky, jež se odrážejí v různém složení mléka. Rozdíly v obsahu bílkovin u jednotlivých druhů jsou zaznamenány v tabulce 7, obsah se pohybuje od 1 % až do 24 % hm. v sušině. Obsah bílkovin je přímo úměrný tempu růstu příslušného druhu (Fox, 1998).





**Obrázek 5: Změny koncentrace celkových bílkovin, kaseinu a syrovátkových bílkovin v kravském mlezivu a mléce v prvních dnech po porodu (Fox, 1998).**

Korhonen a Pihlanto (2007) uvádí, že normální kravské mléko obsahuje v průměru 3,5 % bílkovin, z čehož 80 % tvoří kasein a 20 % syrovátkové bílkoviny, které jsou děleny na základě rozpustnosti při pH 4,6. Kasein se dále dělí na  $\alpha_{(S1, S2)}$ -kasein,  $\beta$ -kasein a  $\kappa$ -kasein. Byly vyvinuty různé chromatografické a membránové separační techniky pro frakcionaci  $\beta$ -kaseinu na potencionální využití do kojenecké výživy. Kasein je znám svojí vysokou výživnou hodnotou díky obsahu cenných aminokyselin, vápníku, fosfátů a stopových prvků.

**Tabulka 7: Procentuální zastoupení bílkovin v mléce některých živočišných druhů (Fox, 1998).**

Druh	Kasein [% hm.]	Syróvatkové bílkoviny [% hm.]	Bílkoviny celkem [% hm.]
Bizon	3,7	0,8	4,5
Ovce	4,6	0,9	5,5
Velbloud	2,9	1,0	3,9
Kráva	2,8	0,6	3,4
Koza	2,5	0,4	2,9
Osel	1,0	1,0	2,0
Sob	8,6	1,5	10,1
Kobyła	1,3	1,2	2,5
Slon indický	1,9	3,0	4,9
Klokan	2,3	2,3	4,6
Králík	9,3	4,6	13,9

Mléko je vyváženým zdrojem hodnotných aminokyselin a mléčných bílkovin, které se podílejí na struktuře a sensorických vlastnostech široké škály mléčných produktů. Bylo prokázáno, že celé kaseinové micely i elektroforetické kaseinové frakce vykazují různé biologické aktivity jako imunomodulaci (Bennett a kol., 2005), poskytují mnohé bioaktivní peptidy zahrnující antihypertenzní (López - Fandiño a kol. 2006), antimikrobiální (López - Expósito and Recio 2006; Pan a kol. 2006), antioxidační (Pihlanto, 2006) a opioidní (Meisel, FitzGerald, 2000). Mezi další benefity mléčných bílkovin, zejména bioaktivních syrovátkových bílkovin – imunoglobulinů, laktoferinu a růstových faktorů, jsou řazeny zlepšení fyzické výkonnosti, rychlé nabytí sil po cvičení, prevence svalové atrofie (Ha a Zemel 2003), regulace sytosti a udržení hmotnosti (Schaafsma 2006; Luhovy a kol. 2007), kardiovaskulární zdraví (Yamamoto et al 2003.; Fitzgerald a kol. 2004; Murray a Fitzgerald 2007), protirakovinné účinky (Parodi 1998; Bounous 2000; Gill a Cross 2000), hojení ran a rekonvalescence (Smithers 2004), prevence mikrobiálních infekcí a slizničních zánětů (Playford a kol. 2000.; Korhonen a kol. 2000; Korhonen a Marnila 2006), hypoalergenní výživa kojenců (Crittenden a Bennett 2005) a zdravé stárnutí (Smilowitz a kol. 2005).

### **Nebílkovinné dusíkaté látky**

Nebílkovinné dusíkaté látky jsou ty sloučeniny, které jsou rozpustné v 12% kyselině trichloroctové a v mléce reprezentují přibližně 5 % celkového dusíku. Hlavními komponenty jsou močovina, kreatin, kyselina močová a volné aminokyseliny. Močovina, jejíž koncentrace kolísá, má významný vliv na tepelnou stabilitu mléka (Thompson a kol., 2009).

### **3.2.1.2.3 Lipidy**

Lipidy jsou estery mastných kyselin a trojmocného alkoholu. Obsah tuků v mléce se pohybuje od 2 % do 50 % obsahu v sušině (Fox, 1998). Tamime (2009) podotýká, že obsah tuku v kravském mléce se pohybuje od 33 g/l do 47 g/l mléka. Množství závisí na plemeni, stádiu laktace, zdravotnímu stavu dojnice a výživě. Lipidy slouží narozeným mláďatům jako zdroj energie, obsah tuku v mléce odráží energetické požadavky každého druhu, například suchozemští živočichové pocházející z chladného prostředí a mořští savci ho mají vysoký obsah (tabulka 8).

**Tabulka 8: Průměrný obsah tuku v mléce živočišných druhů (Fox, 1998).**

<b>Druh</b>	<b>Obsah tuku [g/l]</b>
Kráva	42
Bůvol	47
Ovce	70
Koza	43
Člověk	38
Kůň	19
Myš	72
Prase	68
Slon	138
Delfín	196
Medvěd	220
Králík	183
Tuleň	517
Klokan	64

Mléčný tuk je zdroj esenciálních mastných kyselin, především kyseliny linolové a v tučích rozpustných vitamínů A, D, E a K. Také dodává chuť a texturní vlastnosti mléčným výrobkům. U některých produktů slouží jako prekurzor aromatických sloučenin, jako např. methylketonů a laktonů, ale může sloužit také jako prekurzor sloučenin, jež způsobují chuťové vady. V tomto případě se jedná o produkty hydrolytického a oxidačního žluknutí (Fox, 1998).

Lipidy v mléce jsou složeny z 98 % triglyceridů a 1 % fosfolipidů, obsažena jsou také malá množství diglyceridů, monoglyceridů, cholesterolu, estery cholesterolu, stopy lipofilních vitamínů a další většinou komplexní lipidy.

Mléčný tuk je syntetizován v mléčných buňkách vemene. Specifickou vlastností mléčných lipidů je, že převážná část se jich nachází v mléce ve formě tukových kuliček. Jejich počet v 1 ml mléka se pohybuje od 1,5 až po 6. 10<sup>6</sup>. Velikost tukových kuliček se pohybuje od 0,1 do 18 μm. Tyto kuličky nejsou volné, ale jsou obaleny membránou skládající se z komplexu fosfolipidy – bílkoviny. Na vnější straně této fosfolipidové vrstvy jsou adsorbovány bílkoviny mléka (albumin, globulin a kaseiny). Lipofilní část fosfolipidové vrstvy zasahuje do vnitřní vrstvy tukové kuličky, obsahující kromě triacylglycerolů s vyšším bodem tání také cholesterol, karoteny a lipofilní vitaminy (Barlowska a kol., 2011). Majoritní

frakcí mléčného tuku jsou neutrální lipidy, tedy estery glycerolu a jedné, dvou nebo tří mastných kyselin, tvořící mono-, di-, nebo triglyceridy (Grummer, 1991).

Další biologicky zajímavou frakcí mléčného tuku jsou polární lipidy, které se nacházejí v membráně tukové kuličky. Polární lipidy obsahují hydrofilní skupiny, díky kterým jsou schopny hromadit se na fázovém rozhraní mléčný tuk - voda a obklopovat tukové kuličky a tím je stabilizovat a chránit před rozštěpením lipázami. Membrána tukových kuliček se skládá z 60 % proteinů a 40 % polárních tuků, ve kterých jsou zastoupeny fosfolipidy, sfingolipidy, lipoproteiny, glykoproteiny a cholesterol. Obsah polárních lipidů se pohybuje v rozmezí od 9,4 do 35,5 mg na 100 g mléka. Tyto látky zlepšují nutriční a technologické vlastnosti (Fox, 1998).

### **Profil mastných kyselin kravského mléka**

Mastné kyseliny (MK) jsou karboxylové kyseliny, kde alkylová skupina je tvořena uhlovodíkovým řetězcem obsahujícím 3 až 25 atomů uhlíku, jehož součástí mohou být jednoduché, násobné i větvené vazby. Převážná většina MK obsahuje sudý počet uhlíkových atomů, jelikož při jejich syntéze je řetězec prodlužován napojením dvouuhlíkové složky acetylkoenzymu A při každém cyklu. Mléčný tuk je charakteristický širokým spektrem MK. Christie (1995) uvádí, že v mléčném tuku bylo zaznamenáno více než 400 různých zástupců, většinou se vyskytujících pouze ve stopovém množství. Průměrné složení MK, jež je uvedeno v tab. 7, výrazně ovlivňuje krystalizaci a bod tání tuku. Teplota tání jednotlivých MK roste s délkou jejich řetězce a s úrovní saturace (Tamime, 2003).

**Tabulka 9: Zastoupení hlavních mastných kyselin v mléčném tuku kravského mléka (Christie, 1995).**

<b>Nasyčené mastné kyseliny</b>		<b>% vol. všech mastných kyselin</b>
C <sub>4:0</sub>	Máselná	2,00 - 5,00
C <sub>6:0</sub>	Kapronová	1,00 - 5,00
C <sub>8:0</sub>	Kaprylová	1,00 - 3,00
C <sub>10:0</sub>	Kaprinová	2,00 - 4,00
C <sub>12:0</sub>	Laurová	2,00 - 5,00
C <sub>14:0</sub>	Myristová	8,00 - 14,00
C <sub>16:0</sub>	Palmitová	22,00 - 35,00
C <sub>18:0</sub>	Stearová	9,00 - 14,00
<b>Monoenové nenasycené mastné kyseliny</b>		
C <sub>16:1</sub>	Palmitolejová	1,00 - 3,00
C <sub>18:1</sub>	Olejová	20,00 - 30,00
<b>Polyenové nenasycené mastné kyseliny</b>		
C <sub>18:2 n-6</sub>	Linolová	1,50 - 2,60
C <sub>18:3 n-3</sub>	$\alpha$ -linolenová	0,70 - 1,60
C <sub>20:4 n-6</sub>	Arachidonová	0,09 - 0,12
C <sub>20:5 n-3</sub>	eikosapentaenová (EPA)	0,05 - 0,09
C <sub>22:6 n-3</sub>	dokosahexaenová (DHA)	0,01
<b><math>\Sigma \omega</math>-3</b>		1,10 - 2,50
<b><math>\Sigma \omega</math>-6</b>		2,40 - 4,40

Typické aroma mléka a mléčného tuku je generováno mimo jiné i minoritními MK, jež patří do hydroxy- a ketokyselin. Hydroxylové MK se dokáží za tepla přeměnit na sensoricky aktivní laktony. Ketokyseliny jsou specifickými pochody přeměňovány na vysoce aromatické methylketony (Thompson a kol., 2009). Další typickou složkou mléčného tuku je CLA. CLA se zde vyskytuje v několika polohových a geometrických izomerech. Její obsah je ovlivněn různými faktory, jako jsou krmný režim, konzervace píce, zeměpisná oblast, plemeno a genotyp. Početné studie potvrdily, že pastva významně zvyšuje koncentraci CLA v porovnání s řízeným stájovým chovem. Také druh trav na pastvě hraje svou roli. Bylo prokázáno, že obsah CLA v mléce z Aplických oblastí je 2 – 3x vyšší než u krav, které se pasou v nížinách (Kraft a kol., 2003).

## Nasyčené mastné kyseliny

Mléčný tuk přežvýkavců je jako živočišný tuk charakteristický majoritním podílem nasyčených MK. V nejvyšších koncentracích jsou přítomny kyselina palmitová ( $C_{16:0}$ ), stearová ( $C_{18:0}$ ) a myristová ( $C_{14:0}$ ). Dalším typickým znakem je vyšší zastoupení těkavých MK, tedy kyseliny máselné ( $C_{4:0}$ ) a dalších kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem do 10 uhlíků. MK s krátkým řetězcem jsou původcem chuti a aroma mléka a mléčných výrobků (Walstra et al, 2006)

## Monoenové mastné kyseliny

Z nenasyčených MK je v mléčném tuku nejvíce zastoupena kyselina olejová ( $C_{18:1}$ ), která tvoří 20 – 30 % celkového podílu MK. Z dalších zástupců této kategorie jsou v malé míře obsaženy kyseliny myristolejová ( $C_{14:1}$ ), palmitolejová ( $C_{16:1}$ ) a *trans*-izomer kyseliny olejové (*trans*- $C_{18:1}$ ). Se snižujícím se stupněm nasycení MK klesá jejich bod tání a roste polarita, rozpustnost v krevní plazmě, ale i náchylnost k oxidačnímu žluknutí (Pánek a kol., 2002).

## Polyenové mastné kyseliny

Mléčný tuk přežvýkavců obsahuje pouze malé množství PUFA, protože tyto kyseliny z krmiva jsou hydrogenovány bakteriemi v batoru. Biohydrogenace může způsobit zapouzdření PUFA z diety dojníc a takto je zneprístupní batorové mikroflóře. Mléko obohacené o MK s více dvojnými vazbami má pak lepší nutriční kvalitu a vyrobené máslo je lépe roztíratelné. Lidský organismus není schopen PUFA syntetizovat, a proto patří mezi esenciální MK. V mléce jsou zastoupeny linolová a arachidonová kyselina, které se řadí k *n*-6 MK, a linolenová, eikosapentaenová a dokosahexaenová kyselina, jež patří do skupiny *n*-3 MK (Thompson a kol., 2009).

### 3.2.1.2.4 Minerální látky a soli

Minerální látky jsou do mléka transportovány prostřednictvím krve. Epitelové buňky mléčné žlázy mají schopnost shromažďovat minerální látky, které se pak snadno vstřebávají do jejich sekretu. Minerální látky lze dle obsahu rozdělit na makroelementy (Ca, P, Na, K, Cl, Mg, S), minoritní prvky (Fe, Zn), a mikroelementy (B, Co, Si, Cu, Mn, Mo, Br, Al, I). V mléčném séru se minerální látky vyskytují v různých formách, a to v koloidní formě nebo

jsou vázány na některé organické a anorganické součásti mléka. Všechny tyto formy jsou ve vzájemné rovnováze mezi sebou navzájem i s ostatními složkami mléka (Thompson a kol., 2009). Primární soli vyskytující se v mléce jsou fosfáty, citráty, chloridy, sírany, uhličitany a hydrogenuhličitany sodíku, draslíku, vápníku a hořčíku. Poměr a množství minerálních solí je ovlivněn celou řadou faktorů od druhu krmiva, plemene dojníc až po fázi laktace (Tamime, 2003). Z hlediska funkce mají minerální látky vliv na stupeň bobtnání koloidů, regulují osmotický tlak (K a Na soli) a koncentraci vodíkových iontů. Jsou také aktivátory enzymů nebo jejich složek a mají rozhodující úlohu pro udržení acidobazické rovnováhy v mléce.

#### **3.2.1.2.5 Vitaminy**

Vitaminy jsou organické, exogenní biokatalyzátory, které jsou esenciální pro správnou funkci metabolismu. Mléko obsahuje všechny vitaminy v dostatečném množství pro podporu růstu a vývoje mláďat. Mléko obsahuje jak vitaminy rozpustné ve vodě, tak vitaminy rozpustné v tucích (jejich množství závisí na obsahu tuku v mléce). Zvýšené hladiny vitaminů jsou především v mlezivu. Další vliv na množství vitaminů má také roční doba. V letním období, době zeleného krmení a pastvy, mléko obsahuje více karotenů a vitaminů A, D, E a K.

#### **3.2.1.2.6 Enzymy**

Mléko obsahuje nativní enzymy, které mohou pocházet z leukocytů, somatických buněk, buněčné cytoplasmy nebo membrány buněčného tuku. Čerstvé kravské mléko od zdravých dojníc obsahuje okolo 70 enzymů, nicméně přítomnost dalších více než 40 enzymů byla prokázána díky jejich působení (Thompson a kol., 2009). Původní, nativní enzymy se nacházejí ve spojení s různými mléčnými komponentami, například kaseinovými micelami a membránou tukových kuliček. Dále jsou obsaženy v séru nebo v somatických buňkách. Mléčné enzymy mohou sloužit jako index zdraví zvířat nebo tepelné historie mléka, mohou mít za následek zhoršení kvality a vyvolání nežádoucích změn v mléce a v mléčných výrobcích, nebo naopak mohou poskytnout ochranné účinky (Fox, 2003).

Mezi technologicky významné enzymy patří laktoperoxidáza, která dokáže rozkládat peroxid vodíku na vodu a atomární kyslík, čímž působí antimikrobiálně. Stejně tak katalázy také mohou rozkládat peroxid vodíku na vodu a kyslík. Mléko katalázy obsahuje vždy, ale jejich aktivita je malá. Xantinoxidáza je schopna oxidovat xantin na hypoxantin a dále pak

na kyselinu močovou. Ve zdravém mléce je aktivita malá, ale v mléce dojnic s mastitidou se výrazně zvyšuje.

Lipázy hydrolyzující acylglyceroly na glycerol a mastné kyseliny jsou také přítomny v mléce a jejich aktivita je závislá na stádiu laktace. Fosfatázy mají schopnost hydrolyzovat estericky vázané kyseliny fosforečné z různých substrátů. Proteázy, alkalické i kyselé, jsou též přirozenou součástí enzymového systému, avšak mléko může obsahovat i proteázy z kontaminující mikroflóry, především psychrotrofní. Jejich inaktivace není snadná, protože jsou termostabilní a degradují až při teplotách 75 – 80 °C působících po dobu minimálně 10 – 20 min, takže často mohou působit i při zrání sýrů. Lysozym je přirozenou součástí obranného systému mléka, protože štěpí glykosidickou vazbu mukoproteinů v buněčné stěně gram pozitivních bakterií. Jeho aktivita klesá v průběhu laktace, zvýšená koncentrace pak indikuje poruchu sekrece mléka (Tamime, 2009).

### **3.2.1.3 Plyny**

Čerstvě nadojené mléko obsahuje průměrně asi 8 obj. % plynů, z nichž nejvíce zastoupen je oxid uhličitý. Část plynů se do mléka dostává po styku se vzduchem (dusík, kyslík). Oxid uhličitý přechází do mléka z krve. Ze všech plynů je v mléce nejméně žádoucí kyslík, který může zapříčinit oxidační procesy v mléce (Singh, 2013).



### 3.3 Výživa dojnic

Nejvýznamnějším činitelem vnějšího prostředí, který ovlivňuje mléčnou produkci, je výživa dojnic, a to nejen v množství, jakosti a skladbě, ale i ve zvolené technice krmení. Vliv výživy a krmení se projevuje především na zdravotním stavu dojnic, a poté na celkové produkci mléka a jeho jednotlivých složek. Nejen plnohodnotná, vyrovnaná krmná dávka a welfare zaručuje při dané genetické výbavě zvířat maximální produkci a kvalitu mléka (Urban, 1997).

Přežvýkavci jsou závislí nejen na obsahu živin v krmivu, ale také na průběhu fermentace těchto živin v předžaludcích. Hlavními fermentovatelnými složkami rostlinné hmoty v trávicím traktu polygastrů jsou celulóza, škrob, hemicelulózy a pektin. Skot rostlinnou potravu nejprve v předžaludcích zfermentuje, a pak teprve dojde k jejímu trávení ve slezu a tenkém střevě. Konečným stadiem je zpracování nestrávených zbytků navazující fermentací ve slepém a tlustém střevě. Schematický diagram gastrointestinálního procesu přežvýkavců je uveden na obr. 3 (Heinz a kol., 2006; Urban, 1997).

Klíčovým místem při procesu trávení je u mléčného skotu bachor, který je osídlen symbiotickou populací anaerobních mikroorganismů. V tomto žaludku je udržována stálá teplota 39 °C, pH zpravidla mezi 5,8 - 7,2 a mírně kolísající osmotický tlak. Stabilita pH je v bachoru udržována přísunem pufrujících látek slinami a odvodem kyselých fermentačních produktů bachorovou stěnou. Symbióza mezi makroorganismem přežvýkavce a bachorovými mikroorganismy umožňuje získávání energie z rostlinných polysacharidů. Mikroflóra bachoru je také významná díky své schopnosti syntetizovat vitamíny B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, biotin, kyselinu listovou, pantotenovou a nikotinovou (Bouška, 2006; Korhonen, 2000).

#### 3.3.1 Složení bachorové mikroflóry

Mezi hlavní skupiny bachorových mikroorganismů jsou řazeny celulólytické, amylolytické, dextrolytické, sacharolytické a proteolytické bakterie, nálevníci a houby. Celulólytické bakterie jsou nejvýznamnějšími členy bachorové mikroflóry. Tyto mikroorganismy štěpí celulózu a hemicelulózu pomocí enzymu celulózy na glukózu, kterou pak metabolizují na těkavé MK (především kyselinu octovou, propionovou a máselnou). Ty jsou vstřebány stěnou bachoru a tvoří cca 75 % energetického příjmu skotu. Kyselina octová je syntetizována v množství 55 - 75 % celkové produkce těkavých MK. Je využívána mléčnou žlázou k syntéze MK mléčného tuku a také jako zdroj energie pro tkáň. Kyselina

propionová tvoří 15 - 25 % z celkových těkavých MK. Je produkována ze škrobů a pektinů a využívána játry k syntéze glukózy, jež slouží v metabolismu zvířete jako zdroj energie a k syntéze mléčného cukru laktózy. Kyselina máselná je zdrojem energie pro tkáň a substrátem pro syntézu mléčného tuku. (Bouška, 2006; Dvořák, 2005).

Amylolytické a dextrolytické bakterie hydrolyticky štěpí škrob. Svým enzymovým vybavením degradují  $\alpha(1-4)$ -glykosidické vazby polysacharidů, ale nejsou schopny štěpit monosacharidy. Sacharolytické bakterie degradují tri- a disacharidy, které vznikají při činnosti celulólytických, amylolytických a dextrolytických zástupců bachorové mikroflóry. Také metabolizují vzniklé monosacharidy až na kyselinu propionovou a octovou. Proteolytické bakterie hydrolyticky štěpí bílkoviny na aminokyseliny (Bouška, 2006).

Nálevníci jsou obsaženi v bachoru v podstatně nižším počtu než bakterie. Svým pohybem v bachorové tekutině pomáhají mechanickému trávení bachorového obsahu a jejich těla slouží jako zdroj bílkovin. Tito prvoci též svými proteolytickými enzymy štěpí jak bílkoviny z krmiva, tak těla bakterií. Nálevníci se dále podílejí na štěpení složitých cukrů, celulózy i škrobu a monosacharidy zpětně ukládají ve formě polysacharidů. Hlavními produkty metabolismu cukrů říše *Protozoa* jsou nižší mastné kyseliny, laktát, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> a malé množství CH<sub>4</sub>. V bachoru jsou také obsaženy bachorové houby, které mají velmi vysokou celulólytickou a hemicelulólytickou aktivitu (Bouška, 2006; Dvořák, 2005).

### **3.3.2 Trávení sacharidů u skotu**

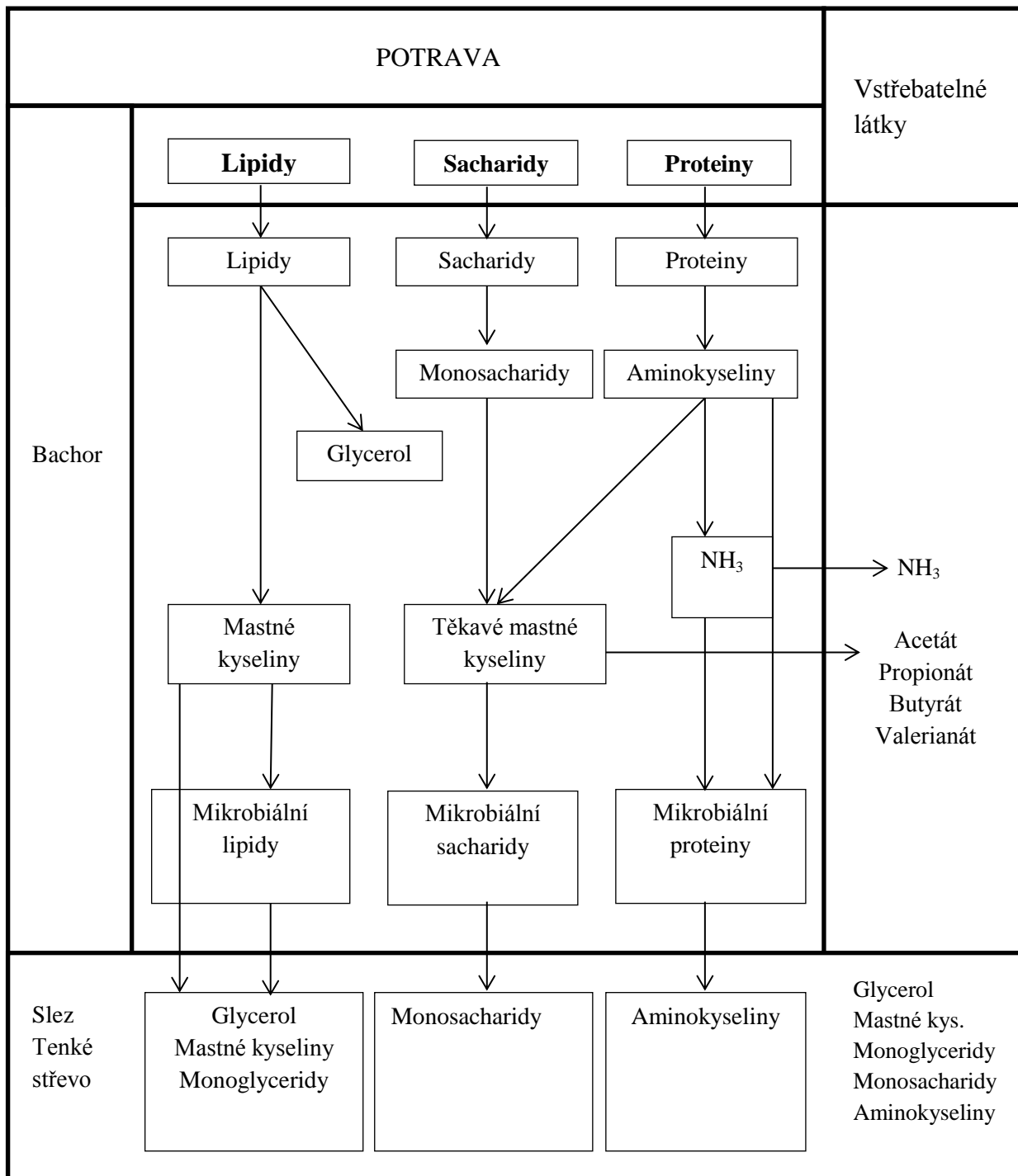
Krmivo je zdrojem sacharidů, které se zde vyskytují v různých formách monosacharidů a oligosacharidů až po polysacharidy. Sacharidy jsou primárními energetickými zdroji pro bachorové bakterie. Nejprve jsou fermentovány na jednoduché cukry a dále na kyselinu pyrohroznovou. Konečným produktem jejich metabolismu v bachoru jsou těkavé mastné kyseliny, které z 60 - 80 % zabezpečují energetické potřeby dojnice. Bachorová fermentace prakticky vylučuje možnost resorpce alimentárně přijatých sacharidů ve formě glukosy. Proto z hlediska potřeby krevní glukózy je u přežvýkavců tento monosacharid zajišťován intenzivní glukogenezí v játrech z kyseliny propionové, glukogenních aminokyselin a dalších prekurzorů (Dvořák, 2005).

### **3.3.3 Trávení lipidů u skotu**

Lipidy tvoří jen několikaprocentní obsah sušiny rostlinné hmoty (Urban, 1997). Bachorové mikroorganismy hydrolyzují triacylglyceroly na volné mastné kyseliny a glycerol, který je bachorovými mikroorganismy využíván jako zdroj energie (obrázek 6). Bachorové mikroorganismy dále částečně hydrogenují nenasycené mastné kyseliny z krmiva na nasycené (Dvořák, 2005). Urban (1997) dodává, že biohydrogenace je negativní jev, který snižuje nutriční hodnotu mléčného a depotního tuku skotu.

### **3.3.4 Trávení proteinů a dusíkový metabolismus u skotu**

Urban (1997) uvádí, že podstatnou složku rostlinné potravy tvoří také protein. Přibližně 60 - 70 % proteinu krmiva je degradováno pomocí bachorových mikroorganismů na peptidy, aminokyseliny nebo amoniak. Amoniak je opětovně využíván bachorovými bakteriemi jako zdroj dusíku pro syntézu mikrobiálních proteinů. Nevyužitý amoniak je absorbován bachorovou sliznicí do krve. V játrech je amoniak přeměňován na močovinu a opětovně recyklován do bachoru pomocí slin nebo jako močovina vylučován močí nebo mlékem (Dvořák, 2005). Mikrobiální bílkovina je trávena ve slezu a slouží přežvýkavci jako zdroj stavebních látek pro syntézu vlastních bílkovin.



Obrázek 6: Trávení živin u skotu (Heinz a kol., 2006).

## 4 Materiály a metody

### 4.1 Materiály

#### 4.1.1 Charakterizace biomasy *Chlorella* sp.

Pro kultivaci byl použit produkční kmen řasy *Chlorella* P12 vyselektovaný pracovníky Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR (MBÚ AVČR) v jižním Řecku. Složení kultury bylo analyzováno v laboratořích MBÚ AVČR v Třeboni a je uvedeno v tab. 10 - 13 (Doucha, 2011). Kompletní analýza komponentů je součástí přílohy 2.

**Tabulka 10: Zastoupení majoritních látek u produkčního kmene *Chlorella* P12.**

Složka	Množství [g/kg]
Dusíkaté látky	545
Škrob	120
Lipidy	97
Vláknina	50
Minerální látky	50
Nukleové kyseliny	45
Chlorofyly	35

**Tabulka 11: Zastoupení majoritních aminokyselin u produkčního kmene *Chlorella* sp. P12.**

Aminokyseliny	Množství [g/100 g]
Isoleucin	1,95
Leucin	4,43
Lysin	2,93
Methionin	1,16
Phenylalanin	2,63
Threonin	2,35
Tryptofan	0,80
Valin	3,04

**Tabulka 12: Zastoupení majoritních vitaminů u produkčního kmene *Chlorella* P12.**

Vitaminy	Množství [mg/100 g]
Vitamin B <sub>1</sub>	1,80
Vitamin B <sub>2</sub>	4,40
Vitamin B <sub>3</sub>	21,90
Vitamin B <sub>5</sub>	1,30
Vitamin B <sub>6</sub>	2,80
Vitamin B <sub>12</sub>	0,08
Vitamin H	0,03
Kyselina listová	2,20
Vitamin E	29,80
Vitamin C	45,50
$\beta$ -karoten	250,00

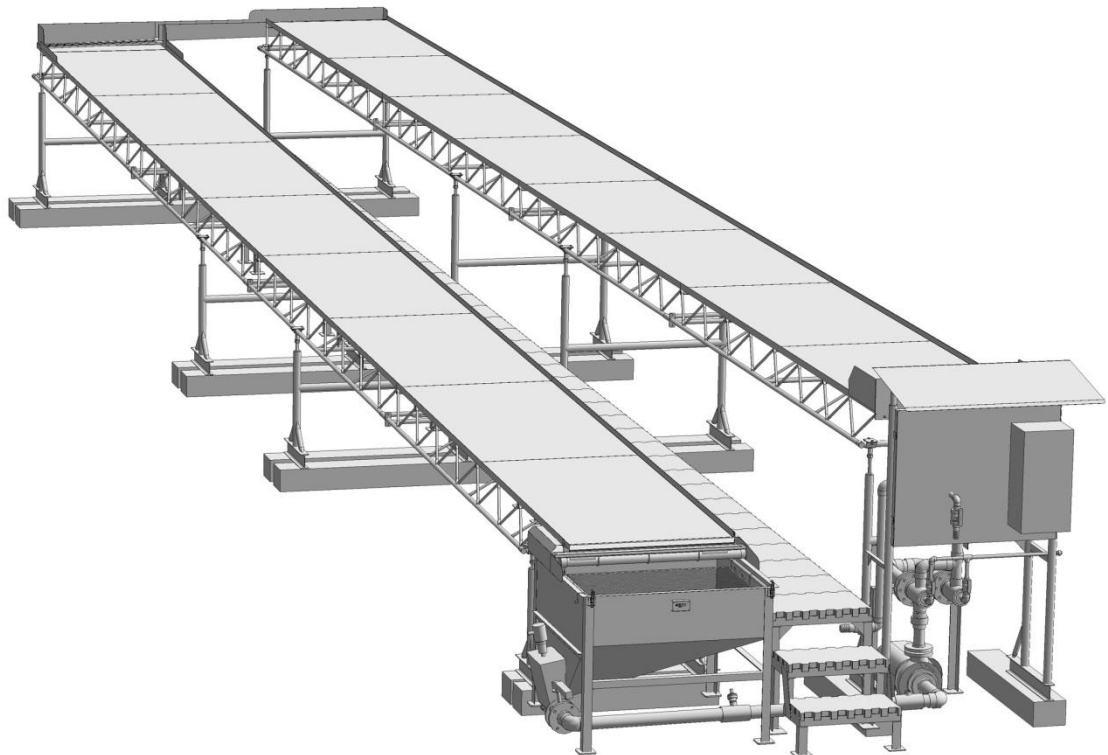
**Tabulka 13: Zastoupení majoritních minerálních látek u produkčního kmene *Chlorella* P12.**

Minerální látky	Množství [mg/100 g]
Fosfor	1200,0
Draslík	870,0
Síra	600,0
Hořčík	300,0
Vápník	230,0
Železo	70,0
Mangan	14,0
Zinek	11,0
Měď	4,0
Kobalt	0,5

#### 4.1.2 Kultivace řas *Chlorella* sp.

Kultivace řas produkčního kmene *Chlorella* P12 (Botanický ústav AV ČR, Třeboň) probíhala na 2 protisměrně položených meandrovitě uspořádaných spádových skleněných plošinách (1 x 8 m), jež byly vzájemně propojeny kovovým kanálkem a upevněny na kovové konstrukci (BCS Engineering, a.s., Brno). Obě plochy měly svažitý sklon 1,7 %. Řídící a monitorovací jednotka byla napojena na začátek plošin a na konci se nacházela nádrž, do které spadávala suspenze řas a byla opětovně přečerpávána na začátek kultivační jednotky. Nádrž fungovala též jako zásobník pro případ nepříznivého počasí (oblačno, déšť) nebo

pro noční provoz, kdy byly řasy pouze recirkulovány. Na obr. 7 je znázorněn schématický náčrtek použité kultivační plošiny a na obr. 8 je zobrazena tato konstrukce v provozu během kultivace *Chlorella* P12.



**Obrázek 7: Schématický náčrtek kultivační plošiny (BCS Engineering,a.s., Česká republika).**



**Obrázek 8: Fotobioreaktor (BCS Engineering,a.s., Česká republika) umístěný v Zemědělské společnosti Dublovice a.s.**

Celková plocha, která byla v provozu vystavena slunečnímu záření, čítala 32 m<sup>2</sup>. Objem suspenze řas stékající po plošině byl 250 l. Kultivace probíhala za slunečného počasí při teplotách od 15 do 35 °C na živném médiu, jehož složení je popsáno v kap. 4.1.3. Inokulace kultivační jednotky byla provedena suspenzí řasy vypěstované v laboratoři v množství 1 – 1,5 g sušiny na l živného média (optická hustota  $OD_{750} = 1 - 1,5$ ), tedy 12,5 – 18,8 l.

Každodenní kultivace začínala převodem systému cirkulace suspenze řas z nočního na denní režim. Ten spočíval v tom, že suspenze byla vynášena pomocí cirkulačního čerpadla na kultivační plochu, po níž nepřetržitě stékala. Dávkování CO<sub>2</sub> do řasové kultury bylo



regulováno průtokoměry (OP 9353, Radelkis). Sklopná deska byla nastavena tak, aby nebránila svodu buněk řas z kultivační plochy do sběrné nádrže. Po 8 – 12 h byl kultivační režim změněn na noční, při kterém bylo zastaveno dodávání kultury na kultivační plochu a dodávka spalin do suspenze. Buňky řas byly mechanicky smyty a uloženy ve sběrné nádrži, kde byla biomasa provzdušňována cirkulací.

Zdrojem CO<sub>2</sub> pro kultivaci řas byly spaliny z bioplynu, jež byly přiváděny porézními membránovými trubicemi do dopravníku suspenze biomasy na kultivační plochu během její cirkulace. Množství CO<sub>2</sub> v kultivační jednotce bylo regulováno pomocí pH média, jež se pohybovalo v rozmezí od 7,9 – 8,1. Voda odpařená během procesu byla automaticky kontinuálně doplňována.

#### 4.1.3 Složení živného roztoku pro kultivaci řas *Chlorella* sp.

Základ živného média tvořila pitná voda se směsí mikro a makroelementů. Potřeba jednotlivých složek, vztažená na denní přírůstek biomasy, je uvedena v tab. 14 - 15. Množství používaných komponent bylo dodáváno podle složení vody a podle aktuálních nutričních potřeb kultury pro zajištění požadovaného denního přírůstku. Složení živného roztoku pro produkční kultivaci bylo odvozeno od zastoupení jednotlivých prvků (N, P, K, Mg, S) v sušině pěstovaného kmene řas.

**Tabulka 14: Dávkování složek živného média dle denního přírůstku biomasy *Chlorella* P12.**

<b>Přírůstek řas [g/m<sup>2</sup>.den]</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>Množství</b>
Močovina	0,14	0,20	0,28	0,35	0,41	l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,11	0,15	0,20	0,25	0,31	L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,05	0,07	0,09	0,11	0,14	l
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,60	2,39	3,19	3,99	4,78	g
Mikroelementy I.	2,34	3,51	4,68	5,85	7,02	ml
Mikroelementy II.	2,34	3,51	4,68	5,85	7,02	ml

**Tabulka 15: Složení zásobních roztoků složek živného média.**

<b>Složka<sup>1</sup></b>		<b>Koncentrace [g/l]</b>
Močovina		400,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		125,0
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O		
Mikroelementy I	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	18,5
	CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	21,0
	MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	73,2
	CoSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	13,7
	ZnSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	59,5
Mikroelementy II	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	3,8
	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0,3

<sup>1</sup> Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a.

## 4.2 Výživa zvířat

Analýza vlivu suplementace řasou *Chlorella* P12 na složení kravského mléka byla provedena u 10 dojnic červeného strakatého skotu v období mezi druhou a třetí laktací. Zvířata shodných parametrů (stádium laktace - po otelení, počet laktací 2 - 3, průměrná dojivost 8500 kg/308 dní) byly náhodně rozděleny do 2 skupin (viz. tab. 16), kontrolní (C) a experimentální (E) o 5 kusech. Obě analyzovaná stáda byla volně ustájena, měla přístup ad libidum k pitné vodě a byla krmena krmnou dávkou, jejíž složení je uvedeno v tabulce 17 a příslušné analýzy složení krmných komponent v příloze 3. Celkový obsah sušiny, který byl podáván dojnícím holštýnského skotu v obou skupinách, činil 23,49 kg na kus a den. Skupina E, která byla selektována pro zkrmování *Chlorella* P12, dostávala navíc řasovou suspenzi v objemu 10 l na den. Biomasa řasy byla podávána v době, kdy dosáhla optické hustoty 35 g/l a představovala tedy 1,5 % denního příjmu sušiny.

Po celou dobu pokusu bylo se zvířaty zacházeno tak, aby byl zachován jejich welfare dle §16a zákona č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.

**Tabulka 16: Rozdělení pokusných dojnic červeného strakatého skotu do příslušných skupin dle podávané krmné dávky.**

Skupina	Dojnice
Kontrolní ( C )	40
	192
	301
	306
	412
Experimentální ( E )	299
	313
	391
	426
	617

**Tabulka 17: Složení standartní krmné dávky.**

<b>Složka</b>	<b>Množství [%]</b>	<b>Sušina [%]</b>
Kukuřičná siláž	47,8	43,1
Senáž vojtěško-travní	11,9	43,9
Senáž luskovino-obilná	11,9	35,3
Sláma	0,8	85,0
Mláto	11,9	17,8
Glycerin	1,0	83,0
Sójový extrudovaný šrot	5,7	89,0
Řepkový extrudovaný šrot	1,4	91,0
Pšeničný šrot	3,5	89,0
Kukuřičný šrot	3,0	90,0
Energy směs	0,6	98,0
TMR <sup>1</sup>	0,2	98,0
MONO <sup>2</sup>	0,2	98,0
MS doplněk <sup>3</sup>	0,2	98,0

<sup>1</sup> TMR je tekutý speciální produkt obsahující účinnou kombinaci propionanu amonného, propandiolu, kyseliny mléčné a glycerinu.

<sup>2</sup> Minerální krmivo pro odchov jalovic, pro zdravý růst a plodnost.

<sup>3</sup> Doplnkové krmivo pro dojnice a výkrm skotu, obsahuje močovinu a síru.

### **4.3 Odběr vzorků mléka**

Během experimentu byly odebírány individuální vzorky ranního mléka od sledovaných dojnic 1, 6, 11, 12 a 21 dnů po otelení odkapem z dojícího zařízení do sběrné nádoby. Z této nádoby bylo mléko po promíchání upuštěno do vzorkovnice a řádně označeno. Veškeré vzorky byly ihned zamrazeny v Zemědělské společnosti Dublovice a.s. a následně převezeny na Katedru kvality zemědělských produktů České zemědělské univerzity v Praze, kde byly provedeny příslušné analýzy.

### **4.4 Chemikálie**

Veškeré použité chemikálie byly o čistotě p.a. Chemikálie pro plynovou chromatografii byly v čistotě vhodné pro plynovou chromatografii a jsou popsány v tab. 18.

**Tabulka 18: Chemikálie pro plynovou chromatografií.**

Chemikálie	Výrobce
methanolvá báze 0,5 N	Supelco, Spojené státy americké
methanol pro plynovou chromatografií	LiChrosolv (R), Merck, Německo
FAME MIX	Supelco, Spojené státy americké
<i>n</i> -hexan pro organickou stopovou analýzu	Suprasolv (R), Merck, Německo

## 4.5 Přístrojové vybavení

V práci bylo použito běžného přístrojového vybavení analytické laboratoře. Seznam příslušenství pro plynovou chromatografií je uveden v tab. 19.

**Tabulka 19: Přístrojové příslušenství pro plynovou chromatografií.**

Zařízení	Výrobce
Plynový chromatograf 7890 A	Agilent Technologies, Spojené státy americké
Plamenově ionizační detektor s autosamplerem G 4513 A	Agilent Technologies, Spojené státy americké
kapilární kolona RT - 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,2 mm)	Agilent Technologies, Spojené státy americké

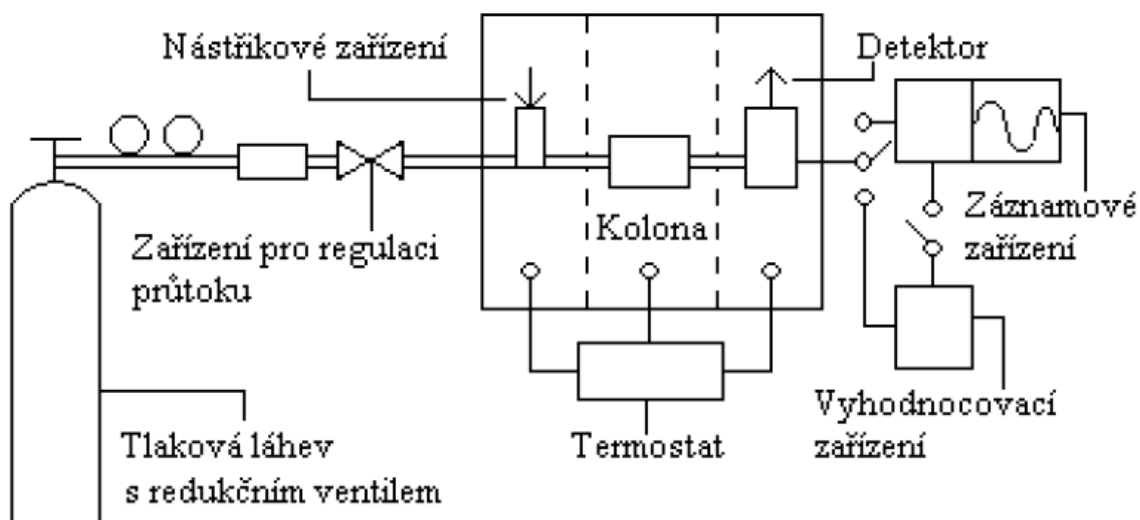
## 4.6 Analytické metody

### 4.6.1 Stanovení frakcí mastných kyselin plynovou chromatografií

Stanovení frakcí MK u vzorků syrového kravského mléka plynovou chromatografií (GC) s plamenově ionizační detekcí (FID) předcházelo převedení MK na methylestery. Před vlastní analýzou byly všechny vzorky rozmrazeny 1 min při teplotě 50 °C ve vodní lázni na magnetické míchačce (Heidolph, Německo). Po rozmrazení byla provedena separace mléčného tuku odstředěním po dobu 10 min při 15 000 rpm a pokojové teplotě na Mikrocentrifuga EBA 21, Hettich Zentrifugen, Spojené státy americké). Oddělená tuková vrstva rozehřátá při teplotě 51 °C po dobu 2 min na magnetické míchačce Hei-Standard (Heidolph, Německo) byla převedena do eppendorfovy zkumavky o objemu 1 ml. Následně bylo odebráno 40 µl mléčného tuku a převedeno do skleněné zkumavky. K připravenému množství vzorku bylo přidáno 0,5 ml koncentrovaného methanolu (LiChrosolv (R), Merck, Německo) a 0,5 ml methanolvé báze (Supelco, Spojené státy americké). Ihned po přidání příslušných chemikálií byla zkumavka zašpuntována, aby nedošlo k unikání těkavých složek a zahřívána 1 min ve vodní lázni K 10 E 1 (Medingen, Německo) o teplotě 80 °C. Na 30 s

byla zkumavka vyjmuta a protřepána, aby došlo k rozpuštění tukových kuliček. Po protřepání byla zkumavka vrácena na další 2 min do vodní lázně K 10 E 1 (Medingen, Německo) a poté prudce zchlazena pod proudem studené vody. Po ochlazení bylo přidáno 1,5 ml koncentrovaného hexanu (Merck, Německo) a po dobu 30 s byl obsah zkumavky intenzivně protřepáván. Následně byl přidán nasycený vodný roztok NaCl (Lach - Ner, s.r.o., Česká Republika), jenž byl doplněn 2 cm pod okraj zkumavky, a obsah byl opět 30 s intenzivně protřepáván. Takto připravený vzorek byl vložen na 10 min do odstředivky (Mikro 200 R, Hettich, Spojené státy americké) při 3500 rpm a pokojové teplotě. Po odstředění byla vzniklá hexanová vrstva odebrána a převedena do předem označené vialky.

Stanovení frakcí MK bylo provedeno na plynovém chromatografu 7890 A (Agilent Technologies, Spojené státy americké) s kapilární kolonou RT - 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,2 mm), FID detekcí (Agilent Technologies, Spojené státy americké). Schéma zařízení je zobrazeno na obr. 9.



**Obrázek 9: Schéma plynového chromatografu.**

Podmínky GC/FID pro stanovení frakcí MK byly následující: Počáteční teplota kolony byla 70 °C po dobu 2 min, poté byla teplota gradientem 5 °C/min zvýšena na 200 °C s výdrží 9 min a se stejným gradientem na konečných 240 °C s výdrží 15 min. Nástřik vzorku byl 1 µl a celková doba analýzy 60 min. Jako mobilní fáze bylo použito helia. Identifikace jednotlivých methylesterů MK byla provedena porovnáním retenčních časů získaných píků

se směsným standardem 37 methylesterů MK (FAME MIX, Sigma-Aldrich Co. LLC, Spojené státy americké), jehož chromatogram je uveden na obrázku 10. Plocha píků chromatogramů byla integrována za použití Lab Monitoring and Diagnostic softwaru plynového chromatografu (Agilent Technologies, Spojené státy americké). Od každého vzorku byla provedena 2 paralelní měření. Relativní procentuální zastoupení MK ve vzorcích bylo vypočteno podle vzorce (1).

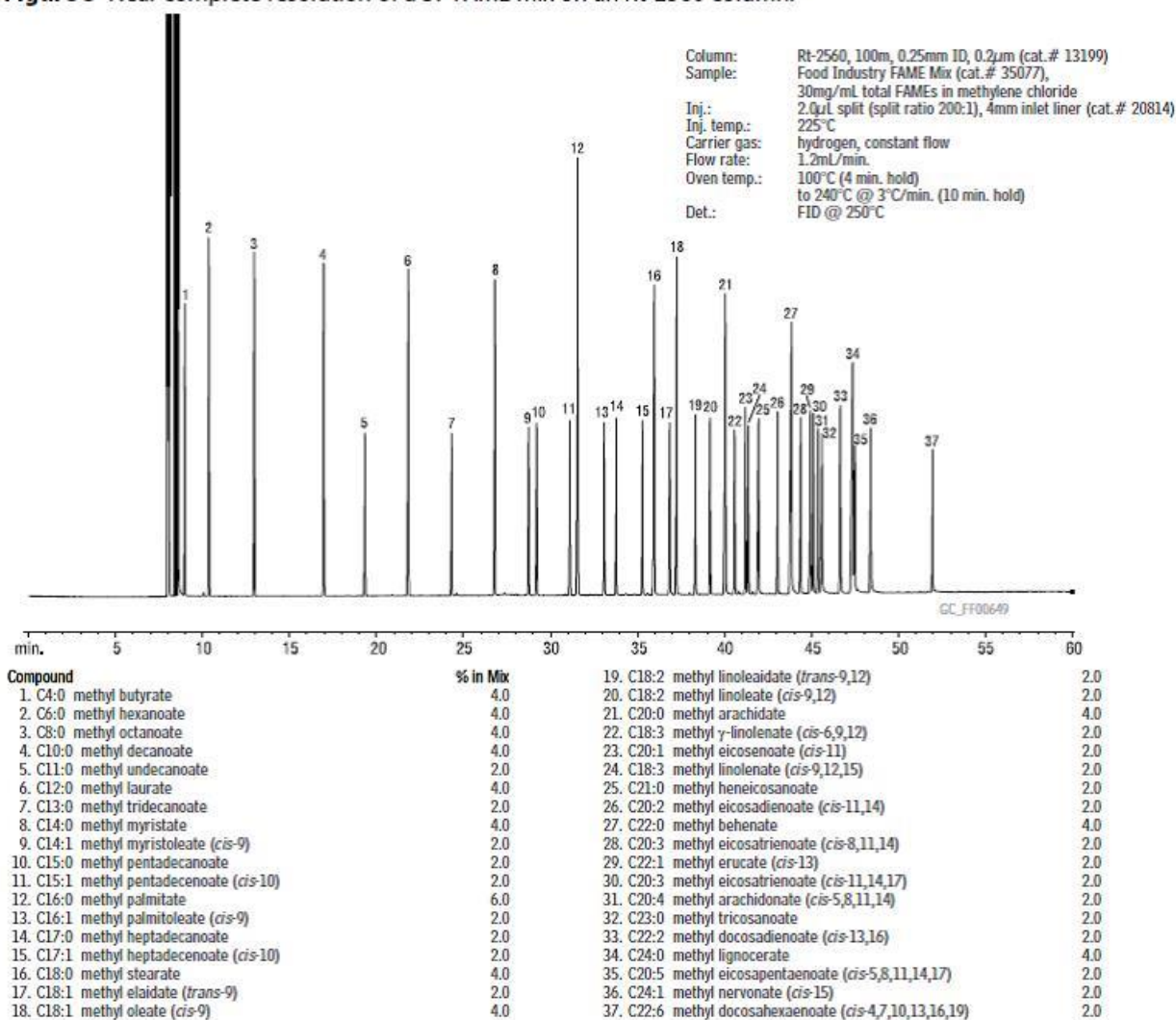
$$MK = \frac{Ax}{\Sigma A} \quad (1)$$

$MK$  = relativní zastoupení MK [%]

$Ax$  = plocha píku MK [pA]

$\Sigma A$  = celková plocha píků [pA]

**Figure 3** Near complete resolution of a 37 FAME mix on an Rt-2560 column.



**Obrázek 10:** Chromatogram standardu MK FAME MIX (Sigma-Aldrich Co., Spojené státy americké).

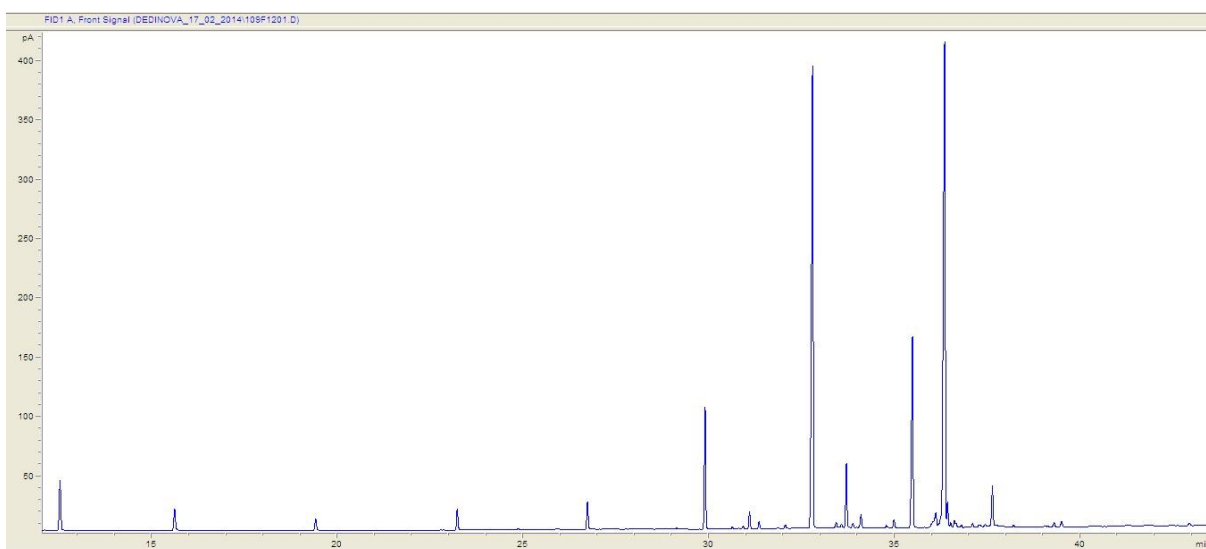
## 4.7 Statistická analýza

Statistické vyhodnocení získaných výsledků bylo provedeno programem Statistica pro Windows version 12 (StatSoft Inc., Spojené státy americké). Všechna naměřená data byla statisticky vyhodnocena analýzou rozptylu  $F$ -testem a průměrné hodnoty byly porovnány použitím Tukeyho testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

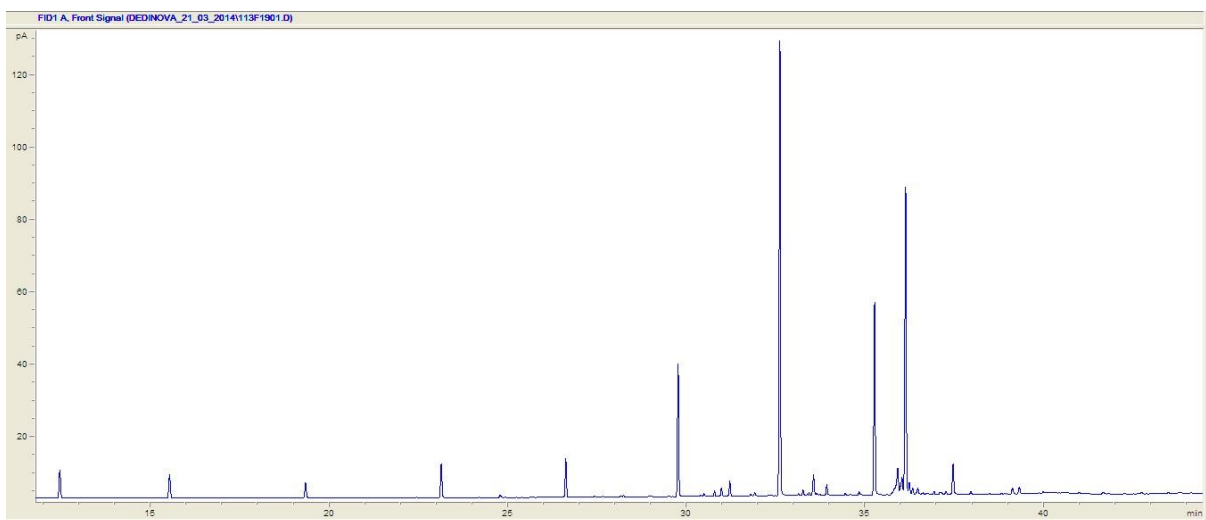


## 5 Výsledky

Byla provedena analýza vlivu suplementace krmiva dojníc řasami *Chlorella* sp. na profil MK jejich mléčného tuku pomocí GC/FID. Kontrolní skupina dojníc (C) byla krmena běžným krmivem, které je popsáno v kapitole 4.2. U experimentální skupiny zvířat (E) bylo krmivo obohaceno o 1,5 % zelených řas *Chlorella* P12 z celkového obsahu sušiny krmiva. Příklad chromatogramů profilu MK u obou pokusných skupin je uveden na obr. 11 a 12.



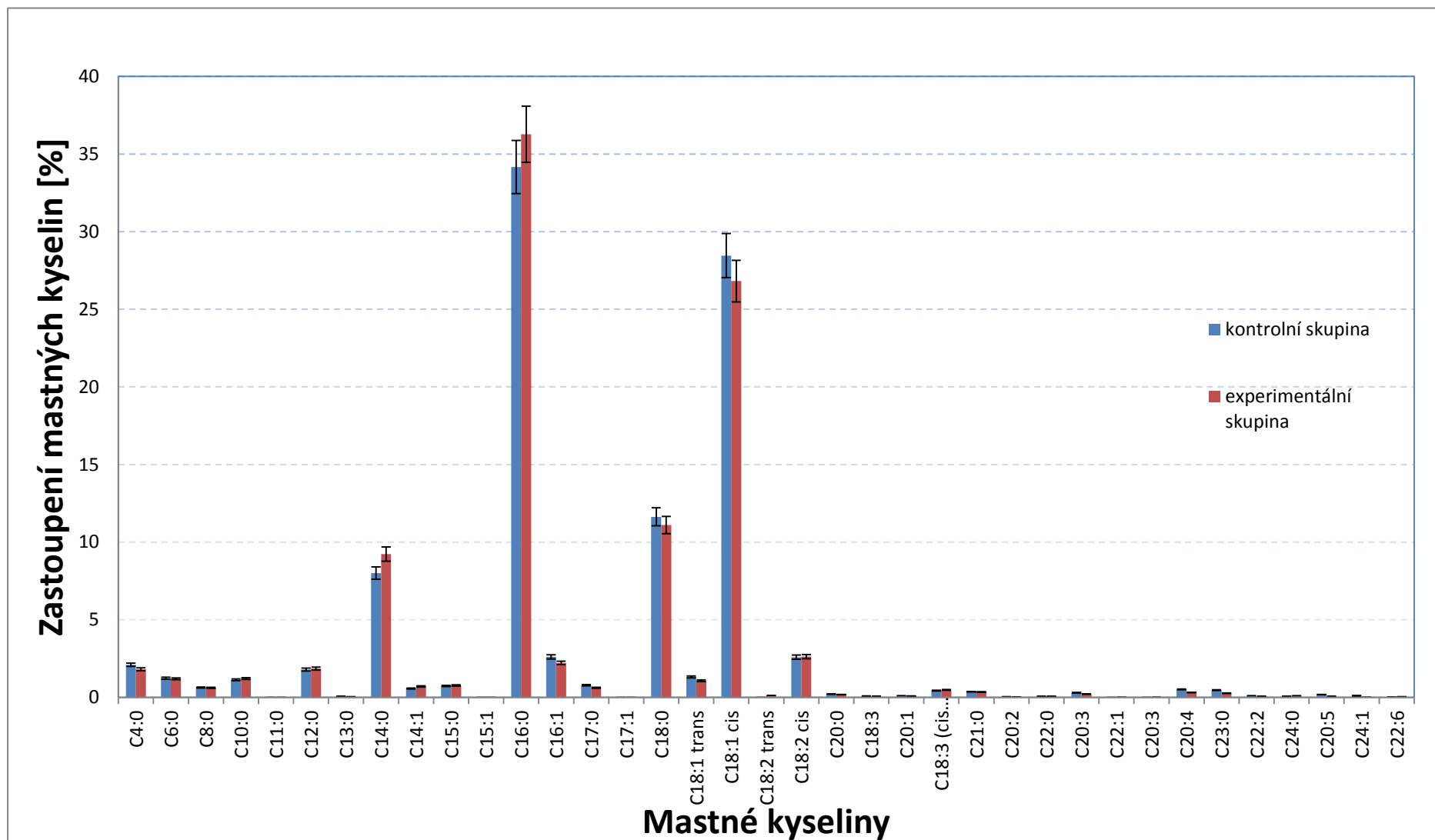
**Obrázek 11: Chromatogram profilu MK vzorku mléka dojnice skupiny C (dojnice č. 40, 6. den odběru).**



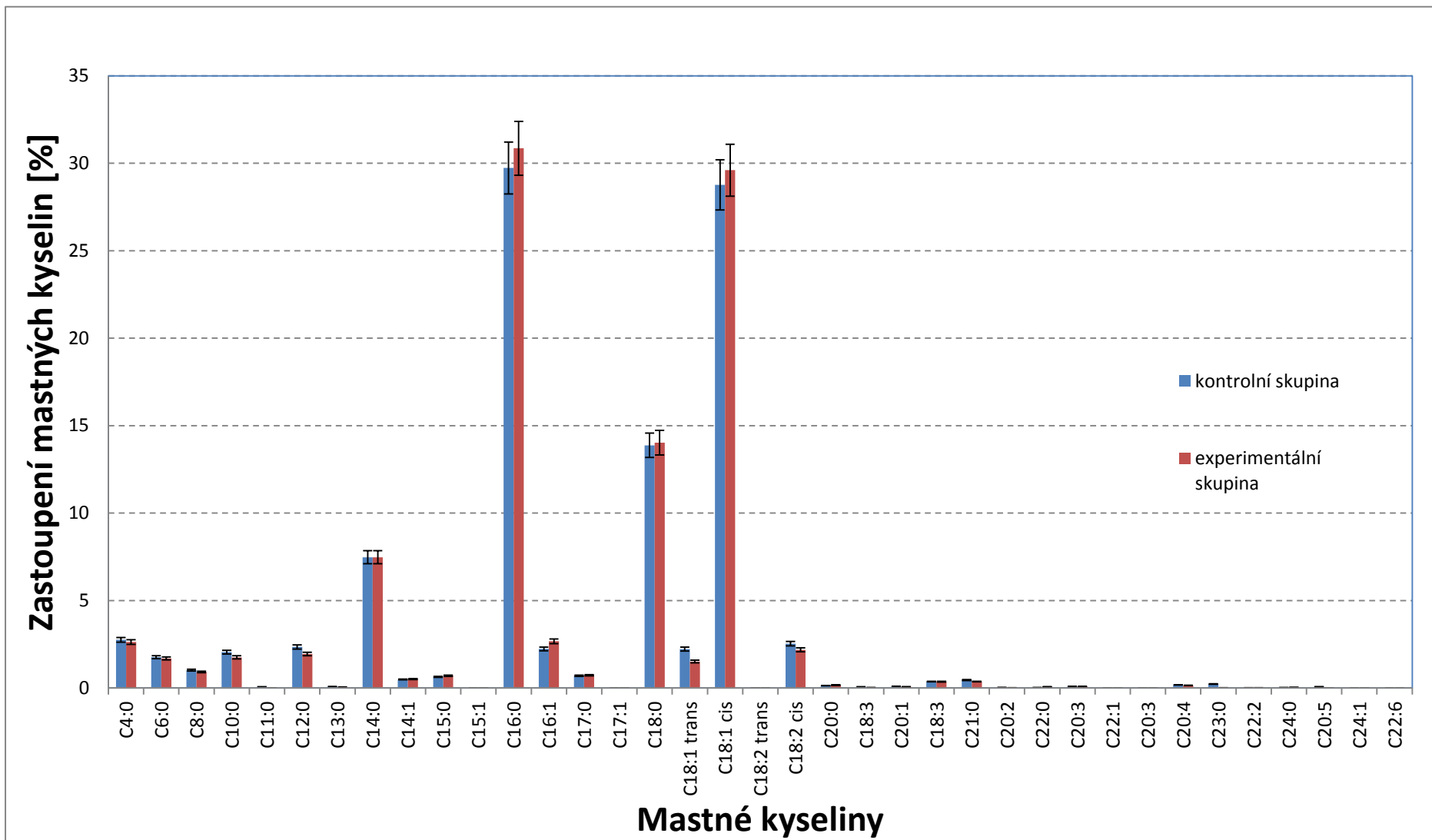
**Obrázek 12: Chromatogram profilu MK vzorku mléka dojnice skupiny E (dojnice č. 299, 16. den odběru).**

## 5.1 Vliv přídatku řas *Chlorella* sp. do krmné dávky dojnic na profil mastných kyselin v mléčném tuku

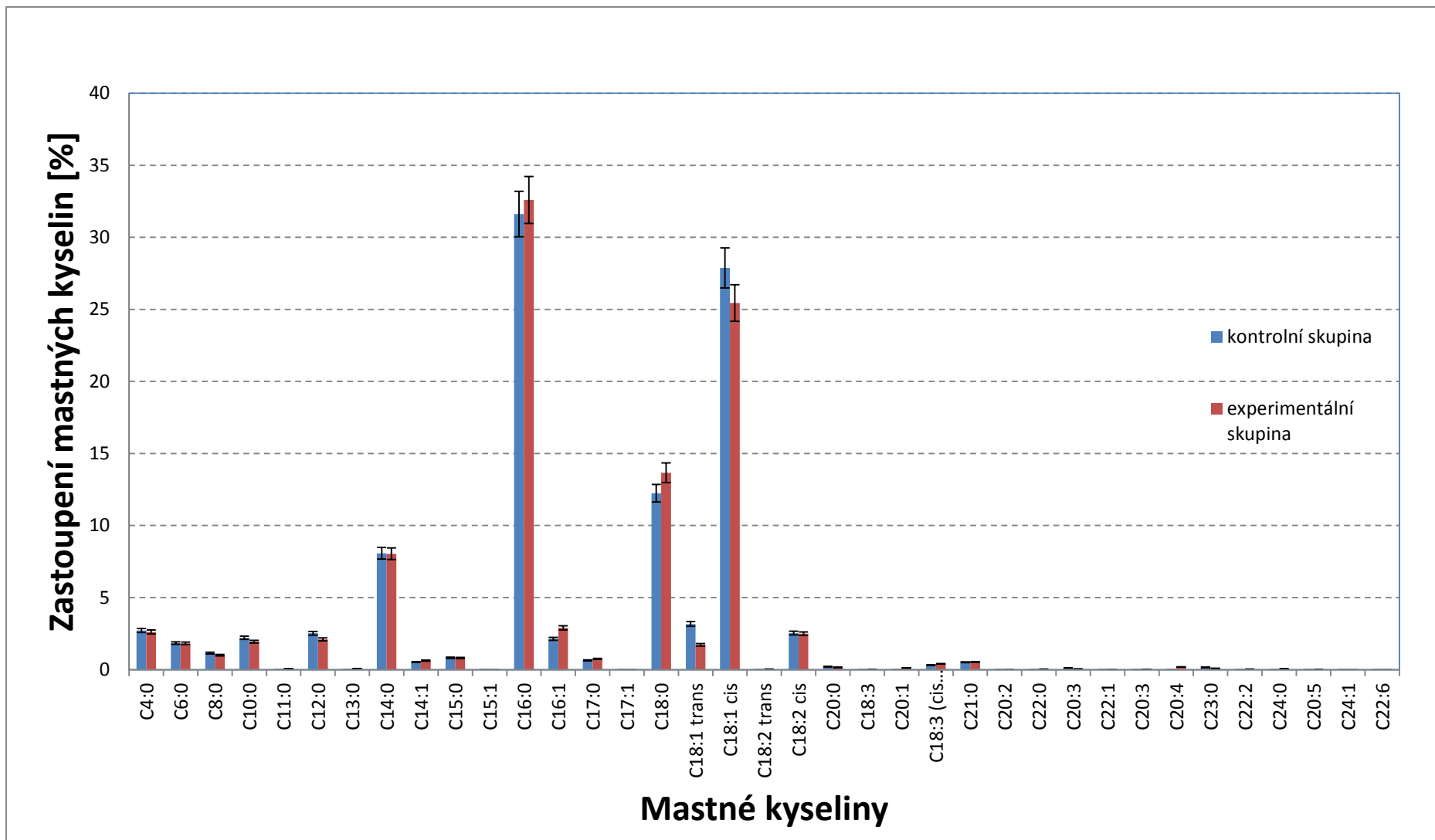
Vliv suplementace krmné dávky dojnic červeného strakatého skotu řasou *Chlorella* P12 na zastoupení MK v jejich mléce byl klasifikován v mlezivu a zralém mléku. Vzorke syrového mléka byly odebrány 1., 6., 11., 16. a 21. den po otelení. Identifikace jednotlivých methylesterů MK byla provedena porovnáním retenčních časů získaných píků se směsným standardem FAME MIX (37 methylesterů, Sigma-Aldrich Co., USA). Relativní procentuální zastoupení MK ve vzorcích je uvedeno na obr. 13 – 17. Přesné číselné hodnoty jsou uvedeny v příloze 4. Statistické vyhodnocení významnosti rozdílů v profilech MK skupin C a E na zvolené hladině pravděpodobnosti je zaznamenáno v tab. 20 – 24. Pokud byla hodnota  $p < 0,05$ , pak byl s 95% pravděpodobností prokázán statisticky významný rozdíl obsahu MK v mléce mezi oběma porovnávanými skupinami. Pokud výskyt určité MK nebyl v rámci daného odběru simultánní pro obě pokusná stáda, byla příslušná MK ze statistického souboru dat vyjmuta.



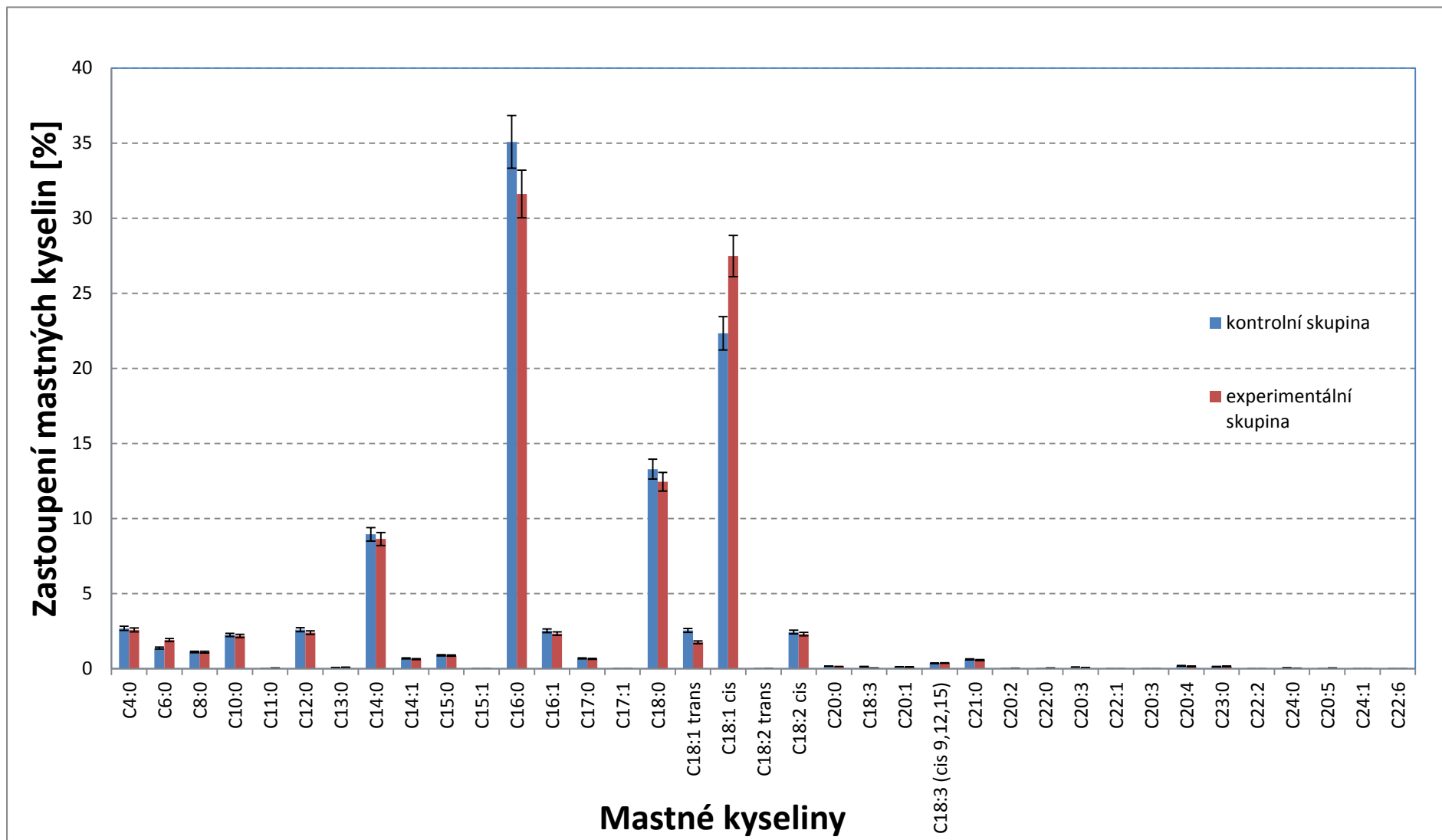
**Obrázek 13: Relativní procentuální zastoupení MK v mléce 1. den odběru po otelení.** Výsledky jsou zobrazeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.



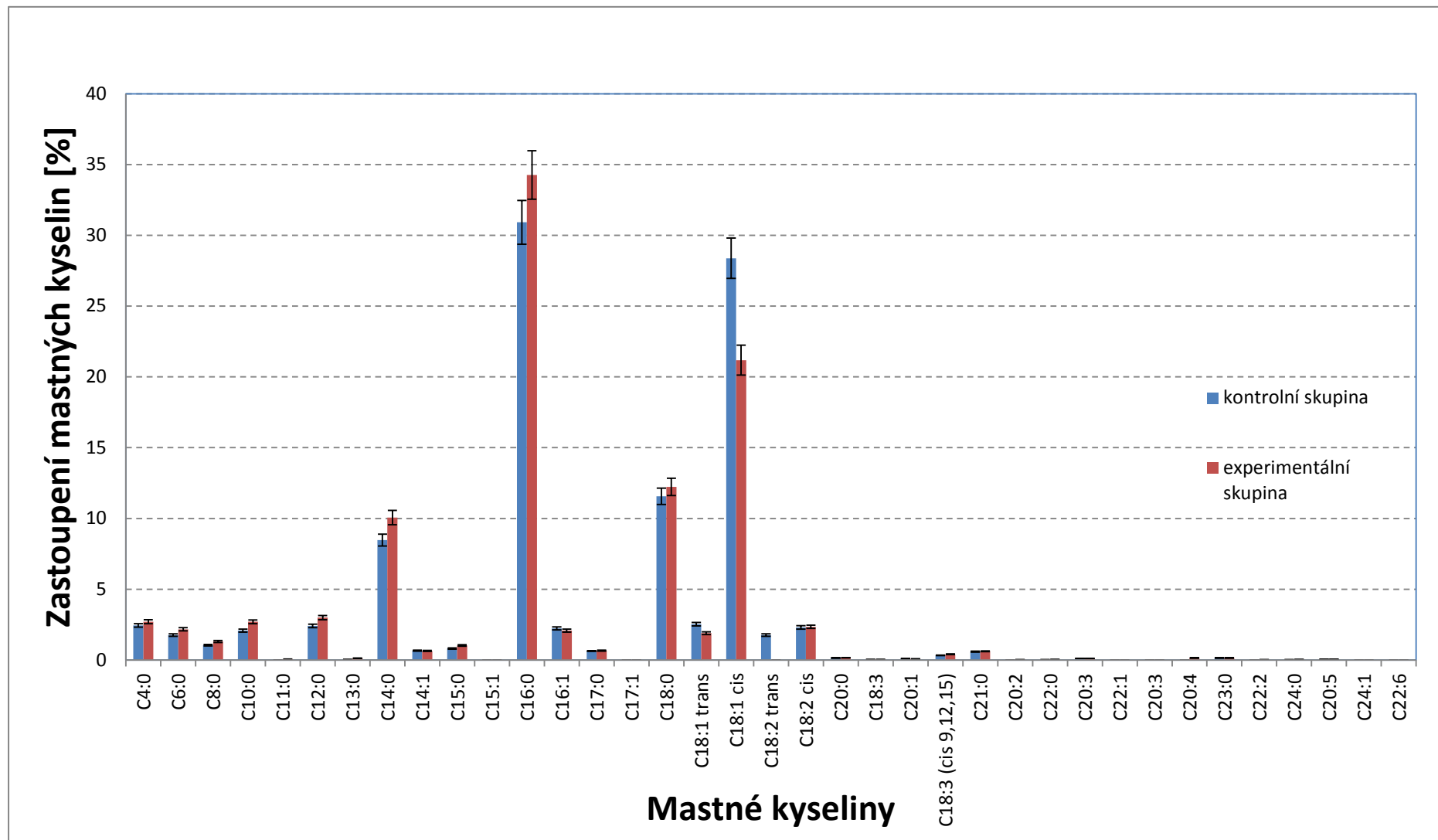
**Obrázek 14:** Relativní procentuální zastoupení MK v mléce 6. den odběru po otelení. Výsledky jsou zobrazeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení  $\pm$  směrodatná odchylka.



Obrázek 15: Relativní procentuální zastoupení MK v mléce 11. den odběru po otelení. Výsledky jsou zobrazeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.



**Obrázek 16: Relativní procentuální zastoupení MK v mléce 16. den odběru po otelení.** Výsledky jsou zobrazeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.



**Obrázek 17: Relativní procentuální zastoupení MK v mléce 21. den odběru po otelení.** Výsledky jsou zobrazeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Na obr. 13 je patrný vyšší obsah myristové (C<sub>14:0</sub>) a palmitové kyseliny (C<sub>16:0</sub>) v mléce dojnic skupiny E. Opačnou tendenci lze pozorovat u kyseliny palmitolejové (C<sub>16:1</sub>), stearové (C<sub>18:0</sub>) a olejové (C<sub>18:1</sub>).

Na obr. 14 je graf znázorňující změny relativního procentuálního zastoupení MK po 6 dnech od zahájení experimentu. Z grafu je patrný pokles nasycených mastných kyselin - máselné (C<sub>4:0</sub>), kapronové (C<sub>6:0</sub>), kaprylové (C<sub>8:0</sub>), kaprinové (C<sub>10:0</sub>) a laurové (C<sub>12:0</sub>) u dojnic experimentálního stáda. Snížen byl také obsah kyseliny *trans*-olejové (*trans*-C<sub>18:1</sub>) a jedné z *n*-6 MK, kyseliny linolové (*cis*-C<sub>18:2</sub>). K mírnému nárůstu obsahu pak došlo u kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>), palmitolejové (C<sub>16:1</sub>) a *cis*-olejové (*cis*-C<sub>18:1</sub>).

Na obr. 12 lze pozorovat zvýšení obsahu kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>), palmitolejové (C<sub>16:1</sub>), stearové (C<sub>18:0</sub>) a  $\alpha$ -linolenové (C<sub>18:3</sub>) v kravském mléce, kde byla krmná dávka zpestřena 1,5 % zelených řas. Naopak sníženo bylo množství olejové kyseliny a to v *cis* i *trans* konfiguraci (*trans*-C<sub>18:1</sub>, *cis*-C<sub>18:1</sub>).

Obrázek 16 uvádí data ze 16. dne pokusu. U skupiny E byl zaznamenán výrazný pokles množství kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>), menší pokles pak u stearové kyseliny (C<sub>18:0</sub>) a *trans*-izomeru kyseliny olejové (*trans*-C<sub>18:1</sub>). Dále bylo pozorováno několikaprocentní zvýšení množství *cis*-olejové kyseliny a výskytu kyseliny eikosapentaenové (C<sub>20:5</sub>).

Poslední, dvacátý první den měření, je zaznamenán na obr. 17. U zvířat stáda E došlo ke zvýšení obsahu u několika nasycených MK. Nejvíce vzrostlo množství kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) a myristové (C<sub>14:0</sub>). Narostlo také relativní procento zastoupení kyseliny máselné (C<sub>4:0</sub>), kapronové (C<sub>6:0</sub>), kaprylové (C<sub>10:0</sub>), laurové (C<sub>12:0</sub>) a stearové (C<sub>18:0</sub>). O několik relativních procent se naopak snížilo množství kyseliny olejové (C<sub>18:1</sub>) a k menšímu poklesu došlo u *trans*-izomeru kyseliny olejové.



**Tabulka 20: Statistické vyhodnocení profilu MK v závislosti na výživě dojnic 1. den experimentu.**

$\alpha = 0,05$	$Ap (C)^1$	$Ap (E)$	$p^2$	$\sigma^3 (C)$	$\sigma (E)$	F-poměr <sup>4</sup>	$p^5$
C <sub>4:0</sub>	2,102	1,810	0,398	0,344	0,646	3,536	0,249
C <sub>6:0</sub>	1,245	1,197	0,827	0,221	0,420	3,631	0,240
C <sub>8:0</sub>	0,637	0,618	0,879	0,152	0,227	2,236	0,455
C <sub>10:0</sub>	1,130	1,214	0,773	0,432	0,454	1,106	0,924
C <sub>12:0</sub>	1,796	1,858	0,814	0,481	0,301	2,550	0,387
C <sub>13:0</sub>	0,061	0,047	0,455	0,022	0,018	1,436	0,634
C <sub>14:0</sub>	8,015	9,236	0,325	1,332	2,236	2,819	0,340
C <sub>14:1</sub>	0,575	0,705	0,655	0,240	0,580	5,827	0,116
C <sub>15:0</sub>	0,743	0,771	0,837	0,216	0,202	1,144	0,899
C <sub>16:0</sub>	34,169	36,278	0,639	4,339	8,648	3,973	0,210
C <sub>16:1</sub>	2,613	2,217	0,586	0,800	1,337	2,798	0,343
C <sub>17:0</sub>	0,789	0,617	0,356	0,109	0,375	11,799	0,035
C <sub>18:0</sub>	11,637	11,107	0,842	2,974	4,942	2,763	0,349
<i>trans</i> -C <sub>18:1</sub>	1,321	1,078	0,507	0,610	0,492	1,534	0,689
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	28,465	26,824	0,697	4,790	7,721	2,597	0,378
<i>trans</i> -C <sub>18:2</sub>	0,000	0,129		0,000	0,000		
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	2,594	2,632	0,898	0,347	0,542	2,441	0,409
C <sub>20:0</sub>	0,215	0,179	0,463	0,079	0,067	1,400	0,752
C <sub>18:3</sub>	0,087	0,071	0,573	0,012	0,034	8,052	0,484
C <sub>20:1</sub>	0,116	0,092	0,367	0,023	0,042	3,267	0,357
C <sub>18:3 (cis-9,12,15)</sub>	0,437	0,480	0,651	0,102	0,182	3,160	0,291
C <sub>21:0</sub>	0,368	0,354	0,839	0,051	0,116	5,205	0,212
C <sub>20:2</sub>	0,049	0,034	0,359	0,003	0,017	37,741	0,205
C <sub>22:0</sub>	0,078	0,056	0,469	0,038	0,035	1,183	0,836
C <sub>20:3</sub>	0,306	0,219	0,355	0,146	0,111	1,723	0,683
C <sub>22:1</sub>	0,000	0,023		0,000	0,000		
C <sub>20:3 (cis-11,14,17)</sub>	0,000	0,020		0,000	0,000		
C <sub>20:4</sub>	0,180	0,152	0,245	0,006	0,024	15,666	0,315
C <sub>23:0</sub>	0,234	0,024	0,117	0,068	0,000	0,000	1,000
C <sub>22:2</sub>	0,023	0,024		0,000	0,000		
C <sub>24:0</sub>	0,038	0,043	0,835	0,016	0,000	0,000	1,000
C <sub>20:5</sub>	0,069	0,000		0,000	0,000		
C <sub>24:1</sub>	0,103	0,018		0,000	0,000		
C <sub>22:6</sub>	0,000	0,041		0,000	0,000		

<sup>1</sup> Aritmetický průměr kontrolní skupiny dojnic

<sup>2</sup> Parametr  $p$  je hodnota  $t$ -testu, pokud hodnota  $p$  je menší než hladina významnosti, je nulová hypotéza zamítnuta, z toho vyplývá statisticky významný rozdíl hodnot C a E skupin

<sup>3</sup> Směrodatná odchylka

<sup>4</sup>  $F$ -test, test shody rozptylů 2 normálních rozdělení

<sup>5</sup> 2-výběrový  $t$ -test, hodnota zobrazuje nejmenší hladinu významnosti, pro niž lze nulovou hypotézu zamítnout

Hodnocení v prvním dni experimentu nepřineslo žádné statisticky významné rozdíly v obsahu MK v mléce mezi oběma testovanými skupinami dojnic.

**Tabulka 21: Statistické vyhodnocení profilu MK v závislosti na výživě dojnic 6. den experimentu.**

$\alpha = 0,05$	$Ap$ (C)	$Ap$ (E)	$p$	$\sigma$ (C)	$\sigma$ (E)	$F$ -poměr	$p$ (Rozptyly)
C <sub>4:0</sub>	2,755	2,628	0,706	0,483	0,541	1,253	0,832
C <sub>6:0</sub>	1,764	1,695	0,818	0,407	0,510	1,572	0,672
C <sub>8:0</sub>	1,024	0,917	0,634	0,343	0,342	1,003	0,998
C <sub>10:0</sub>	2,051	1,753	0,578	0,869	0,751	1,340	0,784
C <sub>11:0</sub>	0,074	0,000		0,000	0,000		
C <sub>12:0</sub>	2,347	1,950	0,495	0,958	0,790	1,472	0,717
C <sub>13:0</sub>	0,087	0,060	0,524	0,044	0,038	1,345	1,000
C <sub>14:0</sub>	7,475	7,478	0,998	1,615	1,882	1,358	0,774
C <sub>14:1</sub>	0,487	0,510	0,853	0,223	0,157	2,025	0,511
C <sub>15:0</sub>	0,638	0,706	0,690	0,248	0,272	1,200	0,864
C <sub>16:0</sub>	29,729	30,852	0,311	1,183	1,996	2,849	0,335
C <sub>16:1</sub>	2,234	2,675	0,500	0,587	1,267	4,658	0,165
C <sub>17:0</sub>	0,703	0,729	0,473	0,059	0,049	1,426	0,739
C <sub>18:0</sub>	13,874	14,022	0,920	2,500	1,997	1,567	0,674
<i>trans</i> -C <sub>18:1</sub>	2,231	1,514	0,075	0,744	0,252	8,716	0,059
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	28,766	29,604	0,831	5,341	6,628	1,540	0,686
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	2,531	2,183	0,067	0,295	0,218	1,831	0,572
C <sub>20:0</sub>	0,145	0,169	0,333	0,030	0,034	1,274	0,746
C <sub>18:3</sub>	0,076	0,032	0,296	0,027	0,000	0,000	1,000
<b>C<sub>20:1</sub></b>	<b>0,094</b>	<b>0,072</b>	<b>0,021</b>	<b>0,004</b>	<b>0,007</b>	<b>3,272</b>	<b>0,424</b>
C <sub>18:3</sub> ( <i>cis</i> -9,12,15)	0,372	0,366	0,924	0,123	0,076	2,616	0,374
C <sub>21:0</sub>	0,454	0,369	0,295	0,092	0,030	9,341	0,470
C <sub>20:2</sub>	0,025	0,023		0,000	0,000		
C <sub>22:0</sub>	0,034	0,071	0,680	0,000	0,054	0,000	1,000
C <sub>20:3</sub>	0,085	0,083	0,896	0,022	0,010	5,486	0,617
C <sub>20:3</sub> ( <i>cis</i> -11,14,17)	0,000	0,020		0,000	0,000		
C <sub>20:4</sub>	0,180	0,152	0,245	0,006	0,024	15,666	0,315
C <sub>23:0</sub>	0,234	0,024	0,117	0,068	0,000	0,000	1,000
C <sub>22:2</sub>	0,023	0,024		0,000	0,000		
C <sub>24:0</sub>	0,038	0,043	0,835	0,016	0,000	0,000	1,000
C <sub>20:5</sub>	0,069	0,000		0,000	0,000		
C <sub>22:6</sub>	0,000	0,041		0,000	0,000		

Šestý den experimentu byl zaznamenán statisticky významný rozdíl v obsahu kyseliny eikosapentaenové (C<sub>20:1</sub>), který poklesl o 0,02 % v kravském mléce skupiny E.

**Tabulka 22: Statistické vyhodnocení profilu MK v závislosti na výživě dojníc 11. den experimentu.**

$\alpha = 0,05$	$Ap$ (C)	$Ap$ (E)	$p$	$\sigma$ (C)	$\sigma$ (E)	$F$ -poměr	$p$ (Rozptyly)
C <sub>4:0</sub>	2,718	2,615	0,729	0,261	0,586	5,025	0,147
C <sub>6:0</sub>	1,845	1,826	0,949	0,230	0,582	6,369	0,100
C <sub>8:0</sub>	1,154	1,005	0,520	0,338	0,363	1,152	0,894
C <sub>10:0</sub>	2,208	1,942	0,604	0,760	0,795	1,095	0,932
<b>C<sub>11:0</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,052</b>	<b>0,005</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>12:0</sub>	2,525	2,103	0,456	0,868	0,833	1,083	0,940
C <sub>13:0</sub>	0,000	0,070	0,312	0,000	0,052	0,000	1,000
C <sub>14:0</sub>	8,076	8,042	0,975	1,147	2,086	3,307	0,273
C <sub>14:1</sub>	0,531	0,625	0,450	0,193	0,159	1,478	0,695
C <sub>15:0</sub>	0,819	0,813	0,977	0,292	0,408	1,949	0,534
C <sub>16:0</sub>	31,614	32,595	0,717	0,871	5,777	43,986	0,003
C <sub>16:1</sub>	2,138	2,903	0,230	0,288	1,286	19,991	0,013
C <sub>17:0</sub>	0,643	0,750	0,227	0,078	0,144	3,354	0,348
C <sub>18:0</sub>	12,244	13,660	0,509	2,855	3,577	1,570	0,673
<i>trans</i> -C <sub>18:1</sub>	3,174	1,731	0,060	1,116	0,822	1,843	0,560
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	27,877	25,444	0,733	3,610	14,955	17,164	0,018
<i>trans</i> -C <sub>18:2</sub>	0,000	0,038		0,000	0,000		
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	2,539	2,496	0,883	0,444	0,454	1,043	0,968
C <sub>20:0</sub>	0,210	0,175	0,592	0,000	0,054	0,000	1,000
C <sub>18:3</sub>	0,000	0,032	0,145	0,000	0,012	0,000	1,000
C <sub>20:1</sub>	0,000	0,120	0,062	0,000	0,037	0,000	1,000
C <sub>18:3</sub> ( <i>cis</i> -9,12,15)	0,322	0,399	0,305	0,073	0,121	2,774	0,428
C <sub>21:0</sub>	0,512	0,531	0,906	0,184	0,233	1,604	0,707
C <sub>20:2</sub>	0,000	0,014		0,000	0,000		
C <sub>22:0</sub>	0,000	0,043	0,371	0,000	0,033	0,000	1,000
C <sub>20:3</sub>	0,128	0,061	0,065	0,000	0,021	0,000	1,000
C <sub>22:1</sub>	0,000	0,014		0,000	0,000		
C <sub>20:3</sub> ( <i>cis</i> -11,14,17)	0,000	0,020		0,000	0,000		
C <sub>20:4</sub>	0,000	0,182	0,258	0,000	0,064	0,000	1,000
C <sub>23:0</sub>	0,150	0,085	0,360	0,000	0,048	0,000	1,000
C <sub>22:2</sub>	0,150	0,042	0,205	0,000	0,030	0,000	1,000
C <sub>24:0</sub>	0,000	0,053	0,181	0,000	0,023	0,000	1,000
C <sub>20:5</sub>	0,000	0,030	0,134	0,000	0,005	0,000	1,000
C <sub>22:6</sub>	0,000	0,041		0,000	0,000		

Jedenáctý den pokusu Bylo statisticky průkazné zvýšení obsahu undecylové kyseliny (C<sub>11:0</sub>) v mléce o 0,05 % u experimentálních dojníc s obohacenou krmnou dávkou.

**Tabulka 23: Statistické vyhodnocení profilu MK v závislosti na výživě dojníc 16. den experimentu.**

$\alpha = 0,05$	$Ap (C)$	$Ap (E)$	$P$	$\sigma (C)$	$\sigma (E)$	$F$ -poměr	$p$ (Rozptyly)
C <sub>4:0</sub>	2,679	2,573	0,835	1,060	0,276	14,751	0,023
C <sub>6:0</sub>	1,362	1,909	0,189	0,817	0,235	12,052	0,033
C <sub>8:0</sub>	1,103	1,101	0,991	0,280	0,175	2,566	0,384
C <sub>10:0</sub>	2,241	2,179	0,865	0,644	0,438	2,160	0,474
<b>C<sub>11:0</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,038</b>	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>	<b>0,019</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>12:0</sub>	2,595	2,395	0,652	0,835	0,465	3,222	0,283
C <sub>13:0</sub>	0,067	0,082	0,673	0,000	0,028	0,000	1,000
C <sub>14:0</sub>	8,940	8,632	0,823	2,790	1,005	7,712	0,073
C <sub>14:1</sub>	0,686	0,637	0,684	0,199	0,127	2,452	0,487
C <sub>15:0</sub>	0,883	0,867	0,937	0,302	0,302	1,001	0,999
C <sub>16:0</sub>	35,078	31,611	0,360	7,464	2,826	6,977	0,086
C <sub>16:1</sub>	2,521	2,325	0,769	1,041	1,002	1,080	0,942
C <sub>17:0</sub>	0,685	0,648	0,582	0,118	0,074	2,527	0,392
C <sub>18:0</sub>	13,282	12,439	0,681	4,048	1,778	5,182	0,140
<b>trans-C<sub>18:1</sub></b>	<b>2,547</b>	<b>1,752</b>	<b>0,035</b>	<b>0,633</b>	<b>0,247</b>	<b>6,582</b>	<b>0,100</b>
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	22,332	27,473	0,455	13,741	5,028	7,468	0,077
<i>trans</i> -C <sub>18:2</sub>	0,000	0,035		0,000	0,000		
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	2,431	2,299	0,651	0,578	0,237	5,971	0,112
C <sub>20:0</sub>	0,160	0,140	0,583	0,056	0,034	2,706	0,426
<b>C<sub>18:3</sub></b>	<b>0,130</b>	<b>0,041</b>	<b>0,010</b>	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>20:1</sub>	0,125	0,097	0,416	0,020	0,038	3,572	0,701
C <sub>18:3</sub> ( <i>cis</i> -	0,356	0,369	0,822	0,092	0,056	2,695	0,442
C <sub>21:0</sub>	0,620	0,563	0,472	0,127	0,090	1,962	0,606
<b>C<sub>20:2</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,025</b>	<b>0,040</b>	<b>0,000</b>	<b>0,007</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>22:0</sub>	0,000	0,060	0,100	0,000	0,034	0,000	1,000
C <sub>20:3</sub>	0,110	0,068	0,247	0,039	0,035	1,254	0,689
C <sub>20:4</sub>	0,189	0,156		0,000	0,000		
C <sub>23:0</sub>	0,129	0,143	0,711	0,000	0,029	0,000	1,000
C <sub>24:0</sub>	0,058	0,028		0,000	0,000		
<b>C<sub>20:5</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,043</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>

Statisticky významné bylo 16. den experimentu zvýšení obsahu kyseliny undecylové (C<sub>11:0</sub>) o 0,04 %, eikosadienové (C<sub>20:2</sub>) o 0,03 % a (C<sub>20:5</sub>) o 0,04 % v mléčném tuku skupiny E. Statisticky průkazné bylo u této skupiny i snížení obsahu *trans*-izomeru kyseliny elaidové (*trans*-C<sub>18:1</sub>) o 0,8 % a  $\gamma$ -linolenové kyseliny o 0,09 %.

**Tabulka 24: Statistické vyhodnocení profilu MK v závislosti na výživě dojníc 21. den experimentu.**

$\alpha = 0,05$	$Ap (C)$	$Ap (E)$	$P$	$\sigma (C)$	$\sigma (E)$	$F$ -poměr	$p$ (Rozptyly)
C <sub>4:0</sub>	2,446	2,707	0,358	0,389	0,454	1,361	0,772
C <sub>6:0</sub>	1,763	2,172	0,146	0,366	0,433	1,404	0,750
C <sub>8:0</sub>	1,051	1,314	0,190	0,284	0,294	1,069	0,950
C <sub>10:0</sub>	2,085	2,702	0,178	0,640	0,679	1,126	0,911
<b>C<sub>11:0</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,066</b>	<b>0,011</b>	<b>0,000</b>	<b>0,019</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>12:0</sub>	2,406	2,999	0,263	0,814	0,744	1,196	0,866
<b>C<sub>13:0</sub></b>	<b>0,024</b>	<b>0,128</b>	<b>0,014</b>	<b>0,034</b>	<b>0,033</b>	<b>1,025</b>	<b>0,737</b>
C <sub>14:0</sub>	8,473	10,064	0,281	2,251	2,098	1,151	0,895
C <sub>14:1</sub>	0,664	0,641	0,838	0,201	0,144	1,950	0,534
C <sub>15:0</sub>	0,817	1,031	0,357	0,456	0,177	6,607	0,095
C <sub>16:0</sub>	30,921	34,261	0,292	2,966	5,916	3,980	0,210
C <sub>16:1</sub>	2,236	2,085	0,718	0,639	0,637	1,008	0,994
C <sub>17:0</sub>	0,634	0,662	0,573	0,078	0,073	1,145	0,899
C <sub>18:0</sub>	11,572	12,230	0,554	1,308	1,997	2,331	0,432
<i>trans</i> -C <sub>18:1</sub>	2,530	1,897	0,245	1,115	0,175	40,570	0,003
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	28,380	21,178	0,268	6,807	11,681	2,945	0,320
<i>trans</i> -C <sub>18:2</sub>	1,762	0,000		0,000	0,000		
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	2,307	2,348	0,666	0,155	0,129	1,442	0,731
C <sub>20:0</sub>	0,155	0,159	0,863	0,031	0,040	1,738	0,678
C <sub>18:3</sub>	0,048	0,051	0,912	0,000	0,016	0,000	1,000
C <sub>20:1</sub>	0,096	0,078	0,171	0,001	0,014	97,270	0,149
C <sub>18:3</sub> ( <i>cis</i> -9,12,15)	0,332	0,409	0,112	0,062	0,073	1,387	0,759
C <sub>21:0</sub>	0,594	0,615	0,886	0,275	0,068	16,267	0,045
<b>C<sub>20:2</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,030</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>22:0</sub>	0,036	0,047	0,678	0,000	0,022	0,000	1,000
C <sub>20:3</sub>	0,112	0,109	0,940	0,029	0,060	4,458	0,383
<b>C<sub>20:4</sub></b>	<b>0,000</b>	<b>0,155</b>	<b>0,005</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>
C <sub>23:0</sub>	0,148	0,153	0,821	0,036	0,011	10,518	0,177
C <sub>22:2</sub>	0,000	0,036		0,000	0,000		
C <sub>24:0</sub>	0,037	0,048	0,599	0,009	0,024	7,176	0,455
C <sub>20:5</sub>	0,043	0,044	0,958	0,018	0,012	2,234	0,547

21. den pokusu byl u zvířat skupiny E potvrzen statisticky průkazný rozdíl u kyseliny undecylové (C<sub>11:0</sub>), která se navýšila o 0,07 %; kyseliny tridecylové (C<sub>13:0</sub>), jež vzrostla o 0,1 %; eikosadienové kyseliny (C<sub>20:2</sub>), u níž se obsah zvýšil o 0,03 % a kyseliny arachidonové (C<sub>20:4</sub>), jejíž množství vrostlo na 0,16 % z celkového obsahu všech MK.

Z výše uvedených výsledků je patrné, že nasycené MK jsou v kravském mléčném tuku majoritní. Nejvíce zastoupeny byly kyselina palmitová ( $C_{16:0}$ ), která se vyskytovala v rozmezí od 22 – 35 % všech MK mléčného tuku. Dále pak kyselina myristová ( $C_{14:0}$ ) a kyselina stearová ( $C_{18:0}$ ), které se pohybovaly v rozmezí od 9 do 14 % obsahu všech MK. Z nenasycených MK byla nejvíce zastoupena kyselina olejová (*cis*- $C_{18:1}$ ), a to v obsahu 20 až 30 % MK.

Bylo zjištěno, že obsah kyseliny máselné ( $C_{4:0}$ ) v mléce se pohyboval od 1,67 do 4,41 % u skupiny C. U skupiny E se množství kyseliny máselné nacházelo v rozmezí 0,80 až 3,53 % všech MK. Množství kyseliny kapronové ( $C_{6:0}$ ) bylo obsaženo v množství od 0,08 do 2,30 % v případě zvířat C. V mléce skupiny E bylo proměřeno množství kapronové kyseliny v obsahu 0,73 až 2,89 % všech MK. Další MK, která byla měřena na plynovém chromatografu, byla kyselina kaprylová ( $C_{8:0}$ ). Její množství se pohybovalo od 0,48 do 1,71 % při podávání běžného krmiva a 0,46 až 1,80 % u experimentální krmné dávky. Kyselina kaprinová ( $C_{10:0}$ ) se nacházela v mléce v množství od 0,73 do 3,23 % u skupiny C. Obsah kaprinové kyseliny byl vyšší u skupiny E, a to 0,81 až 3,84 %. Další nasycená MK, která byla obsažena ve všech vzorcích mléčného tuku, byla kyselina laurová ( $C_{12:0}$ ). Od 1,26 do 3,69 % laurové kyseliny bylo obsaženo v mléce dojníc s běžnou krmnou dávkou a 1,07 až 4,28 % u dojníc s experimentální krmnou dávkou. Kyselina myristová ( $C_{14:0}$ ) byla zjištěna v mléce dojníc C v množství od 4,34 do 11,02 %. Její obsah byl vyšší po obohacení potravy o 1,5 % *Chlorella* P12 a to 5,38 až 13,81 % z celkového množství MK. Nejvíce zastoupenou MK v kravském mléce byla kyselina palmitová ( $C_{16:0}$ ), jež byla zastoupena v mléce z 26,15 - 46,84 % u dojníc skupiny C. 26,94 - 51,69 % kyseliny palmitové z celkového obsahu všech MK bylo naměřeno u dojníc skupiny E. Poslední majoritní nasycenou MK vyskytující se v mléčném tuku byla stearová kyselina ( $C_{18:0}$ ). U zvířat C se její množství pohybovalo od 8,11 do 19,91 %. V mléce zvířat E poklesl obsah stearové kyseliny na 4,06 - 18,90 %.

Z monoenoových MK byly v mléce zastoupeny kyselina palmitoolejová ( $C_{16:1}$ ), jejíž obsah byl v mléce C dojníc v rozmezí 1,53 až 3,69 % ze všech MK. U E dojníc se palmitoolejová kyselina vyskytovala od 0,39 do 4,39 %. Majoritní kyselinou byla také kyselina olejová ( $C_{18:1}$ ), která byla zastoupena z 21,29 - 40,56 % v mléce dojníc s běžnou stravou. Při použití experimentální krmné dávky se její množství pohybovalo od 15,04 do 40,83 % z obsahu všech MK.

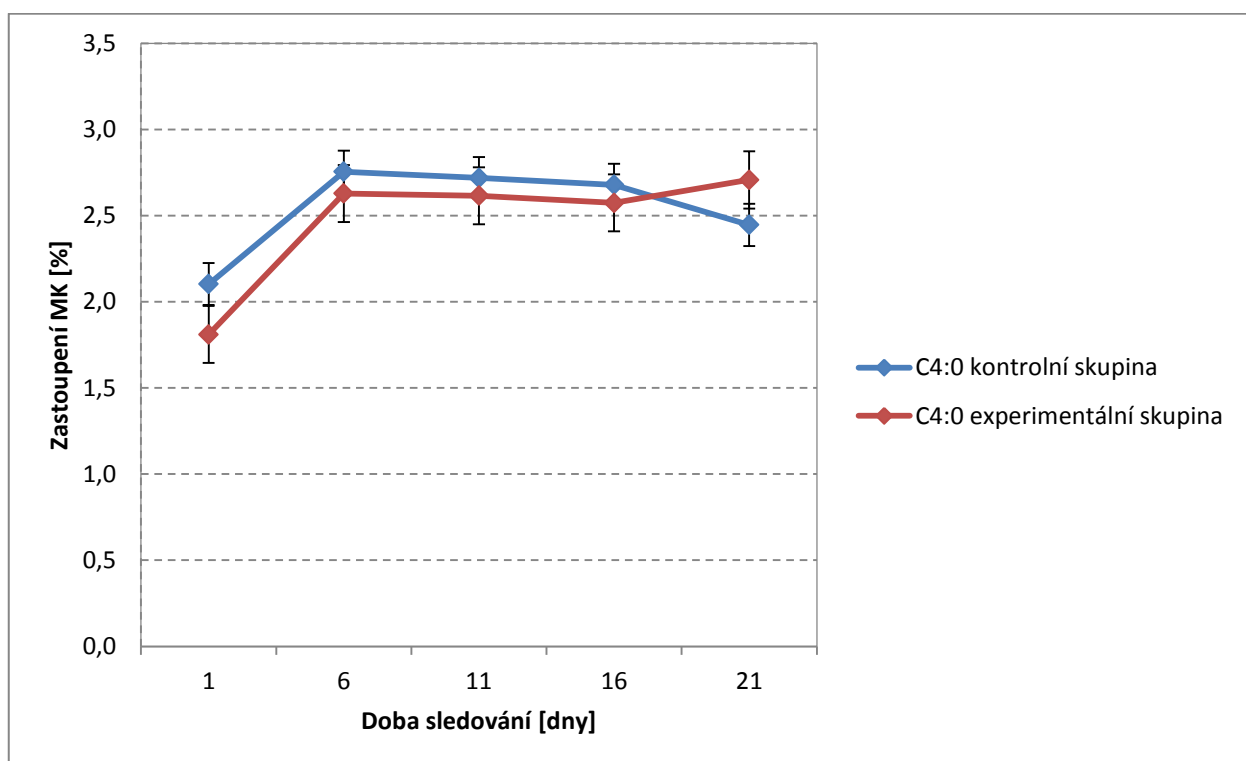
Polyenové mastné kyseliny byly v mléčném tuku kravského mléka nalezeny v malém množství. Nejvíce zastoupenou byla kyselina linolová (C<sub>18:2</sub>), jež byla ve vzorcích mléka obsažena v rozmezí od 1,86 do 3,36 %. U skupiny dojnic E bylo zaznamenáno množství linolové kyseliny od 1,85 do 3,24 %. Druhou *n*-6 MK vyskytující se v mléce je kyselina arachidonová (C<sub>20:4</sub>). Její množství bylo proměřeno v hodnotách do 0,52 % v mléce dojnic s běžným krmivem a do 0,51 % u dojnic s obohacenou krmnou dávkou řasou *Chlorella* P12.

Nejdůležitější skupinou z hlediska zdravotního významu je skupina *n*-3 MK, kam patří  $\alpha$ -linolenová (C<sub>18:3</sub>), eikosapentaenová (C<sub>20:5</sub>) a dokosahexaenová (C<sub>22:6</sub>) kyselina. Množství  $\alpha$ -linolenové kyseliny se pohybovalo od 0,26 do 0,59 % v případě zvířat skupiny C. V mléčném tuku zvířat skupiny E se množství  $\alpha$ -linolenové kyseliny umísťovalo na škále od 0,28 do 0,79 % všech MK. Kyselina eikosapentaenová byla zastoupena v kravském mléce v cca 0,25 %. Po přidavku *Chlorella* P12 se množství kyseliny eikosapentaenové snížilo na 0,09 % všech MK. Zastoupení dokosahexaenové kyseliny (C<sub>22:6</sub>) v mléce obou pozorovaných skupin dojnic bylo do 0,04 %.

Pomocí GC/FID byly detekovány i další MK, které se nacházely pouze u některých vzorků nebo jejich množství bylo menší než 0,1 %. Tyto jsou uvedeny v příloze 4.

## 5.2 Vliv přidavku řas *Chlorella* sp. do krmné dávky dojnic na vývoj obsahu majoritních mastných kyselin v mléčném tuku.

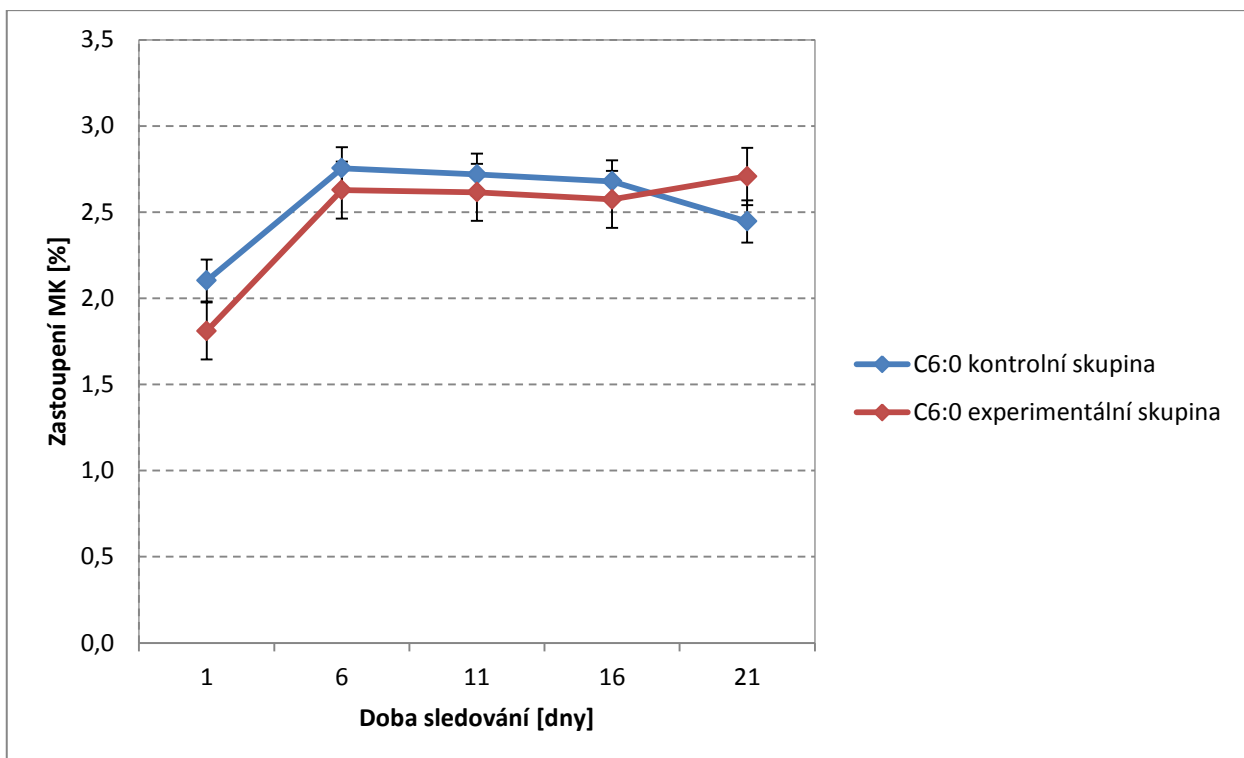
Vývoj obsahu majoritních MK v mléčném tuku v průběhu pokusu je zobrazen na obr. 18 – 28. Pro sledování trendu závislosti zastoupení MK na suplementaci krmné dávky biomasou *Chlorella* P12 a na stádiu laktace byly vybrány kyseliny máselná (C<sub>4:0</sub>), kapronová (C<sub>6:0</sub>), kaprylová (C<sub>8:0</sub>), kaprinová (C<sub>10:0</sub>), laurová (C<sub>12:0</sub>), myristová (C<sub>14:0</sub>), palmitová (C<sub>16:0</sub>), palmitoolejová (C<sub>16:1</sub>), stearová (C<sub>18:0</sub>), olejová (*cis*-C<sub>18:1</sub>), linolová (*cis*-C<sub>18:2</sub>) a CLA.



**Obrázek 18: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny máselné (C<sub>4:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

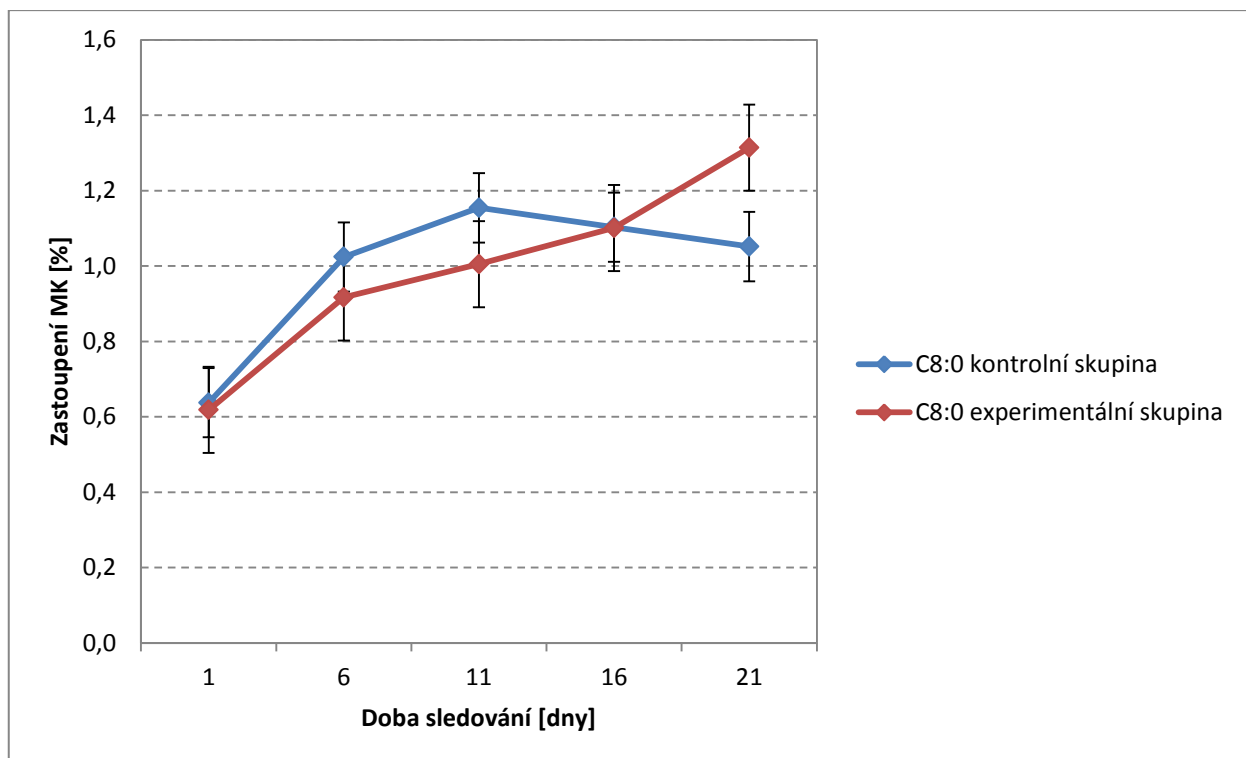
Na obr. 18 je patrný shodný průběh nárůstu obsahu kyseliny máselné (C<sub>4:0</sub>) od prvního do šestého dne a následný nepatrný pokles do šestnáctého dne u obou pokusných skupin. Poté se křivky rozdělily. Obsah máselné kyseliny (C<sub>4:0</sub>) dvacátý první den stoupl v mléce dojnic E, zatímco v případě skupiny C nadále klesal. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.





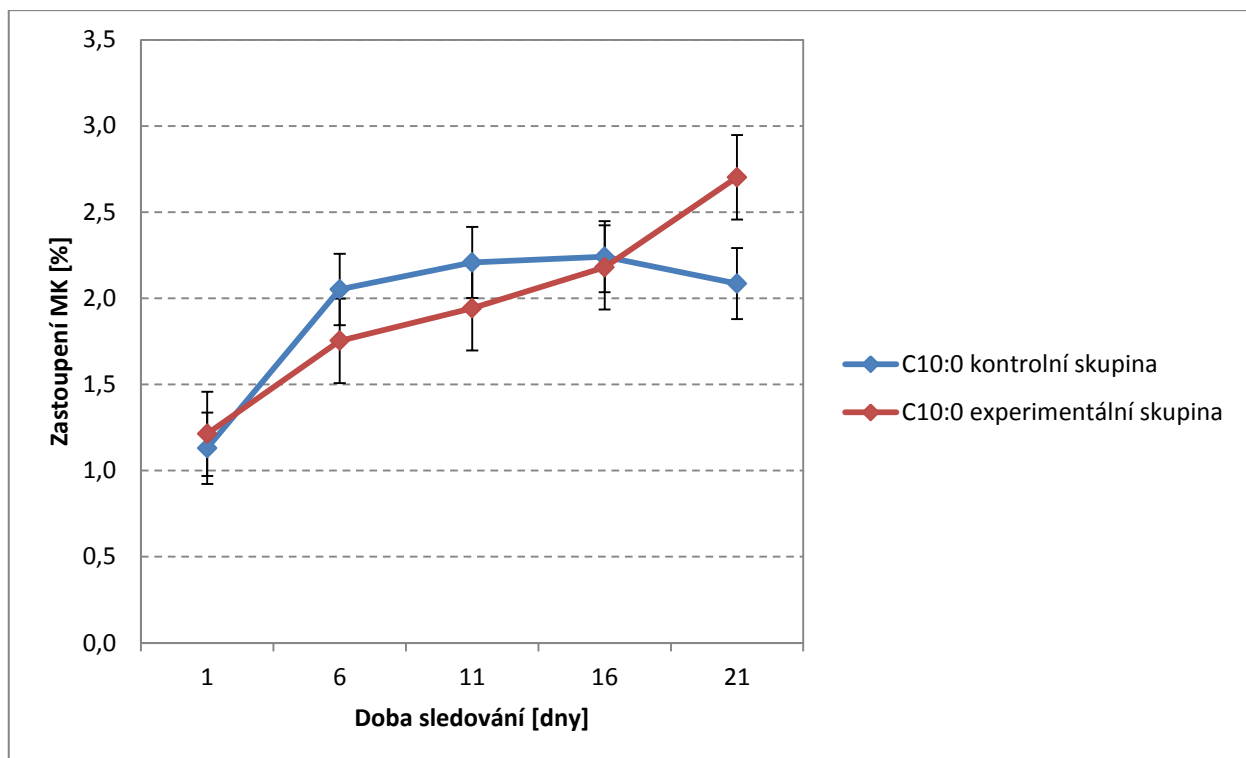
**Obrázek 19: Vliv suplementace krmné dávky dojníc *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny kapronové (C<sub>6:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Z výsledků uvedených na obr. 19 je vidět u obou pokusných skupin shodný trend ve změnách zastoupení kyseliny kapronové (C<sub>6:0</sub>) v průběhu experimentu jako v případě kyseliny máselné (C<sub>4:0</sub>). Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



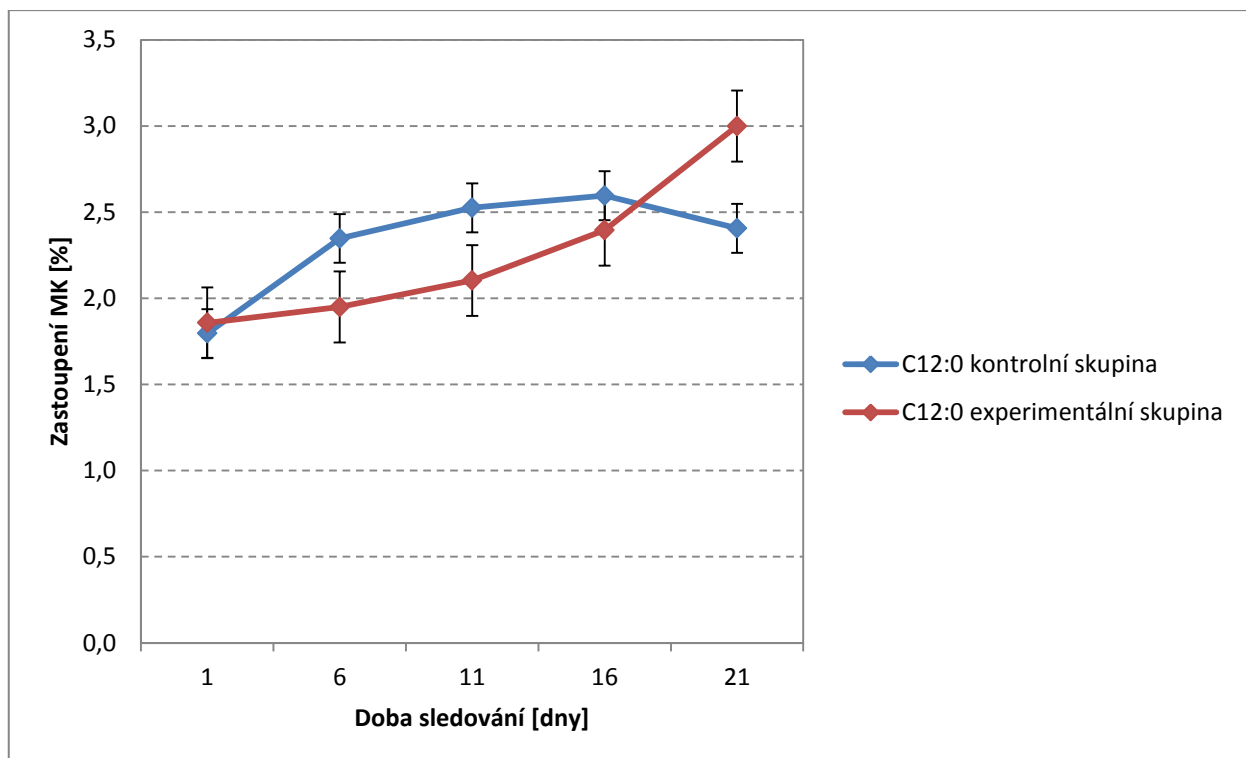
**Obrázek 20: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny kaprylové (C<sub>8:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Vývoj obsahu kaprylové kyseliny (C<sub>8:0</sub>) je popsán na obr. 20. Zde je vidět nárůst jejího množství z 0,62 na 1,31 % v mléce dojnic s experimentální krmnou dávkou. Množství kaprylové kyseliny (C<sub>8:0</sub>) v mléčném tuku zvířat se standardní krmnou dávkou se zvyšovalo do jedenáctého dne až na hodnotu 1,15 % všech MK, ale po dalších 2 odběrech vzorků hodnota klesala až k 1,05 %. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



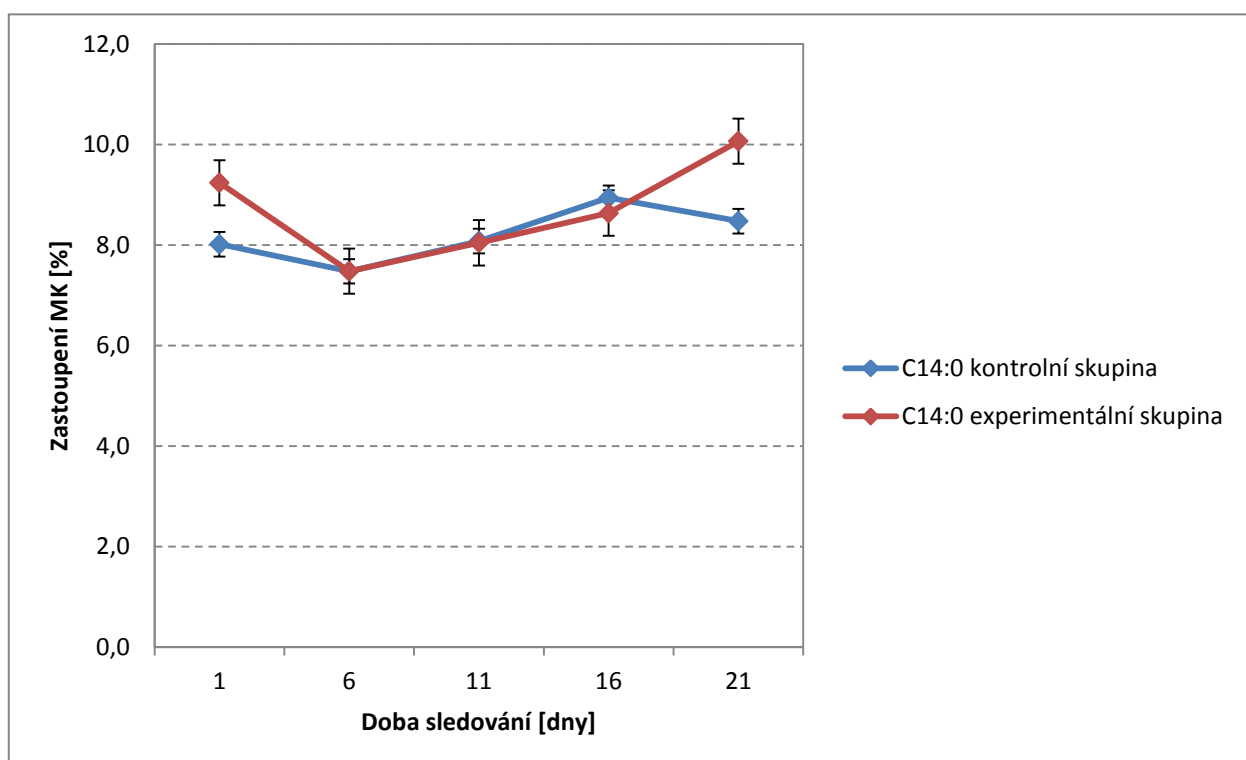
**Obrázek 21: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny kaprinové (C<sub>10:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Množství kyseliny kaprinové (C<sub>10:0</sub>) v mléce E dojnic vzrostlo v průběhu experimentu z 1,21 na 2,70 %. U dojnic stáda C byla pozorována stejná tendence jako u předchozí MK a její množství vzrůstalo šestnáct dní k hodnotě 2,24 % a poté kleslo na hodnotu 2,09 %. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



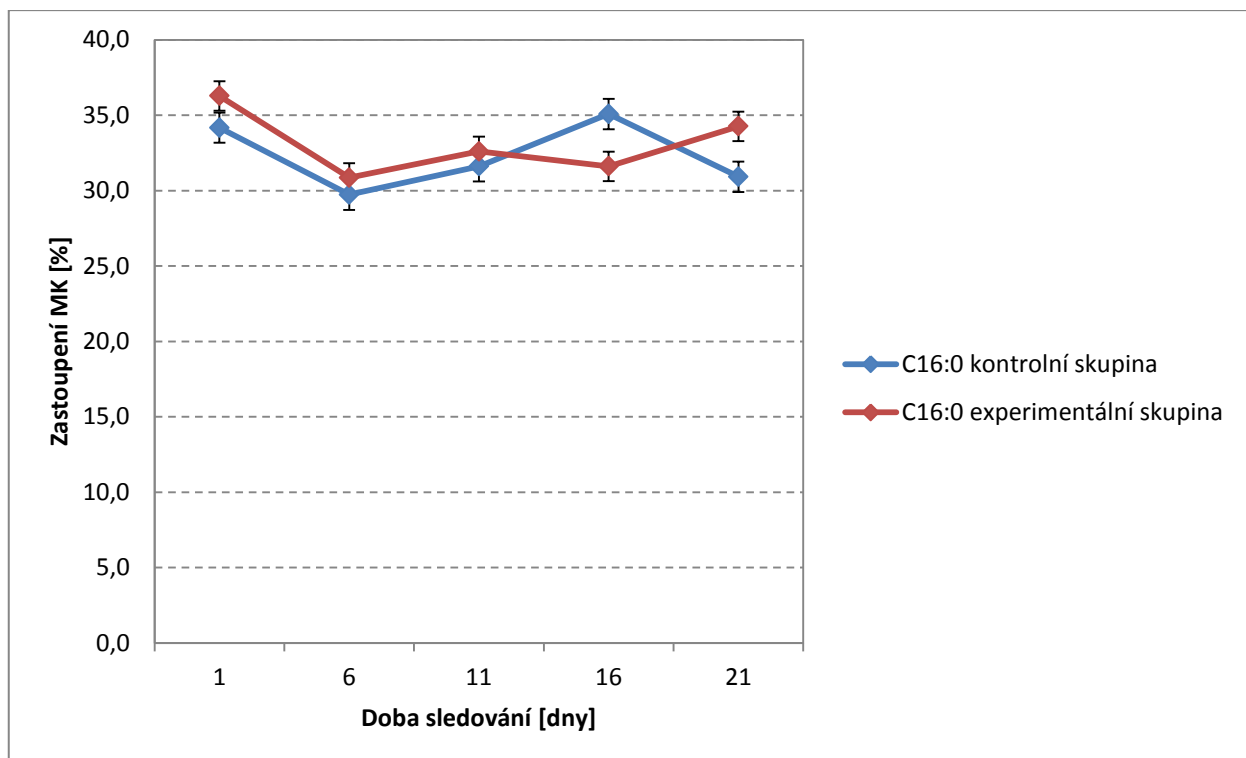
**Obrázek 22: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny laurové (C<sub>12:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Vývoj obsahu kyseliny laurové (C<sub>12:0</sub>) v mléce dojnic krmných s přidavkem *Chlorella* P12 je zobrazen konvexní křivkou na obr. 22. Její množství během experimentu narůstalo až do koncové hodnoty 3,00 %. U dojnic s běžným krmivem obsah kyseliny laurové (C<sub>12:0</sub>) v mléce do šestnáctého dne vystoupal k hodnotě 2,60 % a poté klesl na 2,41 % všech MK. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



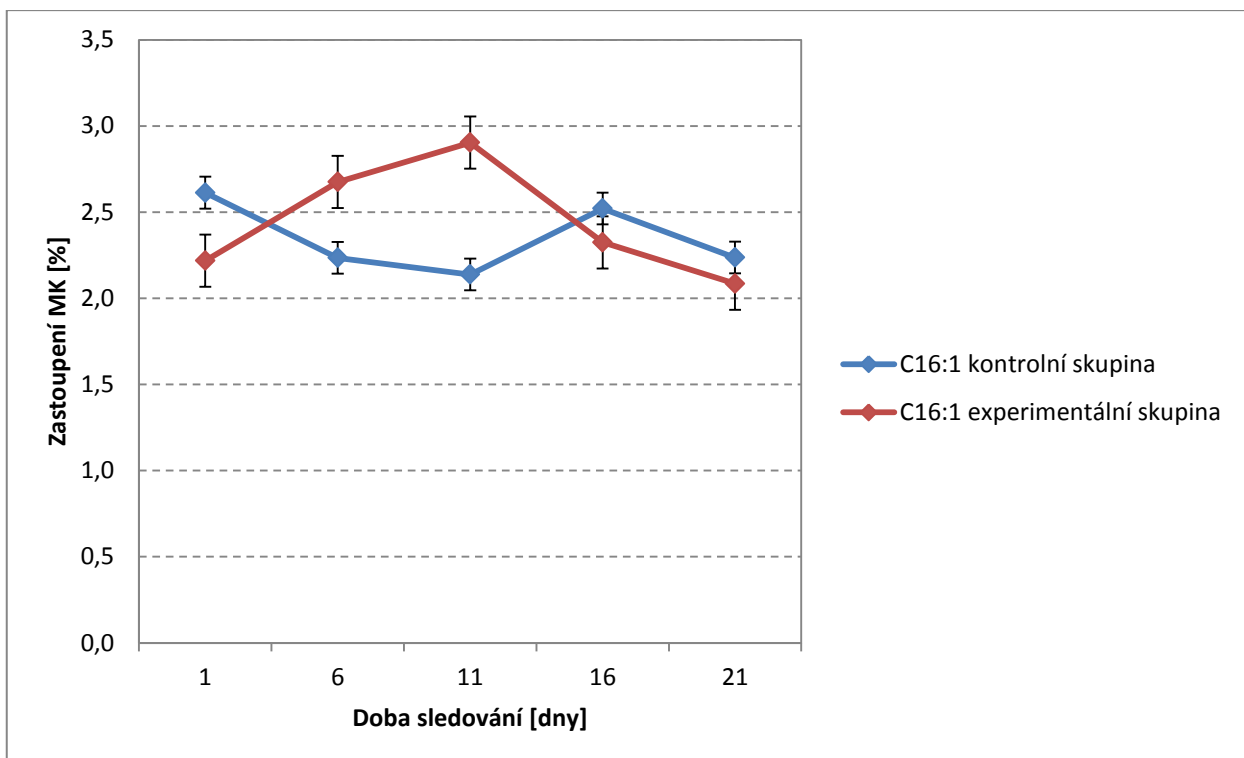
**Obrázek 23: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny myristové (C<sub>14:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Obr. 23 zobrazuje tendenci vývoje obsahu kyseliny myristové (C<sub>14:0</sub>) v mléčném tuku. Její obsah u obou stád dojnic poklesl od prvního dne do šestého a poté narůstal do 16. dne. U běžné krmné dávky obsah kyseliny myristové (C<sub>14:0</sub>) v mléku opět poklesl z 8,94 % na 8,47 %. Při použití experimentální krmné dávky množství kyseliny myristové (C<sub>14:0</sub>) narůstalo od šestého až do dvacátého prvního dne z 8,64 % na 10,06 %. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



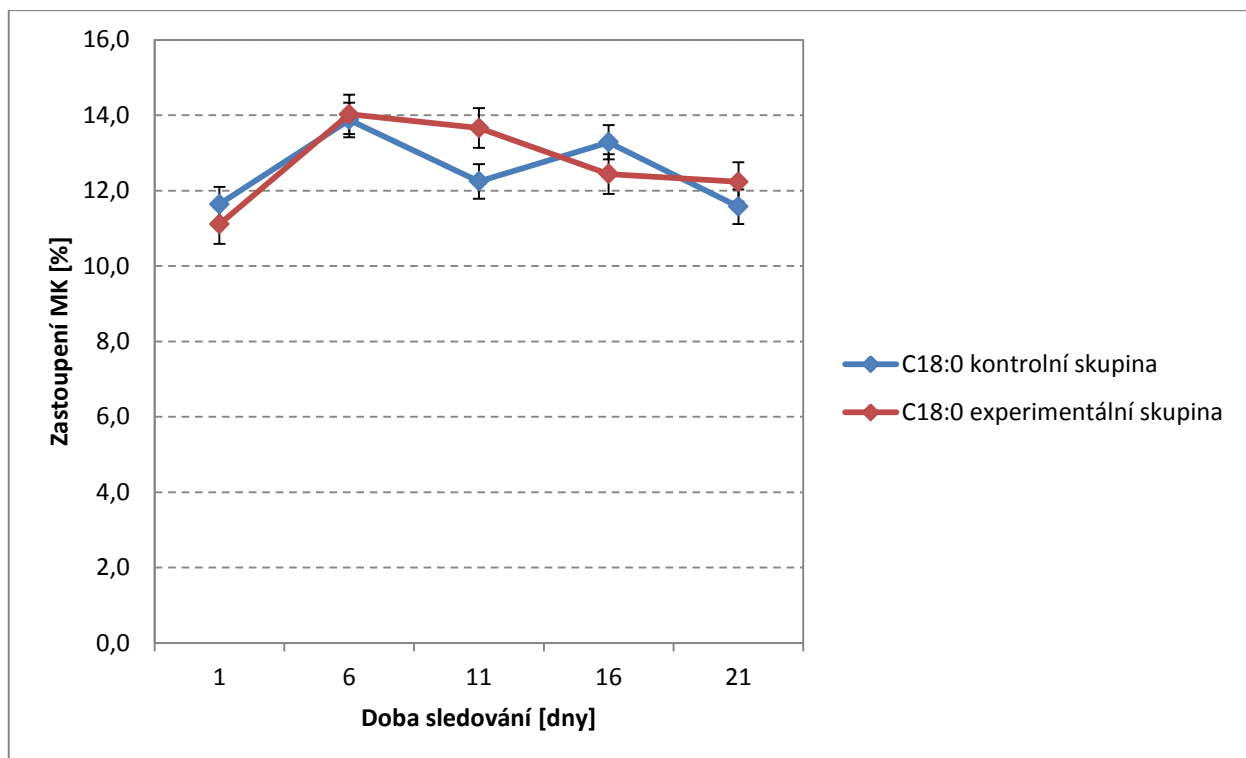
**Obrázek 24: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Trend vývoje obsahu kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) v mléce v průběhu pokusu je znázorněn na obr. 24. Množství kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) mělo u obou skupin zvířat kolísavý průběh. V obou případech klesalo její množství od prvního do šestého dne a do jedenáctého dne vzrůstalo. Mléko dojnic stáda C pak vykazovalo následný nárůst obsahu kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) na 35,08 % a poté její pokles k 30,92 %. Zato v mléce dojnic stáda E došlo k poklesu množství kyseliny palmitové (C<sub>16:0</sub>) do šestnáctého dne na hodnotu 31,61 % a k jejímu následnému nárůstu k 34,26 % všech MK. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



**Obrázek 25: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny palmitolejové (C<sub>16:1</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

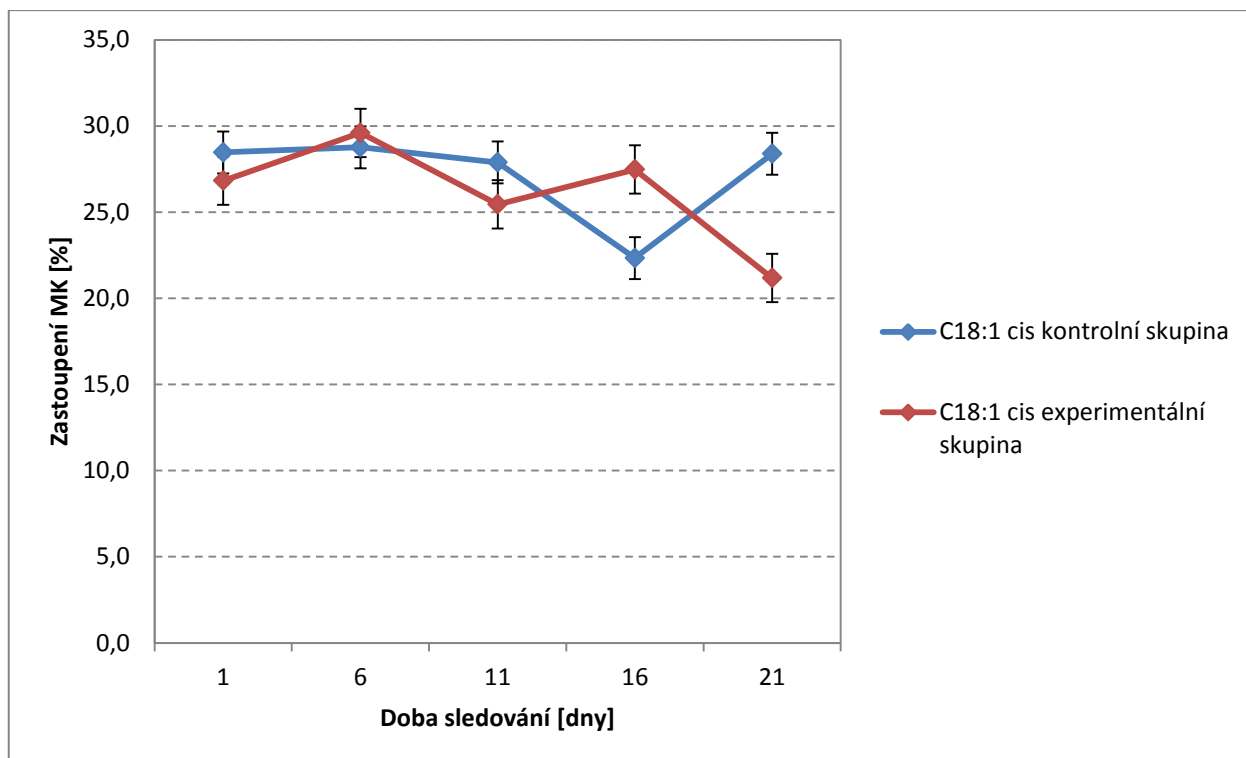
Obsahy kyseliny palmitolejové (C<sub>16:1</sub>) v průběhu měření jsou vyobrazeny na obr. 25. Množství kyseliny palmitolejové (C<sub>16:1</sub>) v mléce dojnic, kterým byla do krmiva přidána řasová suspenze *Chlorella* P12, vzrůstalo do jedenáctého dne po otelení (2,90 %) a po zbytek experimentální doby klesalo. U zvířat krmených běžným krmivem byla nejvyšší hodnota kyseliny palmitolejové (C<sub>16:1</sub>) naměřena první den pokusu a dosáhla 2,61 %. Nejnižší obsah byl zaznamenán jedenáctý den (2,14 %). Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



**Obrázek 26: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny stearové (C<sub>18:0</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

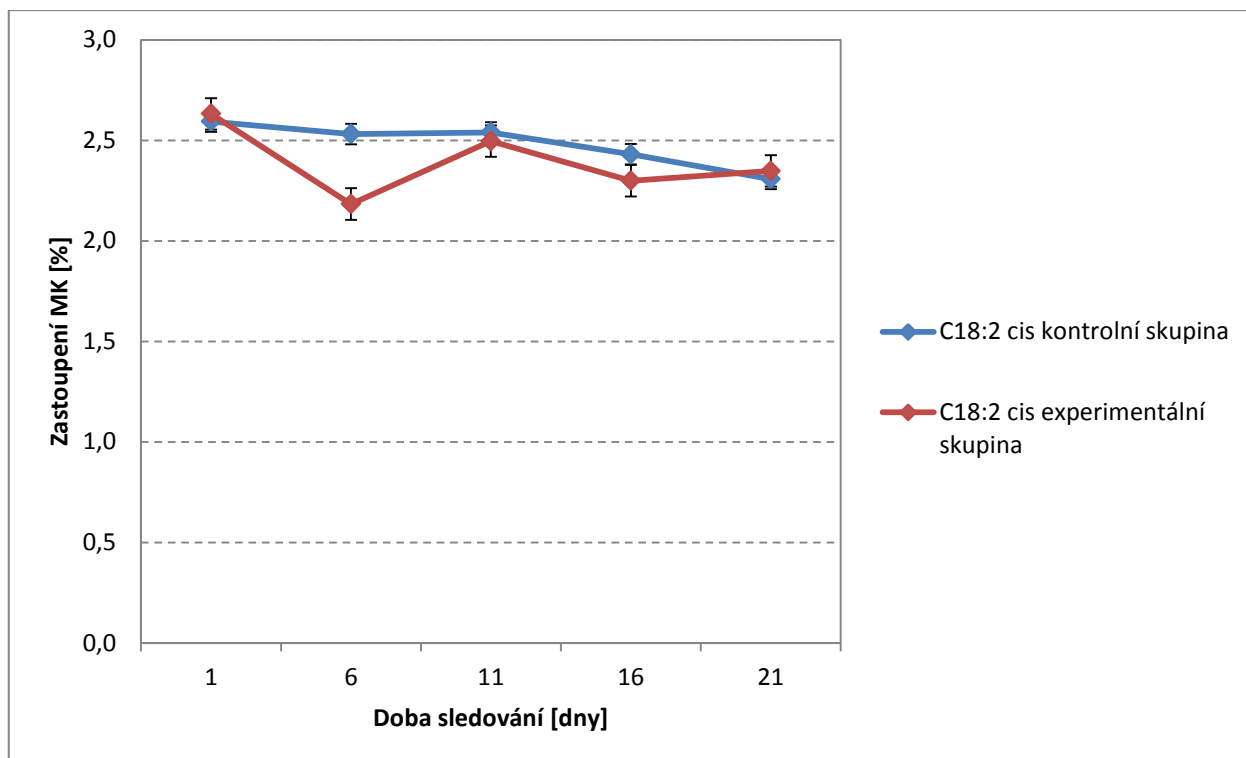
Graf vývoje obsahu kyseliny stearové (C<sub>18:0</sub>) uvedený na obr. 26 zobrazuje v případě skupiny E konkávní křivku s lokálním maximem obsahu kyseliny 14,02 % šestý den pokusu. V případě mléka skupiny C bylo nejnižší množství (11,57 %) kyseliny stearové (C<sub>18:0</sub>) zaznamenáno poslední den měření. Nejvyšší hodnoty (13,87 %) bylo dosaženo šestý den měření. Zaznamenané rozdíly však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.





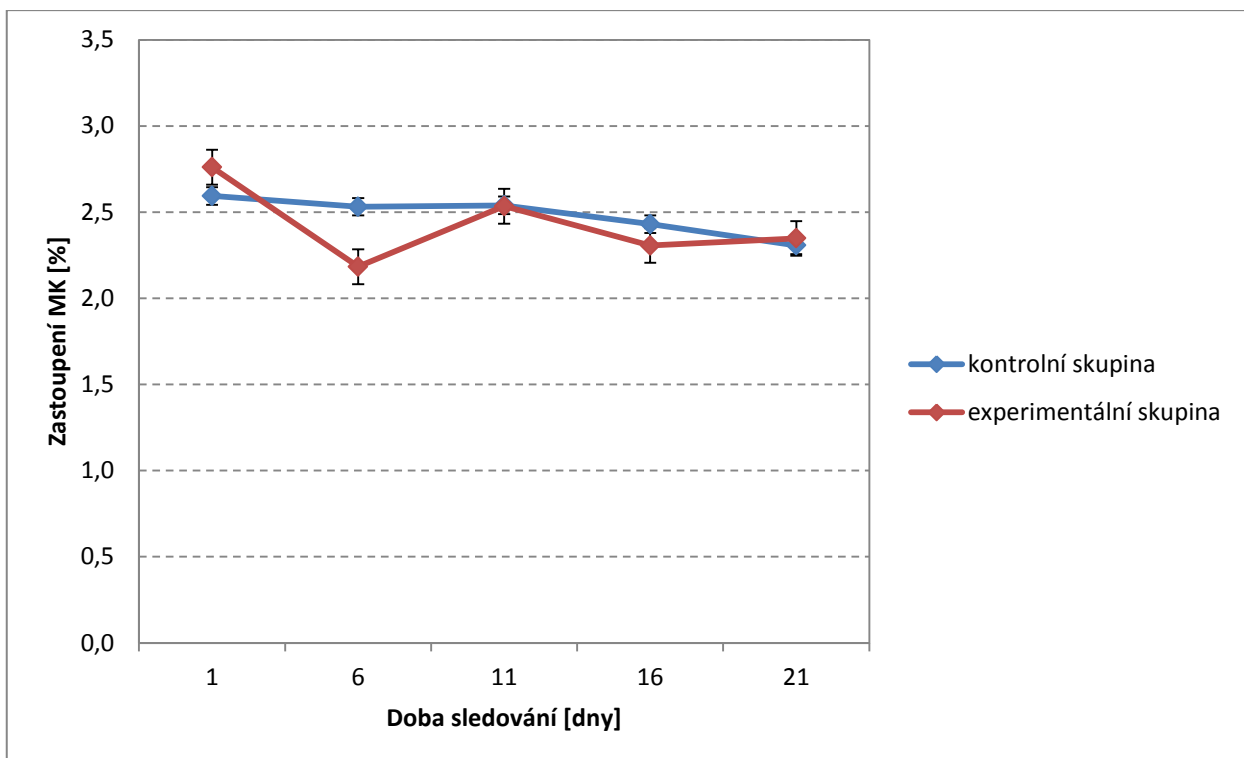
**Obrázek 27: Vliv suplementace krmné dávky dojníc *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny olejové (*cis*-C<sub>18:1</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Na obr. 27 je vidět poměrně vyrovnané množství obsahu olejové kyseliny (*cis*-C<sub>18:1</sub>) okolo 28,40 % první tři měření v mléce dojníc s běžnou krmnou dávkou. Její množství dále kleslo na 22,33 % a dvacátý první den vzrostlo až na 28,38 % všech MK. U skupiny E byl nejvyšší obsah kyseliny olejové (*cis*-C<sub>18:1</sub>) v mléce šestý den (29,60 %) a nejnižší den dvacátý první (21,18 %). Šestnáctý den experimentu byl zaznamenaný rozdíl mezi stády statisticky významný na zvolené hladině pravděpodobnosti.



**Obrázek 28: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu kyseliny linolové (*cis*-C<sub>18:2</sub>) v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

Obr. 28 vyjadřuje průběh obsahu kyseliny linolové (*cis*-C<sub>18:2</sub>) v mléce dojnic. U stáda C byl zaznamenán setrvalý pokles množství kyseliny z 2,59 % první den měření až na 2,31 %, které bylo naměřeno poslední den pokusu. Nejvyšší obsah kyseliny linolové (*cis*-C<sub>18:2</sub>) v mléce stáda E byl také získán první den měření (2,63 %) a nejnižší šestý den (2,18 %). Trend byl shodný se skupinou C. Nalezené rozdíly, však nebyly statisticky průkazné na zvolené hladině pravděpodobnosti.



**Obrázek 29: Vliv suplementace krmné dávky dojnic *Chlorella* sp. na vývoj obsahu CLA v syrovém kravském mléce.** Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 2 paralelních stanovení  $\pm$  směrodatná odchylka.

Jako poslední byl sledován vývoj obsahu CLA, který je znázorněn na obr. 29. Nejvyšší obsahy CLA byly zaznamenány první den experimentu (2,59 % skupina C, 2,76 % skupina E). Množství CLA se po dobu experimentu snižovalo u obou skupin zvířat.

## 6 Diskuze

Hlavním prekursorem mléčného tuku v mléčné žláze je kyselina octová, která je tvořena v bachoru ze strukturálních sacharidů v průběhu bachorové fermentace, nebo je výsledkem  $\beta$ -oxidace mastných kyselin tukové tkáně dojnic. Množství lipidů a zastoupení MK v mléce je relativně snadno ovlivnitelné výživou dojnic. Jedním ze způsobů, jak významně zvýšit obsah MUFA a PUFA v mléčném tuku, je zařazení rostlinných zdrojů olejů do krmné dávky zvířat (Kudrna, Homolka, 2007). *Chlorella* P12 obsahuje 8 - 12 % hm. lipidů v sušině, proto se jeví jako zajímavý zdroj rostlinných olejů (Ótles, 2001).

Při experimentu v Zemědělské společnosti Dublovice a. s. byl sledován vliv přídavku zelené řasy *Chlorella* P12 do krmné dávky dojnic na složení jejich mléka se zaměřením na profil MK. 10 vybraných zvířat holštýnského plemene bylo rozděleno do 2 skupin po 5 kusech. Prvnímu stádu (skupina C) byla podávána standardní krmná dávka, druhé stádo (skupina E) byla krmena navíc 1,5 % hm. sušiny biomasy *Chlorella* P12. Při pokusu v Dublovicích byl zjištěn mírný nárůst obsahu mléčného tuku z 35,75 g/kg u dojnic s běžnou krmnou dávkou na 37,52 g/kg u mléka dojnic, do jejichž krmiva byla přidána *Chlorella* P12<sup>6</sup>. Tyto výsledky jsou opačné ke zjištění Hostense (2011), který zaznamenal při přídavku mořské řasy do krmiva holštýnských dojnic pokles obsahu mléčného tuku ze 40,7 g/kg na 31,6 g/kg, ačkoli dojivost zvířat se zvýšila (Hostens, 2011). Naopak Papadopoulos (2002) při přídavku řas *Schizochytrium* sp. do krmné dávky ovcí pozoroval také nárůst množství tuku, které přičítal použité suplementaci, stejně jako McHugh (2003) při aplikaci *Ascophyllum nodosum* do krmiva dojnic a Simkus a kol. (2007) při podání stejné řasy kozám (McHugh, 2003; Papadopoulos, 2002; Simkus a kol., 2007).

Z hlediska vlivu suplementace *Chlorella* P12 na profil nasycených MK bylo zjištěno, že výsledky zaznamenané v tomto experimentu se v mnoha ohledech shodují s pokusem Hostense a kol. (2011), kteří používali přídavek mořských řas taktéž u dojnic holštýnského skotu. Množství nasycených MK v obou případech kleslo o několik procent. Z 63,8 % u kontrolní skupiny až k 55,5 % u skupiny s přídatkem řas do krmiva (Hostens a kol., 2011). Po 21 dnech pokusu provedeného v rámci této diplomové práce klesl obsah nasycených MK na 58,85 % z původních 65,11 % zastoupení všech MK u skupiny C. U skupiny E byl pozorován pokles mírnější. Franklin a kol. (1999) provedli stejný pokus s mořskými řasami

---

<sup>6</sup> Dědinová, L. 2012. Bakalářská práce na téma Sledování kvalitativních parametrů mléka dojnic příkrmovaných řasami.

*Schizochytrium* sp. jako Hostens (2011). Ve své studii pozorovali dojníc holštýnského skotu a Brown Swiss. Jeho přídavek řas však činil 910 g sušiny každý den po dobu 6 týdnů. Jejich výsledky jsou odlišné oproti výsledkům v této práci. Množství jednotlivých nasycených MK (kyseliny máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová, undecylová, laurová, pentadecylová a stearová) v průběhu experimentu mírně vzrůstalo, kdežto ve studii Franklina a kol. (1999) jejich množství pokleslo. Rozdíly mohou být vysvětleny rozdílným typem řasy a jejím dávkováním (Franklin a kol., 1999).

Obsah MUFA v provedeném pokusu nepatrně poklesl z 33,69 % u skupiny C na 33,04 % u skupiny E. Obsah MUFA naopak vzrostl na 37,1 % obsahu MK ve studii Hostense (2011). Tato studie se však opět lišila v druhu použité řasy, kterou byla *Schizochytrium* sp. (Hostens, 2011).

Při sledování vlivu přídatku *Chlorella* P12 na profil PUFA mléčného tuku dojníc holštýnského skotu bylo zjištěno, že během experimentu došlo ke zvýšení linolenové kyseliny a dalších polyenových nenasycených MK a zároveň poklesl obsah *trans*-mastných PUFA u zvířat skupiny E. Hostens (2011) zaznamenal též zvýšení obsahu polyenových nenasycených MK u skupiny pozorovaných dojníc, které byly příkrmovány mořskými řasami (Hostens, 2011).

Vědci dokázali přidáním řas *Schizochytrium* sp. do krmiva dojníc zvýšit obsah dokosahexaenové kyseliny a CLA v mléce (Franklin a kol., 1999). Singh a kol. (2004) zopakovali studii u koz. V kozím mléce a následně i v mléčných výrobcích z kozího mléka byl pak zaznamenán vyšší podíl mléčného tuku a bílkovin. Mléko bylo také obohaceno o polyenové MK, zejména o DHA, EPA a eikosadienovou kyselinu. Jejich nárůst byl vyšší než u pokusů s dojnicemi (Singh a kol., 2004). Ve studii Hostense (2011) bylo při suplementaci řasou *Schizochytrium* sp. dosaženo také zvýšení obsahu DHA, dokonce patnáctinásobného (Hostens, 2011). Výsledky tohoto pokusu takové výrazné zvýšení neprokázaly. Podíl DHA se zvýšil z 0,039 % na 0,041 % u dojníc z experimentální skupiny. Důvodem vyšší průkaznosti a patrnějšího rozdílu by pravděpodobně mohlo být, že Hostens (2011) použil 2 kg mořských řas, které byly zušlechťeny přídatkem DHA o 44 g oproti běžným řasám tohoto druhu. Franklin a kol. (1999) uvádí při použití nezušlechťené kultury zvýšení obsahu DHA pouze o 0,46 g/100 g tuku oproti kontrolní skupině dojníc (Franklin a kol., 1999).

Množství CLA bylo během tohoto experimentu zvýšeno na 2,71 % u dojnic s experimentální krmnou dávkou oproti skupině C. Podobný závěr přinesla i studie Franklina a kol. (1999). Ten udává zvýšený obsah CLA z 0,37 g/100 g tuku na 2,62 g/100 g celkových lipidů v mléce. Navíc dodává, že hladina CLA byla nejvyšší 14. den pokusu, poté mírně klesla a následně její hladina zůstala konstantní až do 42. dne (Franklin a kol., 1999).

## 7 Závěr

Bylo provedeno hodnocení vlivu suplementace krmiva dojnic červeného strakatého skotu řasou *Chlorella* sp. na zastoupení MK v syrovém mléce. Hypotézou bylo, že přidání zelených řas změní profil MK. Při porovnání profilů MK pokusných skupin zvířat byla zaznamenána změna zastoupení MK. Došlo ke snížení obsahu nasycených MK v mléce po šestnácti dnech obohacování krmiva u experimentální skupiny dojnic a zároveň bylo zvýšeno množství nenasycených MK, což je významné z výživového hlediska. Dle mnohých zahraničních studií je nejprokazatelnější rozdíl dvou týdnů po zahájení experimentu. Přibližně touto dobou došlo ke snížení nasycených MK s dlouhými řetězci, kyseliny palmitové a stearové. Zároveň došlo ke zvýšení obsahu CLA ve vzorcích mléka dojnic s přísadkou *Chlorella* P12 do jejich krmiva. Výsledky však nebyly statisticky prokazatelné na zvolené hladině významnosti. CLA hraje významnou roli v klíčových biologických procesech našeho těla, podporuje zdravý růst a fungování buněk. Po šestnácti dnech pokusu byl zaznamenán statisticky významný rozdíl zvýšení obsahu EPA v mléce dojnic skupiny E. EPA patří do skupiny *n-3* MK, které zlepšují obranyschopnost organismu, snižují hladinu cholesterolu v krvi a krevní tlak. Také přispívají ke zvýšení ochrany srdce a cév a snížení rizika srdečního infarktu a mozkové mrtvice. Obsah DHA se také zvýšil v případě skupiny E, ale nebyl statisticky průkazný na zvolené hladině pravděpodobnosti. Díky průkaznosti některých MK pouze v určitých dnech experimentu, by bylo vhodné ve výzkumu pokračovat a vzorky mléka ihned rozborovat, jelikož je možné, že část MK vytékala během doby skladování. Zároveň by bylo možné vyzkoušet průkaznost změny profilu MK v závislosti obsahu řas v krmné dávce. Podle posledních pokusů, které ukazují adaptaci na nutriční suplementaci, by bylo zajímavé vyzkoušet podávání řas v různých cyklech.

## 8 Seznam literatury

- Bach, S. J., Wang, Y., McAlister, T. A. 2008. Effect of feeding sun-dried seaweed (*Ascophyllum nodosum*) on fecal shedding of *Escherichia coli* O157: H7 by feed pot cattle and on growth performance of lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 142. p. 17 - 32.
- Barłowska, J., Szwajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. 2011. Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10 (6): 291 - 30.
- Becker, E. W. 1994. *Micro-algae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 293.
- Becker EW. 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond A., editor. *Handbook of Microalgae Culture. Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford: Blackwell Science.
- Becker, E. W. 2007. Microalgae as a source of protein. *Biotechnology Advances*. 25. p. 207 - 210.
- Belay A., Kato T., Ota Y. 1996. *Spirulina* (Arthrospira): potential application as an animal feed supplement. *Journal of applied Phycology* 24: 202-207.
- Bennett, L.E., Crittenden, R., Khoo, E., and Forsyth, S. 2005. Evaluation of immune - modulatory dairy peptide fractions . *Australian Journal of Dairy Technology* 60. 106 – 109.
- Bounous, G. 2000. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Research* 20: 4785 – 4792.
- Bouška, J. 2006. *Chov dojného skotu*. 1. vyd. Praha: Profi Press. 186 s. ISBN 80-86726-16-9.
- Chandan, R., Arun Kilara, Nagendra Shah 2008. *Dairy Processing and Quality Assurance*. Wiley. 600 p. ISBN: 0813827566.



Colla, L. M., Maccillo-Baisch, A. L., Costa, J. A. 2008. *Spirulina platensis* effects of the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. Brazilia. Archives of Biology and Technology. 51. p. 35 - 43.

Crittenden, R.G., and Bennett, L.E. 2005. Cow's milk allergy: A complex disorder. Journal of American College of Nutrition 24 (Suppl.6): 582 S – 591 S.

Doucha, J. 1998. Program *Chlorella* v České republice. Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR. Třeboň. s. 16

Doucha, J., Lívanský, K., Kotrbáček, V. a kol. 2009. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. Applied Microbiology and Biotechnology. 83. p. 1001 - 1008.

Dvořák, R. 2005. Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny. Brno. Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU: Česká buiatrická společnost. 2005. 117 s. ISBN 80-7305-550-3.

Elmore, J. S., Cooper, S. L., Enser, M., Mottram, D. S., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., Wood, J. D. 2005. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compound of grilled lamb. Meat Science. 69. p. 233 – 242.

FitzGerald, R. J., Murray, B. A., Walsh, D. J. 2004. Hypotensive peptides from milk proteins. Journal of Nutrition. 134. p. 980 – 988.

Fordyce, F.M., 2013. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In: Selinus O (ed) Essentials of medical geology, revised edition. Springer, Netherlands, pp 375 – 416.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science. London. 478. ISBN:0412720000.

Franklin, S. T., Martin, K. R., Baer, R. J., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R. 1999. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.). Increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk dairy cows. Journal of Nutrition. 129. p. 2048-2054.

Gill, H.S., and Cross, M.L. 2000. Anticancer properties of bovine milk. *British Journal of Nutrition* 84 ( Suppl.1 ): S 161 – S 166.

Ginzberg A. Cohen M. Sod-Mariah U.A. Shany S. Rosenshtrauch A. e Arad S.2000. Chickens fed with biomass of the red microalga *Porphyridium* sp. have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. *Journal of applied phycology* 12: 325 - 330

Grigorova, S., Surdjiiska, S., Banskalieva, V., Dimitrov, G. 2006. The effect of biomass from green algae of *Chlorella* genus on the biochemical characteristics of table eggs. *Journal Central European Agriculture*. 7. p. 111 - 116.

Grummer, R. R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*. 74. p. 3244 - 3257.

Ha, E., and Zemel, M.B. 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 14: 251 – 258.

Harper,W.J. 1992. Lactose and lactose derivatives. In: *Whey and Lactose Processing* (ed. J.G. Zadow), pp. 317–360, Elsevier Applied Science. London.

Heinz, J., Čermák, B., Kroupová, V. 2006. *Základy výživy a krmení hospodářských zvířat*. 1.vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 76 s. ISBN 80-7040-873-1.

Hostens, M., Fievez, V., Vlaeminck, B. et al. 2011. The effect of marine algae in the ration of high-yielding dairy cows during transition on metabolic parameters in serum and follicular fluid around parturition. *Journal of Dairy Science*. 94. p. 4603 - 4615.

Chowdhury, S. A., Huque, K. S., Khatum, M., Quamrun, N. 1995. Study on the use of algae as a substitute for oil cake for growing calves. *Livestock Research for Rural Development*. 6. p. 8 - 16.

Christaki, E., Karatzia, M., Florou-Paneri, P. 2010. The use of algae in animal nutrition. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 61. p. 267 - 276.

Christie, W.W. 1995. Composition and structure of milk lipids. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids*, 2nd edn (ed. P.F. Fox), pp. 1–36, Chapman & Hall, London.

Korhonen, M., Vanhatalo, A., Varvikko, T., Huhtanen, P. 2000. Responses to graded postruminal doses of histidine in dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science*. 83. pp. 2596 - 2608

Korhonen, H., Marnila, P., and Gill, H. 2000. Bovine milk antibodies for health: a review. *British Journal of Nutrition* 84 ( Suppl.1 ): 135 – 146.

Korhonen, H., and Marnila, P. 2006. Bovine milk antibodies for protection against microbial human diseases. In *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease*, edited by Y. Mine and S. Shahidi. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. pp. 137 – 159.

Korhonen, H., Pihlanto, A. 2007. Technological options for the production of health - promoting proteins and peptides derived from milk and colostrum. *Current Pharmaceutical Design*. 13. p. 829 – 843.

Kotrbaček, V. 2002. Zelená řasa Chlorella jako plnohodnotný krmný doplněk (nepublikováno).

Kraft, J., Collomb, M., Möckel, P., Sieber, R., Jahreis, G. 2003. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids* 38: 657 - 664.

Kudrna, V., Homolka, P. 2007. Vliv krmné dávky dojníc na množství a kvalitu mléčného tuku. *Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha*. 49 s.

Kulpys, J., Paulauskas, E., Simkus, A., Jeresiunas, A. 2009. The influence of weed spirulina platensis on production and profitability of milking cows. *Veterinarija ir zootechnika*. 46. p. 68.

Kvíčala, J., Zamrazil, V., Čerovská, J. a kol. 1995. Evaluation of selenium supply and status of inhibitans in 3 selected rural and urban regions of the Czech Republic. *Biological trace elements research* 47. s. 365 - 375.

- Kvíčala, J., Zamrazil, V., Tluchoř, B. 1996. Deficiency of selenium in inhabitants of highly polluted area of north-west Bohemia. Therapeutics uses of trace elements. s. 345 - 350.
- Lembi, A.C., Waaland, J.R. 2007. *Algae and Human Affairs*. Cambridge University Press, Cambridge. 600 p. ISBN: 9780521044400.
- Le Marchand, L. 2002. Cancer preventive effects of flavonoids – a review. *Biomed Pharmacother* 56(6): 296 - 301.
- López - Expósito, I., and Recio, I. 2006. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins . *International Dairy Journal* 16:1294 – 1305.
- López - Fandiño,R., Otte,J., and Van Camp,J. 2006. Physiological, chemical and technological aspects of milk - protein - derived peptides with antihypertensive and ACE - inhibitory activity . *International Dairy Journal* 16: 1277 – 1293.
- Luhovy, B.L., Akhavan, T., and Anderson, G.H. 2007. Whey proteins in the regulation of food intake and satiety . *Journal of American College of Nutrition* 26 : 704 S – 712 S.
- MacGibbon, A. K. H., Taylor, M.W. 2006. Composition and structure of bovine lipids. *Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2: Lipids*. 3rd edition. Springer. New York, pp 1 - 42.
- Margulis L & Fester R, eds. *Symbiosis as a source of evolutionary' innovation: specialion and morphogenesis*. Cambridge, MA: MIT Press. 1992. 454 p.
- Marshall, H. 2007. Micro-algae as a superfood source: Phytoplankton for future nutrition. *Vegetarian Issues*. p. 1 - 2.
- Marteau, P., Rambaud, J. C. 1996. Therapeutic application of probiotics in humans. Gut flora and healt – past, present and future. Royal society of medicine international congress and symposium series. London. p. 47 - 56.
- McHugh, D. J. 2003. A guide to the seaweed industry. *FAO Fisheries Technical Paper*. no. 441/FAO. Rome. Italy. Fisheries Dept. p. 105. ISBN: 92-5-104958-0

- Murray, B.A., and Fitzgerald, R.J. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design* 13: 773 – 91.
- Oliveira, M. N., Freitas, A. L. P., Carvalho, A. F. U., Sampaio, T. M. T., Farias, D. F., Teixeira, D. I. A., Gouveia, S. T., Pereira, J. G., Sena, M. M. 2009. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brasil. *Food Chemistry*. 115: p. 254 - 259.
- OrRashid, N. M., Kramer, J. K. G., Wood, M. A., McBride, B. W. 2008. Supplemental algal meal alters the ruminal trans-18:1 fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *Journal Animal Science*. 86. p. 187 - 196.
- Ötles, S., Pire, R. 2001. Fatty acid composition of Chlorella and Spirulina microalgae species. *Journal of AOAC International* 84:6 2001, p. 1708 – 1714.
- Pan, Y., Rowney, M., Guo, P., and Hobman, P. 2007. Biological properties of lactoferrin: an overview. *Australian Journal of Dairy Technology* 62: 31 – 42.
- Pánek, J.; Pokorný, J.; Dostálová, J.; Kohout, P. 2002. *Základy výživy a výživová politika*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1. vydání, 219s, ISBN 80-7080-468-8.
- Papadopoulos, G., Goulas, C., Apostolaki, E. et al. 2002. Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy research*. 69. p. 357 - 365.
- Parodi, P.W. 1998. A role for milk proteins in cancer prevention. *Australian Journal of Dairy Technology* 53: 37 – 47.
- Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. 2013. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. Wiley-Blackwell. ISBN: 9781118534168.
- Playford, R.J., MacDonald, C.E., and Johnson, W.S. 2000. Colostrum and milk - derived peptidegrowth factors for the treatment of gastrointestinal disorders . *American Journal of Clinical Nutrition*72: 5 – 14.

- Sardi, L., Martelli, G., Lambertini, L., Parisini, P., Mordenti, A. 2006. Effects of a dietary supplement of DHA-rich marine algae on Italian heavy pig production parameters. *Livestock Science*. 103. p. 95 - 103.
- Schaafsma, G. 2006. Health issues of whey proteins: 1. Protection of lean body mass. *Current Topics in Nutraceutical Research* 4 : 113 – 122.
- Simkus, A., Oberauskas, V, Laugalis J, Zelvyté R, Monkevicienė I, Sederevicius A. 2007. The effect of weed spirulina platensis on the milk production in cows. *Veterinarija ir zootechnika* 38: 60
- Singh, S., Prasad, R., Sharma, S. N. 1995. Effect of blue green algae, nitrogen levels and modified urea materials on yield attributes and yield of wetland rice (*Oryza sativa*). *Indian journal of agronomy*. 40. p. 594 - 597.
- Singh, A.P., Avramis, C.A., Kramer, J.K., Marangoni, A.G. 2004. Algal meal supplementation of the cows' diet alters the physical properties of milk fat. *Journal of Dairy Research* 71: 66-73.
- Singh, S. 2013. *Dairy Products and Quality Assurance: Dairy Technology*. New India Publishing Agency, 720 p. ISBN: 9789383305094.
- Smilowitz, J.T., Dillard, C.J., and German, J.B.2005. Milk beyond essential nutrients: the metabolic food. *Australian Journal of Dairy Technology* 60: 77 – 83.
- Smithers, G. W. 2004. Isolation of growth factors from whey and their application in the food and biotechnology industries a brief review. *Bulletin of the International Dairy Federation* 389: 16 - 19.
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E. and Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Biosciences and Bioengineering* 101 (2): 86 - 96.
- Tamine, A.Y. 2009. *Milk Processing and Quality Management*. Blackwell Publishing. UK. 324. ISBN: 978-1-405-14530-5

Thompson, A., Boland, M., Singh, H. 2009. Milk Proteins from Expression to Food, Food Science and Technology Series. Elviser. San Diego. 532. ISBN: 978-0-12-374039-7

Urban, F. 1997. Chov dojeného skotu (reprodukce, odchov, management, technologie, výživa). Praha. Apros. 289 s. ISBN 80-901100-7-X.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. Dairy Science and Technology. 2nd ed. New York: Taylor & Francis Group, 2006. ISBN 0-8247-2763-0. Chapter 1, Milk: Main Characteristics, p. 3-16.

Yamaguchi, K., Kitamikado, M., Aoki, T. a kol. 1992. Induction of  $\beta$ -1, 3-xylanase from vibrio s pax-4 by green algae Enteromorpha linza. Nippon Suisan Gakkaishi. 58. p. 2361 - 2365

Yamamoto, N., Ejiri, M., and Mizuno, S. 2003. Biogenic peptides and their potential use. Current pharmaceutical Design 9: 1345 – 1355.

Young, W. P. 2009. Bioactive components in Milk and Dairy Products. Wiley-Blackwell. UK. 426. ISBN: 978-0-8138-1982-2

internetový zdroj č. 1: Fykologická labotaroř na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích, [citováno dne:19.10.2014], dostupné z: <http://www.sinicearasy.cz/134/uvod>

## 9 Seznam zkratek

CGF	<i>Chlorella</i> růstový faktor
CLA	konjugovaná linolová kyselina
DHA	dokosahexaenová kyselina
EPA	eikosapentaenová kyselina
GMP	glykomakropeptid
HDL	vysokodenzitní lipoprotein
MK	mastné kyseliny
MUFA	monoenové nenasycené mastné kyseliny
PUFA	polyenové nenasycené mastné kyseliny



## **10 Přílohy**

**Příloha 1 Zastoupení mastných kyselin v řasách**

**Příloha 2 Rozbor vypěstované řasy *Chlorella* sp.**

**Příloha 3 Rozbor standartní krmné dávky**

**Příloha 4 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích mléka**

**Příloha 1: Zastoupení mastných kyselin v řasách *Chlorella* sp. (Ůtles, 2001).**

Mastné kyseliny		<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 1	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 2	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> 3	<i>Chlorella vulgaris</i>
C <sub>4:0</sub>	kyselina máselná	0,38	5,88	0,31	0,20
C <sub>6:0</sub>	kyselina kapronová	4,91	4,31	1,65	2,77
C <sub>8:0</sub>	kyselina kaprylová	3,80	1,85	0,88	0,26
C <sub>10:0</sub>	kyselina kaprinová	1,45	1,19	0,14	1,39
C <sub>11:0</sub>	kyselina undecylová	2,63	1,90	1,70	2,17
C <sub>12:0</sub>	kyselina laurová	1,44	1,07	1,02	0,87
C <sub>12:1</sub>	kyselina laurolejevá	0,45	Nd	0,12	0,41
C <sub>13:0</sub>	kyselina tridecylová	0,82	0,31	0,15	1,03
C <sub>14:0</sub>	kyselina myristová	0,65	0,58	0,31	0,69
C <sub>15:0</sub>	kyselina pentadecylová	0,88	0,36	0,12	1,70
C <sub>15:1</sub>	kyselina pentadecenová	1,79	0,77	0,14	3,53
C <sub>16:0</sub>	kyselina palmitová	14,63	14,60	17,22	14,42
C <sub>16:1</sub>	kyselina palmitoolejevá	3,70	3,07	3,67	4,04
C <sub>16:2</sub>	kyselina hexadekadienová	5,44	5,10	2,43	5,34
C <sub>16:3</sub>	kyselina hexadekatrienová	5,01	3,16	4,45	4,90
C <sub>17:0</sub>	kyselina heptadecylová	0,35	0,51	0,20	0,12
C <sub>17:1</sub>	kyselina heptadecenová	Nd <sup>7</sup>	Nd	0,19	0,27
C <sub>18:0</sub>	kyselina stearová	1,40	1,93	2,55	1,57
<i>cis</i> -C <sub>18:1</sub>	kyselina olejová	18,05	18,24	19,71	17,62
<i>cis</i> -C <sub>18:2</sub>	kyselina linolová	12,26	11,24	21,55	11,97
C <sub>20:0</sub>	kyselina arachová	Nd	Nd	Nd	0,14
C <sub>18:3</sub>	kyselina $\gamma$ -linolenová	Nd	Nd	0,51	Nd
C <sub>18:3</sub>	kyselina $\alpha$ -linolenová	15,75	15,87	13,81	15,79
C <sub>20:2</sub>	kyselina eikosadienová	Nd	0,71	0,39	Nd
C <sub>23:0</sub>	kyselina trikosanová	Nd	0,41	0,18	Nd
C <sub>24:0</sub>	kyselina lignocerová	Nd	Nd	Nd	0,22
C <sub>20:5</sub>	kyselina all- <i>cis</i> -eikosapentaenová	Nd	0,40	0,31	Nd
C <sub>24:1</sub>	kyselina nervonová	0,39	Nd	0,38	Nd
C <sub>22:6</sub>	kyselina all- <i>cis</i> -dokosahexaenová	Nd	Nd	0,22	0,30
	ostatní mastné kyseliny	3,82	6,54	5,69	8,28

<sup>7</sup> Nebylo detekováno

<b>Zastoupení mastných kyselin [%]</b>	<b><i>Chlorella pyrenoidosa</i> 1</b>	<b><i>Chlorella pyrenoidosa</i> 2</b>	<b><i>Chlorella pyrenoidosa</i> 3</b>	<b><i>Chlorella vulgaris</i></b>
Σ Nasycených mastných kyselin	30,70	33,00	24,73	25,26
Σ S krátkým řetězcem (4:0 - 18:0)	30,70	32,59	24,55	24,90
Σ S dlouhým řetězcem (20:0 - 24:0)	-	0,41	0,18	0,36
Σ Nenasycených mastných kyselin	65,47	60,46	69,58	66,46
Σ monoenových	27,01	23,98	25,91	28,04
Σ dienových	17,70	17,05	24,37	17,31
Σ trienových	20,76	19,03	18,77	20,69
EPA	-	0,40	0,31	-
DHA	-	-	0,22	0,30
Σ ostatní	3,82	6,54	5,69	8,28
Linolenová kyselina				
α-linolenová	15,75	15,87	13,81	15,79
γ-linolenová	-	-	0,51	-
Poměr nenasycených/ nasyceným	2,13	1,83	2,81	2,63
Σ PUFA	38,46	36,48	43,67	38,30
Σ lipidů v řase [%]	12,50	11,80	11,40	13,30

## Příloha 2 Rozbor vypěstované řasy *Chlorella* sp. (Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Třeboň).

### Složení sušené biomasy řas produkčního kmene *Chlorella* sp.

	Jednotka	Hodnota
Suchá hmota	%	94,2
N látky (6,25)	g/kg	545
Tuk (lipidy)	g/kg	97
Vláknina	g/kg	50
Škrob	g/kg	120
Nukleové kyseliny	g/kg	45
Chlorofyly	g/kg	35
Minerální látky	g/kg	50

*Lipidická frakce se vyznačuje vysokým podílem esenciálních nenasycených mastných kyselin (ALA 18:3, LA 18:2). Zastoupení jednotlivých MK bude k dispozici po právě probíhající nové analýze*

Aminokyselinová skladba bílkovin:

<b>Threonin</b>	g/kg	23,5
<b>Tryptofan</b>	g/kg	8,0
<b>Valin</b>	g/kg	30,4
<b>Methionin</b>	g/kg	11,6
<b>Isoleucin</b>	g/kg	19,5
<b>Leucin</b>	g/kg	44,3
<b>Phenylalanin</b>	g/kg	26,3
<b>Lysin</b>	g/kg	29,3
Tyroxin	g/kg	18,9
Kyselina asparagová	g/kg	45,3
Serin	g/kg	20,6
Kyselina glutamová	g/kg	48,9
Prolin	g/kg	28,8
Glycin	g/kg	29,1
Alfa-alanin	g/kg	38,5
Cystin	g/kg	6,4

*Esenciální aminokyseliny jsou vyznačeny tučně*

Karotenoidy	g/kg	15
$\beta$ -karoten	g/kg	2,5
Xantofyly	g/kg	5

*Obsah jednotlivých xantofylů (lutein, violaxantin, zeaxantin) bude upřesněn po právě probíhající analýze*

Vitamíny:		
B <sub>1</sub> - thiamin	mg/kg	18
B <sub>2</sub> - riboflavin	mg/kg	44
B <sub>3</sub> - kys. nikotinová (niacin)	mg/kg	219
B <sub>5</sub> - kys. pantotenová	mg/kg	13
B <sub>6</sub> - pyridoxin	mg/kg	28
B <sub>12</sub> - kobalamin	mg/kg	0,8
Biotin (vitamin H)	mg/kg	0,3
Kys. listová	mg/kg	22
Vitamin E (tokoferol)	mg/kg	298
Vitamin C (kys. askorbová)	mg/kg	455
Makroprvky:		
Dusík	g/kg	90
Fosfor	g/kg	12
Draslík	g/kg	8,7
Síra	g/kg	6
Hořčík	g/kg	3
Vápník	g/kg	2,3
Mikroprvky:		
Železo	mg/kg	700
Měď	mg/kg	40
Mangan	mg/kg	140
Kobalt	mg/kg	5
Zinek	mg/kg	110
Těžké kovy:		
Kadmium	mg/kg	0,32
Olovo	mg/kg	2,88
Dioxiny (PCDD/F)	pg/g	0,2 – 2,6


Uvedené údaje se mohou lišit v závislosti na použitém kmenu řas, na kultivačních podmínkách, složení živného roztoku a kvalitě sloučenin používaných pro jeho přípravu, na obsahu látek ve vodě, použité ke kultivaci, kvalitě ovzduší atd. atd.

V rámci vypracovaných postupů jsme schopni do určité míry řídit chemické složení konečného produktu (řasové biomasy) a obohatit jej o některé biologicky účinné, organicky vázané prvky (selen, jód, chrom).

Výživářském údaje:

**Koeficient stravitelnosti (digestibility coefficient, DC)** u biomasy sušených desintegrovaných buněk *Chlorelly* se stravitelnost pohybuje kolem 80 %, u extraktu bílkovin z *Chlorelly* 87 % (srovnávací bílkovina je kasein, kde je stravitelnost vyšší než 90 %); **Net protein utilization (NPU)** je u kaseinu 83 %, u biomasy desintegrované *Chlorelly* cca 60 %, u extraktu bílkovin z *Chlorelly* 78 %; **Protein efficiency ratio, PER** - poměr váhového přírůstku

# Příloha 3 Rozbor standartní krmné dávky (Akreditovaná mikrobiologická chemická laboratoř Písek).

Číslo rozboru	13187			 <small>akreditovaná mikrobiologická a chemická laboratoř</small>	
Objednavatel	1	SCHAUMANN ČR			<b>U Ovčína 53</b> Nový Dvůr 397 01 PÍSEK
Poradce	515	Nečesaný Pavel, Ing.			
Výrobce krmiva	10	ZS Dublovce a.s. - Dublovce			
Datum měření	4.9.2014				
Datum doručení vzorku	4.9.2014				
Datum zpracování protokolu	5.9.2014				
Název vzorku	13187 - TMR - 1. skupina - Dublovce				rozborené hodnoty (žluté)
Druh krmiva	71	TMR - laktující - 1.fáze			
Hodnocená jako krmivo	0	TMR - 1.fáze (37l) - 8.500/305dní			
	jedn.	1 kg sušiny	1 kg původní hmoty		
sušina (korigovaná)	g/kg	1 000,00	418,20	*	
popel	g/kg	63,25	26,45	*	
organická hmota (OH)	g/kg	936,75	391,75	*	
fermentovatelná OH	g/kg	574,66	240,32	*	
NL	g/kg	151,00	63,15	*	
stravitelnost NL	%			*	
degradovatelnost NL	%	65,00	65,00	*	
stravitelnost DSI	%	80,00	80,00	*	
PDIN	g/kg	100,12	41,87	*	
PDIE	g/kg	100,26	41,93	*	
PDIA	g/kg	46,93	19,63	*	
NDV NL	% NL	0,00		*	
ADV NL (frakce C)	% NL	0,00		*	
NDV (aNDV)	g/kg	345,35	144,43	*	
ADV	g/kg	266,87	111,61	*	
ADL	g/kg	38,60	16,14	*	
hrubá vláknina	g/kg	200,00	83,64	*	
škrob	g/kg	205,65	86,00	*	
cukry	g/kg	<0,50		*	
tuky	g/kg	24,00	10,04	*	
NVS	g/kg	416,40	174,14	*	
BNVL	g/kg	561,75	234,92	*	
stravitelnost NDV	%	45,20		*	
NEL 1x <sup>NIRA2007</sup>	MJ/kg	6,02	2,52	*	
NEV 1x <sup>NIRA2007</sup>	MJ/kg	5,90	2,47	*	
NEL 1x <sup>Robinson</sup>	MJ/kg	7,56	3,16	*	
NEL 3x <sup>Robinson</sup>	MJ/kg	6,59	2,75	*	
ME	MJ/kg	10,16	4,25	*	
BE	MJ/kg	18,84	7,88	*	
stravitelnost energie	%	66,51	27,81	*	
Ca	g/kg	6,75	2,82		
P	g/kg	3,90	1,63		
Mg	g/kg	0,00	0,00		
Na	g/kg	0,00	0,00		
K	g/kg	0,00	0,00		
Cl	g/kg	0,00	0,00		
S	g/kg	0,00	0,00		
Cu	mg/kg	0,00	0,00		
Zn	mg/kg	0,00	0,00		
pH					
kyselina mléčná (KML)	g/kg	0,00	0,00		
kyselina octová (KOC)	g/kg	0,00	0,00		
kyselina máslá (KMA)	g/kg	0,00	0,00		
kyselina propionová (KPR)	g/kg	0,00	0,00		
kyselina valerová (KVA)	g/kg	0,00	0,00		
kyselina mravenčí (KMR)	g/kg	0,00	0,00		
Alkohol	g/kg	0,00	0,00		
NH <sub>3</sub>	mg/kg	0,00	0,00		
proteolýza (stupeň)	%	0%			
PEN separátor	19mm	0 g	0%		
	8mm	0 g	0%		
	1,2mm	0 g	0%		
	dno	0 g	0%		

#### Příloha 4 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích mléka.

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>4:0</sub> – C<sub>14:1</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených standardně (skupina C). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>4:0</sub>	C <sub>6:0</sub>	C <sub>8:0</sub>	C <sub>10:0</sub>	C <sub>11:0</sub>	C <sub>12:0</sub>	C <sub>13:0</sub>	C <sub>14:0</sub>	C <sub>14:1</sub>
40	1.	2,225	1,031	0,483	0,734	0,000	1,273	0,000	6,515	0,739
	6.	2,928	1,361	0,682	1,169	0,000	1,440	0,000	6,151	0,858
	11.	2,936	1,602	0,901	1,653	0,000	1,967	0,000	8,233	0,781
	16.	2,955	2,121	1,273	2,614	0,000	3,069	0,000	10,808	0,924
	21.	3,018	2,271	1,375	2,547	0,000	2,934	0,000	10,428	0,946
192	1.	2,604	1,607	0,869	1,850	0,000	2,495	0,000	9,263	0,790
	6.	3,380	2,296	1,421	2,955	0,000	3,300	0,000	9,519	0,444
	11.	2,669	1,982	1,222	2,738	0,000	3,149	0,000	8,848	0,585
	16.	1,934	1,128	0,720	1,394	0,000	1,499	0,000	4,336	0,509
	21.	2,265	1,274	0,666	1,238	0,000	1,350	0,000	5,417	0,538
301	1.	2,019	1,120	0,539	0,892	0,000	1,421	0,045	6,626	0,311
	6.	2,681	1,398	0,646	1,141	0,000	1,262	0,038	5,583	0,367
	11.	2,991	1,660	0,880	1,405	0,000	1,583	0,000	6,305	0,400
	16.	4,410	0,076	1,303	2,293	0,000	2,511	0,000	10,241	0,708
	21.	2,676	1,610	0,867	1,595	0,000	1,772	0,048	6,775	0,470
306	1.	1,670	1,267	0,696	1,159	0,000	1,939	0,000	8,736	0,720
	6.	2,044	1,718	1,209	2,811	0,074	3,202	0,000	7,716	0,489
	11.	2,659	2,161	1,706	3,226	0,000	3,683	0,000	9,256	0,000
	16.	2,232	1,958	1,330	3,047	0,000	3,692	0,000	11,021	0,000
	21.	2,151	1,886	1,227	2,728	0,000	3,283	0,000	10,264	0,801
412	1.	1,994	1,201	0,599	1,014	0,000	1,852	0,076	8,933	0,316
	6.	2,741	2,048	1,161	2,181	0,000	2,529	0,123	8,407	0,274
	11.	2,336	1,819	1,062	2,016	0,000	2,241	0,000	7,739	0,360
	16.	1,862	1,528	0,889	1,856	0,000	2,206	0,000	8,292	0,464
	21.	2,119	1,775	1,124	2,319	0,000	2,692	0,000	9,481	0,567

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>15:0</sub> – *trans* - C<sub>18:2</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmných standardně (skupina C). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>15:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>17:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	<i>trans</i> C <sub>18:1</sub>	<i>cis</i> C <sub>18:1</sub>	<i>trans</i> C <sub>18:2</sub>
40	1.	0,464	32,442	3,535	0,752	9,84	0,624	35,227	0,000
	6.	0,362	28,652	3,178	0,705	11,322	1,606	36,495	0,000
	11.	0,523	31,54	2,291	0,538	11,428	2,036	30,708	0,000
	16.	0,901	35,122	1,802	0,532	9,485	2,423	23,192	0,000
	21.	0,519	32,567	2,328	0,507	9,65	1,699	26,274	0,000
192	1.	0,632	33,066	3,32	0,665	8,113	1,415	29,147	0,000
	6.	0,598	29,221	1,978	0,603	11,787	2,35	26,028	0,000
	11.	0,933	32,996	2,251	0,636	9,765	2,408	26,454	0,000
	16.	0,433	26,146	3,631	0,796	11,927	1,762	40,561	0,000
	21.	0,458	26,812	3,189	0,698	10,945	1,967	37,782	1,762
301	1.	0,71	32,542	2,267	0,791	14,073	1,53	29,827	0,000
	6.	0,476	30,327	2,252	0,717	17,154	1,561	31,107	0,000
	11.	0,491	30,574	2,225	0,674	15,359	0,000	32,579	0,000
	16.	0,77	46,843	3,69	0,000	19,906	0,000	1,843	0,000
	21.	0,525	29,052	2,351	0,000	13,05	2,041	32,871	0,000
306	1.	0,902	41,807	2,337	0,772	10,888	0,857	22,484	0,000
	6.	0,761	28,932	2,178	0,75	13,442	2,24	27,793	0,000
	11.	1,109	31,509	2,296	0,000	9,499	3,985	25,625	0,000
	16.	1,172	33,125	1,706	0,654	11,073	2,721	22,186	0,000
	21.	1,094	31,92	1,785	0,671	12,136	2,481	23,68	0,000
412	1.	1,007	30,99	1,607	0,964	15,274	2,179	25,641	0,000
	6.	0,994	31,513	1,587	0,741	15,663	3,397	22,406	0,000
	11.	1,041	31,45	1,626	0,723	15,169	4,267	24,017	0,000
	16.	1,138	34,154	1,776	0,758	14,02	3,283	23,877	0,000
	21.	1,488	34,253	1,528	0,683	12,076	4,459	21,292	0,000



Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>20:0</sub> – C<sub>22:1</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených standardně (skupina C). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>20:0</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:1</sub>	C <sub>18:3</sub> 9,12,15	C <sub>21:0</sub>	C <sub>20:2</sub>	C <sub>22:0</sub>	C <sub>20:3</sub>	C <sub>22:1</sub>
40	1.	0,153	0,000	0,140	0,342	0,000	0,047	0,039	0,170	0,000
	6.	0,104	0,000	0,098	0,265	0,000	0,000	0,000	0,047	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,256	0,451	0,000	0,000	0,000	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,257	0,666	0,000	0,000	0,000	0,000
	21.	0,000	0,000	0,000	0,263	0,361	0,000	0,000	0,000	0,000
192	1.	0,120	0,096	0,089	0,345	0,394	0,000	0,000	0,243	0,000
	6.	0,126	0,106	0,000	0,333	0,457	0,000	0,000	0,101	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,334	0,485	0,000	0,000	0,000	0,000
	16.	0,096	0,000	0,111	0,268	0,398	0,000	0,000	0,082	0,000
	21.	0,117	0,000	0,095	0,306	0,452	0,000	0,000	0,000	0,000
301	1.	0,247	0,079	0,129	0,426	0,343	0,051	0,081	0,447	0,000
	6.	0,153	0,055	0,093	0,282	0,323	0,000	0,000	0,084	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,280	0,341	0,000	0,000	0,000	0,000
	16.	0,186	0,130	0,139	0,462	0,673	0,000	0,000	0,137	0,000
	21.	0,142	0,048	0,097	0,303	0,506	0,000	0,036	0,083	0,000
306	1.	0,236	0,000	0,000	0,484	0,310	0,000	0,000	0,192	0,000
	6.	0,158	0,066	0,09	0,417	0,531	0,025	0,034	0,099	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,371	0,649	0,000	0,000	0,000	0,000
	21.	0,178	0,000	0,000	0,420	0,588	0,000	0,000	0,140	0,000
412	1.	0,319	0,000	0,105	0,585	0,424	0,000	0,115	0,480	0,000
	6.	0,182	0,000	0,000	0,565	0,505	0,000	0,000	0,094	0,000
	11.	0,21	0,000	0,000	0,419	0,773	0,000	0,000	0,128	0,000
	16.	0,199	0,000	0,000	0,424	0,716	0,000	0,000	0,000	0,000
	21.	0,181	0,000	0,000	0,371	1,064	0,000	0,000	0,112	0,000

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>20:3</sub> – C<sub>22:6</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených standardně (skupina C). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>20:3</sub>	C <sub>20:4</sub>	C <sub>23:0</sub>	C <sub>22:2</sub>	C <sub>24:0</sub>	C <sub>20:5</sub>	<i>cis</i> C <sub>18:2</sub>	C <sub>22:6</sub>
40	1.	0,000	0,516	0,000	0,000	0,000	0,000	2,671	0,040
	6.	0,000	0,184	0,000	0,000	0,000	0,000	2,392	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,158	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,856	0,000
	21.	0,000	0,000	0,138	0,000	0,000	0,000	2,176	0,000
192	1.	0,000	0,000	0,388	0,043	0,000	0,096	2,350	0,000
	6.	0,000	0,000	0,230	0,000	0,000	0,000	2,766	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,544	0,000
	16.	0,000	0,000	0,129	0,000	0,000	0,000	2,140	0,000
	21.	0,000	0,000	0,119	0,000	0,000	0,000	2,551	0,000
301	1.	0,000	0,000	0,652	0,000	0,064	0,204	2,563	0,000
	6.	0,000	0,176	0,000	0,000	0,049	0,000	2,075	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,255	0,000
	16.	0,000	0,189	0,000	0,000	0,058	0,000	3,363	0,000
	21.	0,000	0,000	0,134	0,000	0,031	0,031	2,276	0,000
306	1.	0,000	0,000	0,297	0,000	0,000	0,000	2,247	0,000
	6.	0,000	0,000	0,304	0,023	0,026	0,069	2,700	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	3,285	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,234	0,000
	21.	0,000	0,000	0,211	0,000	0,000	0,000	2,356	0,000
412	1.	0,000	0,000	0,550	0,187	0,100	0,251	3,137	0,000
	6.	0,000	0,000	0,167	0,000	0,000	0,000	2,723	0,000
	11.	0,000	0,000	0,150	0,000	0,000	0,000	2,455	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,560	0,000
	21.	0,000	0,000	0,137	0,000	0,043	0,056	2,178	0,000

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>4:0</sub> – C<sub>14:1</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených s přidavkem řas *Chlorella sp.* (skupina E). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>4:0</sub>	C <sub>6:0</sub>	C <sub>8:0</sub>	C <sub>10:0</sub>	C <sub>11:0</sub>	C <sub>12:0</sub>	C <sub>13:0</sub>	C <sub>14:0</sub>	C <sub>14:1</sub>
299	1.	1,601	1,035	0,505	0,809	0,000	1,508	0,035	7,622	0,576
	6.	1,871	1,021	0,508	0,906	0,000	1,070	0,000	5,376	0,751
	11.	1,976	1,109	0,576	1,021	0,000	1,150	0,020	5,704	0,902
	16.	2,442	1,622	0,924	1,693	0,025	1,876	0,040	7,351	0,821
	21.	2,322	1,886	1,177	2,539	0,081	2,791	0,171	8,979	0,764
313	1.	0,795	0,734	0,459	1,285	0,000	2,230	0,028	13,125	1,731
	6.	3,186	2,283	1,374	2,762	0,000	3,027	0,000	9,927	0,511
	11.	2,761	2,256	1,311	2,659	0,052	2,844	0,122	9,358	0,567
	16.	2,510	2,090	1,241	2,607	0,060	2,898	0,101	9,692	0,582
	21.	3,323	2,890	1,794	3,843	0,084	4,279	0,143	13,812	0,814
391	1.	1,965	1,184	0,585	1,073	0,000	1,874	0,065	8,993	0,456
	6.	2,610	1,334	0,654	1,121	0,000	1,297	0,033	5,789	0,519
	11.	2,514	1,331	0,666	1,149	0,000	1,265	0,031	5,940	0,603
	16.	3,059	2,013	1,108	2,015	0,030	2,174	0,093	8,181	0,532
	21.	3,060	2,233	1,335	2,548	0,046	2,773	0,082	9,204	0,571
426	1.	2,348	1,155	0,527	0,938	0,000	1,613	0,000	8,502	0,322
	6.	3,097	1,992	1,047	2,051	0,000	2,299	0,000	8,150	0,319
	11.	3,528	2,445	1,353	2,582	0,052	2,813	0,107	10,283	0,509
	16.	2,479	1,691	0,928	1,906	0,000	2,150	0,000	8,321	0,000
	21.	2,450	1,807	1,010	2,011	0,052	2,327	0,110	9,074	0,468
617	1.	2,342	1,878	1,015	1,963	0,000	2,064	0,061	7,939	0,441
	6.	2,376	1,844	1,001	1,927	0,000	2,056	0,086	8,145	0,450
	11.	2,298	1,989	1,119	2,299	0,000	2,444	0,000	8,923	0,543
	16.	2,377	2,127	1,304	2,676	0,000	2,878	0,095	9,617	0,614
	21.	2,380	2,043	1,253	2,569	0,000	2,826	0,132	9,248	0,588

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>15:0</sub> – *trans*- C<sub>18:2</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených s přidavkem řas *Chlorella sp.* (skupina E). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>15:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>17:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	<i>trans</i> C <sub>18:1</sub>	<i>cis</i> C <sub>18:1</sub>	<i>trans</i> C <sub>18:2</sub>
299	1.	0,573	32,668	0,393	0,038	9,509	0,988	36,573	0,000
	6.	0,385	28,185	4,247	0,771	11,135	1,564	39,245	0,000
	11.	0,385	26,937	4,385	0,710	9,852	0,995	40,825	0,000
	16.	0,484	27,644	3,764	0,640	10,100	1,734	35,210	0,035
	21.	0,891	29,070	2,885	0,629	9,802	1,933	30,413	0,000
313	1.	0,553	51,693	3,980	0,499	4,057	0,430	15,041	0,000
	6.	0,701	31,981	1,896	0,653	13,660	1,515	24,339	0,000
	11.	0,798	31,735	1,923	0,655	12,902	1,510	25,043	0,000
	16.	0,936	33,287	1,701	0,604	12,284	1,652	24,370	0,000
	21.	1,265	44,043	1,720	0,727	14,515	1,953	0,898	0,000
391	1.	0,832	33,480	2,859	0,752	10,378	1,009	28,671	0,129
	6.	0,496	29,294	3,854	0,705	13,495	1,222	33,830	0,000
	11.	0,470	29,301	4,140	0,650	11,274	1,231	35,429	0,038
	16.	0,635	29,699	2,990	0,562	11,434	1,456	29,751	0,000
	21.	0,831	30,748	2,663	0,551	10,630	1,591	27,211	0,000
426	1.	1,016	32,038	2,188	1,034	15,092	1,154	27,670	0,000
	6.	1,012	32,808	1,745	0,757	15,707	1,371	24,999	0,000
	11.	1,375	42,070	2,494	0,999	18,904	3,092	1,859	0,000
	16.	1,208	34,387	1,658	0,757	14,318	2,133	25,149	0,000
	21.	1,138	35,214	1,590	0,689	12,487	1,976	23,324	0,000
617	1.	0,882	31,513	1,666	0,765	16,496	1,807	26,167	0,000
	6.	0,939	31,992	1,633	0,759	16,114	1,896	25,604	0,000
	11.	1,036	32,932	1,575	0,734	15,368	1,825	24,067	0,000
	16.	1,074	33,039	1,511	0,678	14,057	1,785	22,886	0,000
	21.	1,029	32,230	1,568	0,717	13,717	2,031	24,046	0,000

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>20:0</sub> – C<sub>22:1</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených s přidavkem řas *Chlorella sp.* (skupina E). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>20:0</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:1</sub>	C <sub>18:3</sub> 9,12,15	C <sub>21:0</sub>	C <sub>20:2</sub>	C <sub>22:0</sub>	C <sub>20:3</sub>	C <sub>22:1</sub>
299	1.	0,168	0,057	0,154	0,431	0,401	0,046	0,039	0,265	0,023
	6.	0,000	0,000	0,000	0,297	0,348	0,000	0,000	0,000	0,000
	11.	0,087	0,019	0,132	0,282	0,387	0,014	0,014	0,039	0,014
	16.	0,093	0,033	0,127	0,320	0,523	0,000	0,000	0,029	0,000
	21.	0,106	0,031	0,093	0,337	0,612	0,000	0,022	0,052	0,000
313	1.	0,081	0,046	0,061	0,317	0,222	0,022	0,021	0,176	0,000
	6.	0,000	0,000	0,000	0,333	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	11.	0,149	0,043	0,165	0,328	0,416	0,000	0,037	0,055	0,000
	16.	0,157	0,042	0,054	0,339	0,480	0,020	0,046	0,065	0,000
	21.	0,192	0,049	0,06	0,399	0,556	0,031	0,059	0,098	0,000
391	1.	0,201	0,110	0,083	0,438	0,440	0,000	0,065	0,345	0,000
	6.	0,135	0,032	0,077	0,308	0,391	0,023	0,033	0,076	0,000
	11.	0,108	0,033	0,105	0,342	0,440	0,000	0,000	0,058	0,000
	16.	0,139	0,048	0,109	0,369	0,561	0,030	0,034	0,065	0,000
	21.	0,129	0,071	0,075	0,356	0,582	0,000	0,039	0,085	0,000
426	1.	0,267	0,000	0,000	0,793	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	6.	0,000	0,000	0,000	0,422	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	11.	0,252	0,000	0,079	0,579	0,879	0,000	0,079	0,089	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,689	0,000	0,000	0,000	0,000
	21.	0,199	0,051	0,084	0,432	0,712	0,030	0,070	0,097	0,000
617	1.	0,177	0,000	0,071	0,422	0,000	0,000	0,101	0,087	0,000
	6.	0,203	0,000	0,066	0,470	0,000	0,000	0,109	0,090	0,000
	11.	0,200	0,000	0,000	0,463	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	16.	0,171	0,000	0,000	0,447	0,000	0,000	0,098	0,113	0,000
	21.	0,169	0,000	0,000	0,523	0,000	0,000	0,000	0,211	0,000

Procentuální zastoupení mastných kyselin C<sub>20:3</sub> – C<sub>22:6</sub> ve vzorcích mléka dojníc krmených s přidavkem řas *Chlorella sp.* (skupina E). Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru 2 paralelních měření

Dojnice	Den odběru	C <sub>20:3</sub>	C <sub>20:4</sub>	C <sub>23:0</sub>	C <sub>22:2</sub>	C <sub>24:0</sub>	C <sub>20:5</sub>	cis C <sub>18:2</sub>	C <sub>22:6</sub>
299	1.	0,020	0,000	0,484	0,053	0,039	0,091	3,238	0,041
	6.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,320	0,000
	11.	0,018	0,000	0,109	0,000	0,000	0,026	2,309	0,000
	16.	0,000	0,000	0,122	0,000	0,000	0,048	2,298	0,000
	21.	0,000	0,000	0,141	0,000	0,000	0,03	2,244	0,000
313	1.	0,000	0,000	0,197	0,042	0,020	0,077	2,079	0,000
	6.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,851	0,000
	11.	0,000	0,000	0,116	0,021	0,027	0,033	2,112	0,000
	16.	0,000	0,000	0,131	0,000	0,000	0,040	2,010	0,000
	21.	0,000	0,000	0,157	0,000	0,000	0,051	2,245	0,000
391	1.	0,000	0,507	0,147	0,083	0,177	0,084	3,014	0,000
	6.	0,000	0,168	0,024	0,024	0,043	0,000	2,414	0,000
	11.	0,000	0,137	0,029	0,000	0,061	0,000	2,654	0,000
	16.	0,000	0,000	0,176	0,000	0,028	0,039	2,667	0,000
	21.	0,000	0,000	0,162	0,036	0,031	0,05	2,308	0,000
426	1.	0,000	0,349	0,000	0,000	0,217	0,000	2,777	0,000
	6.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,224	0,000
	11.	0,000	0,227	0,000	0,063	0,071	0,000	3,218	0,000
	16.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,226	0,000
	21.	0,000	0,144	0,000	0,000	0,065	0,000	2,388	0,000
617	1.	0,000	0,089	0,000	0,000	0,000	0,000	2,051	0,000
	6.	0,000	0,135	0,000	0,000	0,000	0,000	2,105	0,000
	11.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,187	0,000
	16.	0,000	0,156	0,000	0,000	0,000	0,000	2,296	0,000
	21.	0,000	0,166	0,000	0,000	0,000	0,000	2,554	0,000