

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího mléka**

**Diplomová práce**

**Bc. Hana Studničná**

**Výživa a potraviny**

**doc. Ing. Alena Hejtmánková, Csc.**

© 2019 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své diplomové práce, paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, Csc., za odborné vedení práce, pečlivost, připomínky a čas, který mi věnovala. Mé poděkování patří i Ing. Tereze Michlové, Ph.D., která byla mou konzultantkou a pomáhala mi při stanovení vybraných prvků. Velký dík patří i mé rodině, která mě celou dobu při studiu podporovala.

# Stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího mléka

## Souhrn

Mezi důležité ukazatele kvality ovčího mléka lze zařadit obsah chloridových aniontů, obsah sodíku, draslíku a vápníku, ale také zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí. Cílem této práce bylo stanovení obsahu jmenovaných minerálních látek a zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém obsahu kaseinu a posouzení vzájemného vztahu mezi hodnotami sledovaných analyz a počtem somatických buněk nebo průběhem laktace. Bylo posuzováno mléko ovcí lacaune z konvenčního chovu farmy Krmelín a mléko východofříských ovcí z ekologického chovu farmy Šonov. Chloridové ionty byly stanoveny dle normy ČSN 57 0530. Obsah vápníku, sodíku a draslíku byl stanoven metodou plamenové AAS a jednotlivé kaseinové frakce metodou HPLC.

Pro obsah chloridů nebyl zaznamenán žádný trend související s rostoucím počtem somatických buněk v mléce či se stádiem laktace. Průměrný obsah chloridů v mléce z konvenčního chovu dosahoval hodnoty 96,16 mg.100 g<sup>-1</sup> ovčího mléka. Průměrný obsah chloridů v mléce odebraném v ekologickém chovu byl vyšší, a to 112,3 mg.100 g<sup>-1</sup> ovčího mléka. Obsahu draslíku v mléce z ekologického chovu farmy Šonov klesal nejen s počtem somatických buněk, ale i v průběhu laktace. Zatímco v konvenčním chovu byl obsah draslíku v mléce proměnlivý v průběhu laktace, ale i s počtem somatických buněk. Průměrný obsah draslíku v ovčím mléce z ekologického chovu činil 1393 mg.kg<sup>-1</sup> mléka. V konvenčním chovu dosahoval průměrné hodnoty 1254 mg.kg<sup>-1</sup> mléka. Na farmě Krmelín stoupal obsah sodíku v ovčím mléce s počtem somatických buněk i v průběhu laktace. Na farmě Šonov docházelo ke zvyšování obsahu sodíku v mléce pouze s rostoucím počtem somatických buněk. Průměrný obsah sodíku v konvenčním chovu činil 558,3 mg.kg<sup>-1</sup> a v ekologickém chovu 481,8 mg.kg<sup>-1</sup>. Žádný trend nevykazoval obsah vápníku v mléce v relaci s rostoucím počtem somatických buněk ani u jedné z farem. Pouze ve vzorcích ovčího mléka z farmy Šonov docházelo k nárůstu obsahu vápníku v průběhu laktace. Průměrný obsah vápníku byl 1028 mg.kg<sup>-1</sup> v mléce z farmy Krmelín a 1298 mg.kg<sup>-1</sup> v mléce z farmy Šonov. Relativní zastoupení αS2-kaseinu a β-kaseinu v průběhu laktace v mléce z obou farem stoupalo. Opačný trend byl zaznamenán v zastoupení αS1- a κ-kaseinu.

**Klíčová slova:** ovčí mléko, sodík, draslík, vápník, chloridy, bílkoviny

# Determination of selected indicators of sheep's milk quality

## Summary

Chlorine ions, sodium, potassium, calcium as well as the proportion of individual protein fractions are very important indicators of the quality of ewe's milk. The aim of this study was to determine the content of selected indicators and their relationship between their individual values, somatic cell counts and period of lactation. The milk of lacaune sheep from the conventional farm of Krmelín and the milk of East Frisian sheep from the organic farm of Šonov were evaluated. Chlorine ions in the sheep milk were determined according to the standard ČSN 57 0530. The content of sodium, potassium and calcium was determined by the flame AAS method. The individual casein fractions were determined by HPLC method.

There was no trend associated with increasing somatic cell counts in milk or period of lactation in the chloride assay. The average chloride content of conventional milk was 96.2 mg per 100 grams of sheep's milk. The average chloride content of milk removed in organic farm was higher, namely 112.3 mg of chlorides per 100 grams of milk. The amount of potassium decreased not only with the number of somatic cells but also during lactation in Šonov. The potassium content varied during the lactation and also with somatic cell counts in conventional breeding. The average potassium content of sheep's milk from organic farm was 1393 mg per kilogram of milk. In conventional farm, the average value was 1254.41 mg per kilogram of milk. Sodium content in sheep's milk grew with the number of somatic cells during lactation at Krmelín. The sodium content increased only with the number of somatic cell in Šonov. The average sodium content in conventional farm was 558.3 mg/kg and 481.8 mg/kg in organic farm. There was no trend for calcium with increasing somatic cell counts in either farm. Only in the samples of sheep milk from the Šonov farm, the calcium content during lactation increased. The average calcium content was 1028 mg/kg for Krmelín farm milk and 1298 mg/kg for Šonov farm milk. The relative proportions of  $\alpha$ S2-casein and  $\beta$ -casein increased during lactation in milk from both farms. The opposite trend was observed for  $\alpha$ S1- and  $\kappa$ -casein.

**Keywords:** ovine milk, sodium, potassium, calcium, chlorides, proteins

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Cíle práce</b> .....	<b>2</b>
<b>2.2</b>	<b>Vědecké hypotézy</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Ovčí mléko</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Složení ovčího mléka</b> .....	<b>4</b>
3.1.1	Proteiny v ovčím mléce.....	4
3.1.1.1	Kasein .....	5
3.1.1.2	Syrovátkové bílkoviny .....	6
3.1.2	Tuk v ovčím mléce.....	6
3.1.3	Sacharidy v ovčím mléce.....	7
3.1.4	Popeloviny v ovčím mléce .....	8
3.1.5	Vitaminy v ovčím mléce .....	8
3.1.6	Enzymy v ovčím mléce .....	9
3.1.7	Faktory ovlivňující složení ovčího mléka.....	10
<b>3.2</b>	<b>Plemena chovaných ovcí</b> .....	<b>10</b>
3.2.1	Kombinovaný typ .....	10
3.2.1.1	Merino.....	11
3.2.1.2	Žírné merino .....	11
3.2.1.3	Bergschaf.....	11
3.2.1.4	Merinolandschaf .....	11
3.2.1.5	Cigája .....	11
3.2.1.6	Šumavská ovce .....	11
3.2.1.7	Valašská ovce .....	12
3.2.1.8	Kent–Romney.....	12
3.2.1.9	Zwartbles.....	12
3.2.2	Masný typ .....	12
3.2.3	Plodný a mléčný (dojný) typ .....	13
3.2.3.1	Romanovská ovce.....	13
3.2.3.2	Finská ovce .....	13
3.2.3.3	Východofríská ovce .....	13
3.2.3.4	Olkulská ovce.....	14
3.2.3.5	Lacaune .....	14

<b>3.3</b>	<b>Výrobky z ovčího mléka .....</b>	<b>14</b>
<b>3.4</b>	<b>Metody stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího mléka .....</b>	<b>17</b>
3.4.1	Chloridové ionty.....	17
3.4.2	Draslík, sodík, vápník .....	18
3.4.3	Bílkovinné frakce.....	18
<b>4</b>	<b>Materiál a metody .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1</b>	<b>Farma Krmelín .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2</b>	<b>Farma Šonov .....</b>	<b>20</b>
<b>4.3</b>	<b>Použité chemikálie .....</b>	<b>22</b>
<b>4.4</b>	<b>Pomůcky .....</b>	<b>23</b>
<b>4.5</b>	<b>Použité přístroje.....</b>	<b>23</b>
<b>4.6</b>	<b>Stanovení chloridových iontů v ovčím mléce.....</b>	<b>24</b>
4.6.1	Postup stanovení chloridových iontů .....	24
4.6.2	Výpočet stanovení chloridových iontů .....	25
<b>4.7</b>	<b>Stanovení sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce .....</b>	<b>25</b>
4.7.1	Mineralizace v mikrovlnné peci .....	25
4.7.2	Postup odpaření vzorků .....	27
4.7.3	Postup stanovení vybraných minerálních prvků (sodík, draslík, vápník) pomocí atomové absorpční spektrometrie.....	28
<b>4.8</b>	<b>Stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce .....</b>	<b>28</b>
4.8.1	Postup stanovení bílkovinných frakcí .....	28
4.8.2	Chromatografické podmínky .....	30
<b>4.9</b>	<b>Statistické vyhodnocení .....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Stanovení chloridových iontů v ovčím mléce.....</b>	<b>32</b>
<b>5.2</b>	<b>Stanovení sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce .....</b>	<b>34</b>
<b>5.3</b>	<b>Stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce .....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>43</b>
<b>6.1</b>	<b>Obsah chloridových iontů v ovčím mléce .....</b>	<b>43</b>
<b>6.2</b>	<b>Obsah sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce.....</b>	<b>44</b>
6.2.1	Draslík .....	44
6.2.2	Sodík.....	45
6.2.3	Vápník .....	47
<b>6.3</b>	<b>Obsah bílkovinných frakcí v ovčím mléce .....</b>	<b>49</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>55</b>
<b>9</b>	<b>Citace obrázků .....</b>	<b>63</b>

<b>10</b>	<b>Přílohy.....</b>	<b>64</b>
<b>11</b>	<b>Seznamy.....</b>	<b>65</b>
<b>11.1</b>	<b>Seznam tabulek.....</b>	<b>65</b>
<b>11.2</b>	<b>Seznam grafů .....</b>	<b>65</b>
<b>11.3</b>	<b>Seznam obrázků.....</b>	<b>65</b>
<b>11.4</b>	<b>Seznam příloh .....</b>	<b>66</b>



# 1 Úvod

Ovce patří k jedněm z nejstarších domestikovaných hospodářských zvířat. Společně s kozami se chovaly především kvůli mléku, protože jejich chov nebyl tak náročný, jako je například chov skotu. Chov ovcí byl ve středověku velmi důležitý.

Na dnešním území České republiky je chov ovcí datován již k 9. století. Ovce se chovaly především pro mléčnou, ale i masnou užitkovost a také pro svou vysokou odolnost vůči klimatickým podmínkám. Dle historických pramenů jsou Beskydy a Karpaty místy, kde došlo k rozvoji valašnicko-salašnického způsobu chovu. Prvními chovanými ovci byly cápové-valašské ovce, které byly intenzivně dojeny. Ve 14. století zaujímal chov ovcí již  $\frac{3}{4}$  z chovu všech hospodářských zvířat.

Chov ovcí prošel i významnými krizemi. To vedlo k výraznému poklesu počtu chovaných zvířat z 2 228 587 ks v roce 1837 na 40 302 ks v roce 1935. K chovu ovcí se pomalu vracelo v době socialismu, kdy je za vrcholný rok označován rok 1990 se 429 714 kusy ovcí. Od té doby dochází znovu k úpadku chovu těchto hospodářských zvířat. Dnes již Česká republika v počtu chovaných ovcí na hektar zemědělské půdy v porovnání s EU značně zaostává. Nejvíce ovcí je chováno v Asii a Africe.

Kromě produkce ovčího mléka má chov ovcí i další mnohostranné přínosy. Za hlavní produkty chovu ovcí jsou označovány maso, mléko, vlna nebo kůže. Kromě těchto hlavních produktů jsou produkovány i produkty vedlejší. Za vedlejší produkty jsou označovány například střeva, krev, lůj, předžaludky nebo lanolin. Dalšími pozitivy chovu ovcí může být produkce mrvy, která má své využití jako hnojivo, nebo vypásání chráněných území, či míst, která mohou být pro ostatní hospodářská zvířata nepřístupná.

Ovčí mléko je bílá až lehce nažloutlá, vodnatá tekutina, která má svou charakteristickou natrpklou chuť a vůni. Svým složením se velmi liší od mléka kravského. Všechny důležité složky obsahuje ovčí mléko více. Průměrně se v něm vyskytuje 5,5 % bílkovin (u kravského 3,3 %), 7 % tuku (kravské 4 %) a 5 % sacharidů (u kravského 4,5 %). Proto je také jeho výživová hodnota téměř dvakrát vyšší než u mléka kravského.

Většinou se ovčí mléko konzumuje v podobě sýrů. Výroba sýrů z ovčího mléka je udržována v mnoha oblastech světa, u nás nejbliže na Slovensku. Nejznámějšími sýry jsou především brynza, oštěpek, parenica či měkké zrající sýry. Známý je také syrovátkový nápoj žinčica.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **2.1 Cíle práce**

Cílem práce je stanovení obsahu chloridů, sodíku, draslíku, vápníku a bílkovinných frakcí v ovčím mléce v průběhu laktace a posouzení vzájemného vztahu mezi počtem somatických buněk a dalšími sledovanými ukazateli kvality ovčího mléka.

### **2.2 Vědecké hypotézy**

H1: Zastoupení a obsah jednotlivých bílkovinných frakcí v ovčím mléce se v průběhu laktačního období liší.

H2: Obsah sodíku, draslíku, vápníku a chloridů v ovčím mléce se liší v závislosti na počtu somatických buněk v mléce a fázi laktačního období.

### 3 Ovčí mléko

Produkce ovčího mléka není zdaleka tak vysoká, jako je produkce mléka kravského. Z celkové světové produkce mléka zaujímá mléko ovčí přibližně dvě procenta. Jeho využití nespočívá v přímé konzumaci, ale spíše ve výrobě sýrů (Semjan 1994).

Mezi plemena ovcí chovaná pro svou mléčnou užitkovost v České republice se řadí plemena cigája, zušlechtěná valaška, východofríská ovce, šumavskoá ovce a plemeno lacaune. Nejvyšší mléčné produkce z uvedených plemen dosahuje východofríská ovce. Její mléčná produkce se za období laktace pohybuje v rozmezí 250–400 litrů ovčího mléka. Středně vysoké mléčné produkce dosahuje plemeno lacaune. Jeho mléčná produkce se pohybuje v rozmezí 180–270 litrů mléka za období laktace. Nejnižší průměrnou produkci ovčího mléka za laktaci mají plemena cigája, zušlechtěná valaška nebo šumavská ovce, u kterých se produkce mléka za laktaci pohybuje v rozmezí 100–150 litrů (Kuchtík 2015).

Existuje hned několik faktorů, které ovlivňují mléčnou produkci ovcí. Nejdůležitějším faktorem je výživa ovce a její zdravotní stav. Pouze správná výživa a výborný zdravotní stav může zajistit produkci kvalitního a výživného ovčího mléka. Významnou roli při ovlivnění mléčné produkce ovcí hraje také plemeno. Jak bylo popsáno výše, mléčná užitkovost se u jednotlivých plemen může lišit až v řádu stovek litrů vyprodukovaného ovčího mléka za období laktace na jednu dojnici. Význam může mít také množství jehňat, které ovce porodí. Je potvrzeno, že ovce, které mají dvě jehňata, vyprodukují průměrně o 15–35 % mléka více než ovce, kterým se narodí pouze jedno jehně. Maximální mléčné produkce je pak dosaženo u ovcí mezi třetí až pátou laktací. Dalším faktorem může být i počátek laktace. Ovce, které mají počátek laktace směřovaný do podzimních měsíců, a ne do zimních či jarních, jako je nejčastěji leden až duben, mají celkovou produkci mléka za období laktace až o 30 % vyšší. Je to zdůvodněno rozdílnou úrovní výživy jak v období březosti, tak v období laktace. V zimním období je totiž krmná dávka stabilnější a bohatší než v letním období, kdy je z větší části obživa ovcí založena především na pastvě. Vliv na mléčnou produkci může mít i živá hmotnost ovce nebo velikost jejího vemene (Kuchtík 2015).

Výživová hodnota ovčího mléka je vyšší než mléka kozího nebo kravského. Obsahuje vyšší množství bílkovin, lipidů, minerálů a vitaminů nezbytných pro lidské zdraví. Jeho kalorická hodnota je 593,2 kJ na 100 gramů ovčího mléka (Haenlein 2001, Kaminarides et al. 2007, Park et al. 2007, Barłowska et al. 2011).

Ovčí mléko má sladkou chuť, vůni a krémovoutexturu kvůli přítomnosti malých tukových kuliček rozptýlených v mléce, čímž se lépe tráví (Park et al. 2007).

Dvě sklenice ovčího mléka denně (500 gramů) by zajistily dostatečný denní příjem osmi z deseti důležitých aminokyselin, stejně tak, jako příjem vápníku, fosforu a riboflavinu. Kromě folátu je obsah všech vitaminů v ovčím mléce vyšší než jejich obsah v kravském mléce (Haenlein & Wendorff 2006).

### 3.1 Složení ovčího mléka

Mléko je sekretem mléčné žlázy savců, v případě ovčího mléka tedy sekretem mléčné žlázy ovčí. Jedná se o složitou emulzi tuku ve vodě, ve které jsou obsaženy tuky, bílkoviny, laktóza, minerály, enzymy, buňky, hormony, imunoglobuliny a vitaminy.

Složení ovčího mléka se liší především v závislosti na fázi laktace. Hodnoty daných ukazatelů se pohybují v následujících intervalech. Obsah sušiny je v ovčím mléce v rozmezí 15–23 %, obsah proteinů 4–8 %, tuku 5–9 %, laktózy 3,5–5,5 % a popelovin v rozmezí 0,6–1,2 %. Obsah všech těchto látek, kromě obsahu laktózy, je vyšší v ovčím mléce, než je tomu v ostatních druzích mlék. V důsledku toho je ovčí mléko vhodné pro zpracování především na sýr (Kuchník 2015).

Chemické složení ovčího mléka se liší dle druhu ovcí, ale i dle dalších parametrů. Těmi mohou být fáze laktace, prostředí, ve kterém ovce žijí, jejich věk, výživa, onemocnění vemene či genetické faktory (Tamime et al. 2011, Claeys et al. 2014).

#### 3.1.1 Proteiny v ovčím mléce

Ovčí mléko obsahuje téměř dvakrát tolik bílkovin než mléko kravské a kozí. Obsah bílkovin v ovčím mléce má zásadní vliv na výživovou a technologickou hodnotu mléka (Claeys et al. 2014).

Proteiny v ovčím mléce se dělí na rozpustné a nerozpustné. Mezi nerozpustné bílkoviny lze zařadit kaseiny. Mezi bílkoviny rozpustné patří syrovátkové bílkoviny. Kaseiny se dělí na několik skupin. Jsou to  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  a  $\kappa$ -kaseiny. Syrovátkové bílkoviny se dělí pouze na dvě skupiny, a to  $\alpha$ -laktalbumin a  $\beta$ -laktoglobulin. Ovčí mléko je také zdrojem menších proteinů, jako je sérový albumin, imunoglobuliny, laktoferin, transferin, kalmodulin (váže vápník), prolaktin a další menší proteiny (Selvaggi et al. 2014b).

Vysoký obsah bílkovin, charakteristický pro ovčí mléko, se odráží i na skutečnosti, že právě ovčí mléko má výrazně vyšší obsah esenciálních aminokyselin oproti ostatním druhům mlék. Ve vyšší míře se zde vyskytují serin, alanin, histidin, valin a lysin. Obsah cysteinu

a glycinu je nižší. Vysoká nutriční hodnota ovčího mléka je také spojena s obsahem prolinu, který ovlivňuje tvorbu hemoglobinu (Molik et al. 2012).

Dosud bylo zjištěno, že 6 hlavních mléčných proteinů v ovčím mléce existuje v 19 různých polymorfických variantách. Pro  $\alpha$ S1-kasein se jedná o varianty A, B, C, D, E, F, pro  $\alpha$ S2-kasein jde o polymorfické varianty A, B a další variantu objevenou u plemene Manchega (Chianese et al. 1993). Třetí varianta byla pravděpodobně způsobena delecí v aminokyselinové sekvenci (Recio et al. 1997).  $\beta$ -kasein existuje ve variantách A, B a C, kdežto  $\kappa$ -kasein se vyskytuje pouze ve formách A a B. U syrovátkových bílkovin lze nalézt  $\alpha$ -laktalbumin ve variantách A a B a  $\beta$ -laktoglobulin v polymorfických variantách A, B a C (Amigo et al. 2000, Martin a Addeo 1996, Moiola et al. 1998, Pirisi et al. 1999).

Lokus  $\alpha$ S1-kaseinu se zdá být nejvíce heterogenní. Jeho objevené polymorfické varianty A až F se řadí podle jejich rostoucí elektroforetické mobility směrem ke katodě při stoupající hodnotě pH (Pirisi et al. 1999). Fyziologickou funkcí  $\alpha$ -laktalbuminu je umožnění syntézy laktózy (Moioli et al. 1998).

Obecně platí, že různé genetické polymorfismy bílkovin ovčího mléka jsou způsobeny vzájemnými substitucemi aminoskupin, fosforylací a glykosylací, což způsobuje odlišnost řetězové délky a molekulové hmotnosti, elektrických nábojů a hydrofóbnosti proteinů. Toto také způsobuje, že mléko od jednotlivých plemen ovcí se liší svými funkčními charakteristikami, hydratací, emulgací a reakcí na enzymy, jako je syřidlo a další. O testování jednotlivých ovcí pro jejich polymorfní typy mléčných bílkovin je velký zájem, ať akademický nebo komerční (Martin a Addeo 1996, Pirisi et al. 1999).

### 3.1.1.1 Kasein

Kasein tvoří hlavní část bílkovin ovčího mléka. Ovčí mléko je na tuto bílkovinu velmi bohaté. Vyskytuje se zde v hodnotách od 4,2 do 5,2 gramů kaseinu na 100 gramů ovčího mléka (Dario et al. 2008, Selvaggi et al. 2014a). Tato bílkovinná část je tepelně odolná.

Kaseinová část v ovčím mléce zaujímá přibližně 80 % celkové mléčné bílkoviny. V porovnání s mlékem dalších savců je to velmi vysoká hodnota. Například v kobylym mléce činí hodnota kaseinové frakce v mléce 50 % a v lidském mateřském mléce je to dokonce méně než 50 % z celkového množství bílkovin (Park et al. 2007).

Kasein není homogenním proteinem. Jak již bylo napsáno výše, je složen ze 4 frakcí:  $\alpha$ S1-kasein, zaujímající 6,7 % kaseinu,  $\alpha$ S2-kasein, jehož zastoupení je 22,8 % z celkového

množství kaseinu,  $\beta$ -kasein, kterého je zastoupeno nejvíce a to 61,6 % a  $\kappa$ -kasein, kterého je 8,9% z celkového množství kaseinu v ovčím mléce (Selvaggi et al. 2014a).

V roce 1997 Chianese s použitím gelové izoelektrické fokusace rozlišil tři genetické varianty  $\beta$ -kaseinu. Označil je jako A, B a C. Varianty A a C jsou téměř stejné. Jediným rozdílem je aminokyselinová substituce Glu na pozici 2 u varianty A a Gln u varianty C.

Byla objevena přítomnost vícefosforylovaných forem  $\beta$ -kaseinu, kromě  $\beta$ 1- a  $\beta$ 2- kaseinů, které obsahují šest a pět fosfátových skupin. Výskyt fosforylovaných forem  $\beta$ -kaseinu může ovlivnit stabilitu micel a dostupnost a distribuci vápníku v mléce. Stadium laktace, zdraví a věk jedinců hrají dostupnou roli při určování hladiny fosforylace  $\beta$ -kaseinu v jednotlivých mlékách.

$\kappa$ -kasein hraje zásadní roli v micelární struktuře a procesu srážení. Jak bylo zjištěno, ovčí  $\kappa$ -kasein je tvořen 171 aminokyselinovými zbytky (Jollès et al. 1974).

### 3.1.1.2 Syrovátkové bílkoviny

Syrovátkové bílkoviny tvoří menší frakci mléčných bílkovin. V ovčím mléce se pohybují v hodnotách mezi 1,02 až 1,3 gramy na 100 gramů ovčího mléka (Dario et al. 2008, Selvaggi et al. 2014a).

Mezi syrovátkové bílkoviny lze zahrnout především albuminy, které jsou reprezentovány třemi hlavními frakcemi:  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin a sérový albumin. V porovnání s kravským mlékem vykazují syrovátkové bílkoviny ovčího mléka výrazně vyšší tepelnou citlivost. Během pasterace ovčího mléka při 65 °C po dobu 30 minut dojde k denaturaci přibližně 15 % ve vodě rozpustných proteinů. V kravském mléce dojde při stejných podmínkách k denaturaci pouze 2,3 % syrovátkových bílkovin (Molik et al. 2012).

### 3.1.2 Tuk v ovčím mléce

Ovčí, ale i kozí mléko mají velmi vysoké koncentrace tukových kuliček, které jsou menší než v mléce kravském. Průměrné hodnoty průměrů těchto tukových kuliček jsou 3,6  $\mu$ m v ovčím mléce a 3,0  $\mu$ m v mléce kozím oproti průměru tukových kuliček 4,0  $\mu$ m v mléce kravském (Gantner et al. 2015, Balthazar et al. 2017).

Triacylglyceroly (TAG) představují největší skupinu lipidů ovčího mléka (téměř 98 %) a obsahují velké množství esterifikovaných mastných kyselin. Ovčí mléko obsahuje také jednoduché lipidy jako diacylglyceroly, monoacylglyceroly, estery cholesterolu nebo

komplexní lipidy, jako jsou fosfolipidy. Lipidy ovčího mléka obsahují i vyšší procento triacylglycerolů se středním řetězcem (C26-C36) a nižší podíl triacylglycerolů s dlouhým řetězcem (C46-C54) než lipidy mléka kravského (Recio et al. 2009).

Obsah mastných kyselin v ovčím mléce se podstatně neliší od mléka kravského. Pět mastných kyselin (C10:0, C14:0, C16:0, C18:0 a C18:1) tvoří více než 75% všech mastných kyselin v ovčím mléce (Park et al. 2007). Obsahuje podobné množství máselné kyseliny (C4:0), které je nízké. Jeho hodnota je 3,51 g na 100 gramů mléka. Pro srovnání, v kravském mléce se hodnota kyseliny máselné pohybuje okolo 3,90 g na 100 gramů mléka (Baltazar et al. 2017). Tato nízká koncentrace máselné kyseliny přispívá v *in vitro* testech k inhibici lidských nádorových buněk. Obsahuje však více nasycených mastných kyselin, jako je například kapronová kyselina (C6:0), kaprylová kyselina (C8:0) a kaprinová kyselina (C10:0). Tyto kyseliny by mohly mít pozitivní vliv na snížení tělesné hmotnosti a tělesného tuku konzumenta (Rasmussen et al. 2010, Foglietta et al. 2014).

### 3.1.3 Sacharidy v ovčím mléce

V ovčím mléce, jako v každém mléce, je zastoupený cukr laktóza. Jedná se o disacharid, který se skládá z glukózy a galaktózy, které mohou být také přítomny v malých množstvích jako volné monosacharidy. Tento cukr je zastoupen v mléku všech savců vyjma tuleňů. Jedná se o mléčný cukr, který je syntetizován z glukózy v mléčné žláze savců, v tomto případě ovcí. K syntéze laktózy dochází za aktivní účasti mléčného proteinu  $\alpha$ -laktalbuminu (Larson 1985).

Mléčný cukr má především význam pro udržení osmotické rovnováhy mezi krví a alveolárními buňkami mléčné žlázy během syntézy a sekrece mléka do alveolárního lumenu a kanálového systému vemena (Haenlein & Wendorff 2006).

Obsah laktózy je v ovčím mléce jako i v mléčích jiných přežvýkavců nižší v kolostru na počátku laktace stejně jako ke konci laktace. Tím se obsah laktózy od obsahu jichých živin v ovčím mléce liší. Ostatní živiny na počátku a ke konci laktace svůj obsah zvyšují (Haenlein & Wendorff 2006). Obsah laktózy se v ovčím mléce pohybuje v rozmezí od 4,06 % do 5,69 % v závislosti na druhu plemene ovcí (Haenlein & Wendorff 2006).

Pro člověka s laktózovou intolerancí může být užitečnou informací skutečnost, že laktóza má nižší obsah ve zpracovaném mléce (například jogurtu), kde je štěpena kyselinou mléčnou. V důsledku toho není nutné takové množství střevní laktázy, která laktózu štěpí při trávení. Ještě významnější je další skutečnost, že v tvrdých sýrech se žádná laktóza

nevyskytuje, protože je při jejich výrobě obsažena v syrovátce, která je odváděna během výroby sýrů (Haenlein & Wendorff 2006).

Laktóza je ovšem cennou živinou, jelikož napomáhá intestinální absorpci vápníku, hořčíku a fosforu, stejně jako lepšímu využití vitamínu D (Campbell & Marshall 1975). Laktóza je částečně fermentována ve střevech, kde snižuje pH a pomáhá zabránit růstu nežádoucích hnilobných bakterií (Haenlein & Wendorff 2006).

Ostatní sacharidy, které byly v ovčím mléce nalezeny, jsou oligosacharidy, glykopeptidy, glykoproteiny a nukleotidové cukry. Nacházející se v poměrně malém množství a jejich funkce v ovčím mléce nebyly studovány (Larson 1985).

#### **3.1.4 Popeloviny v ovčím mléce**

Ovčí mléko je bohatým zdrojem minerálních látek. Obsahuje kolem 0,9 % popelovin. Pro srovnání, kravské mléko obsahuje 0,7 % popelovin. Hladiny některých prvků jsou zde vyšší než v kravském mléce, jiné jsou naopak nižší v porovnání s mlékem kravským. Vysoké hladiny dosahuje vápník, fosfor, hořčík, zinek, mangan, železo nebo měď. Naopak nižší úrovně vykazují draslík a sodík (Park et al. 2007, Wijesinha-Bettoni & Burlingame 2013). Kromě již výše zmiňovaných prvků se v ovčím mléce vyskytuje ve větší míře i železo nebo jód (Kuchtík 2015).

Vápník spolu s fosforem tvoří základní prvky pro růst a udržování kostní hmoty. Tyto prvky jsou významné především pro novorozence (Al-Wabel 2008). Oba prvky mají v ovčím mléce vysokou biologickou dostupnost (Gueguen & Pointillart 2000).

V ovčím mléce byl zjištěn také vyšší obsah kadmia oproti mléku kravskému. Pravděpodobně je to způsobeno zdrojem krmiva nebo jiným metabolismem u krav a ovcí. Pokud se ovce pasou v nevhodných podmínkách, například na trávě v blízkosti dálnice či silnice se silným provozem, může se v mléce vyskytovat také olovo nebo platina (Coni et al., 1999). Dnes už se v benzínu olovo nepoužívá.

#### **3.1.5 Vitaminy v ovčím mléce**

Kromě minerálních látek se v ovčím mléce vyskytuje i velké množství vitaminů. Z řady vitaminů jsou pro lidskou výživu důležité vitaminy B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C a D (Kuchtík 2015). Obsah vitaminů je v ovčím mléce většinou vyšší než v kravském a kozím mléce. Výjimku tvoří pouze karoten a folát, který je vyšší v kravském mléce, dále pak



pantotenová kyselina a vitamin D, které dosahují v mléce kravském stejných hodnot jako v mléce ovčím (Park et al. 2007, Wijesinha-Bettoni & Burlingame 2013). Ovčí mléko lze také považovat za zdroj vitamínu C, jehož průměrný obsah v ovčím mléce činí 4,6 mg ve 100 gramech mléka (Wijesinha-Bettoni & Burlingame 2013). Tuk v ovčím mléce je také bohatým zdrojem vitamínu A a vitamínu E. Vitamin A se vyskytuje pouze ve formě retinolu. Vitamin E se v ovčím mléce nachází ve třech formách. Jedná se o  $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -tokoferol, přičemž  $\alpha$ -tokoferol je jeho nejvíce zastoupenou formou (Revilla et al. 2017).

### 3.1.6 Enzymy v ovčím mléce

Enzymy v ovčím mléce nebyly důkladně studovány, i když jsou některé značně významné v důsledku své prospěšné nebo škodlivé role v mléce. Enzymy se do mléka dostávají různými způsoby. Některé pocházejí z mléčné žlázy, jiné jsou složkami leukocytů, zatímco další vstupují do mléka z krevního oběhu během procesu vylučování mléka (Haenlein & Wendorff 2006).

Důležitým enzymem je enzym lipáza, který působí na mléčný tuk a uvolňuje z acylglycerolů mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Ty jsou pak nositeli hořké chuti, která je sice nežádoucí při přímé konzumaci mléka, ale jsou žádoucí v některých sýrech. Aktivita lipázy je ovlivněna říjí, pozdní fází laktace nebo výskytem mastitidy (Haenlein & Wendorff 2006).

V ovčím mléce se vyskytují i další enzymy. Peroxidáza je ovlivněna různými režimy krmení, říjí, roční dobou nebo mastitidou. Dalším enzymem je kataláza. Její obsah je zvýšený při zánětu vemene neboli mastitidě. Může tak sloužit jako test infekce vemene. Jako ukazatel účinnosti pasterace se používá enzym alkalická fosfatáza, neboť dochází k jeho inaktivaci při účinné pasteraci (Haenlein & Wendorff 2006).

Další enzymy jsou ve vysokém množství obsaženy v kolostru. Jedná se o lysozym, který má důležitou roli v antimikrobiální aktivitě mléka, stejně jako laktoferin. Proteináza a trypsin inhibitor mají významný vliv na stabilitu mléka a kaseinový obsah (Haenlein & Wendorff 2006).

Existuje velký rozdíl v hladinách enzymů mléka mezi jednotlivými druhy (Ramos & Juarez 2003), ale v ovčím mléce se zřejmě vyskytují enzymy v nižším množství než v mléce kravském (Anifantakis 1986).

### **3.1.7 Faktory ovlivňující složení ovčího mléka**

Faktorů, které ovlivňují složení ovčího mléka, je několik. Zatímco složení kravského mléka zůstává v průběhu laktace téměř bez změn, u ovčího mléka je tomu jinak. Ke konci laktace se v ovčím mléce zvyšuje obsah tuku, bílkovin, pevných látek a minerálních látek, zatímco obsah laktózy se snižuje (Brozos et al. 1998, Haenlein 2001). V důsledku toho lze zaznamenat i změnu chuti ovčího mléka ke konci laktace.

Kromě stádia laktace má na složení ovčího mléka vliv mnoho dalších faktorů. Na obsah tuků v mléce má vliv především genetika nebo také složení krmiva. Kromě tuků tyto faktory ovlivňují i ostatní hlavní a vedlejší složky ovčího mléka, přičemž tuky jsou ovlivňovány nejvíce (Coop 1982, IDF 2001).

## **3.2 Plemena chovaných ovcí**

Plemena ovcí lze zařadit k náležitým užitkovým typům. V roce 2005 byly v České republice zjištěny čtyři užitkové typy (Kuchtík et al. 2007). V roce 2018 bylo v České republice chováno 218 915 ks ovcí. 51 % z nich se řadilo k plemeni s kombinovanou užitkovostí, 32,5 % náleželo k masnému plemeni. K dojným plemenům se řadilo 10,5 % chovaných ovcí a k plemeni plodnému pouze 6 % (Ministerstvo zemědělství, 2018).

V roce 2016 bylo vyprodukováno 550 tun potní vlny. Pouze 1597 ovcí bylo ve stejném roce dojeno. Produkce mléka činila 435 tisíc litrů. Také došlo k porážce 11 810 ks ovcí (Ministerstvo zemědělství, 2018).

### **3.2.1 Kombinovaný typ**

Prvním typem, který zaujímá nejvyšší procento chovaných ovcí je kombinovaný užitkový typ. Ovce se chovají v důsledku výtěžnosti kombinace masa a vlny nebo masa, mléka a vlny. Podíl tohoto chovaného typu ovcí zaujímal v roce 2006 asi 54 %. Ke kombinovanému užitkovému typu náleží i největší počet plemen (Kuchtík et al. 2007). Jedná se například o plemena merino, žírné merino, bergschaf, merinolandschaf, cigája, šumavská ovce, valašská ovce, kent–romney nebozwardbles (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.1 Merino

Merino je typické vlnářské plemeno se středním až větším tělesným rámcem. Jeho kombinovaná užitkovost je orientována na vlnu a maso. Plemeno je charakteristické výrazným obrůstem celého těla velmi kvalitní vlnou. Roční výtěžnost vlny u beranů je až 12 kg a u ovcí 5–6,5 kg. Počty jedinců tohoto plemene postupně klesají (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.2 Žírné merino

Plemeno žírné merino bylo vyšlechtěno v Německu. Jedná se o plemeno s velmi dobrou masnou užitkovostí. Chov je náročnější na podmínky ustájení a výživu, proto je vhodnější spíše do nížin než do horských oblastí. Plemeníci jsou geneticky bezrozí. Produkce vlny dosahuje u beranů 9 kg a u ovcí do 6 kg za rok (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.3 Bergschaf

Plemeno bergschaf je odolné a nenáročné plemeno, které se chová především v Itálii, Německu a Rakousku. Má trojstrannou užitkovost – vlna, maso, mléko. Ovce tohoto plemena lze identifikovat podle svislých uší, klabonosu a velkého tělesného rámce (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.4 Merinolandschaf

Merinolandschaf je německé kombinované plemeno, které je rané s větším až velkým tělesným rámcem. Ovce i berani jsou geneticky bezrozí. Roční výtěžnost vlny je u beranů 6–7 kg a u ovcí 4–5 kg. Plemeno je vhodné do nížinných a podhorských oblastí (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.5 Cigája

Cigája se vyskytuje v několika barevných typech. Nejčastěji jako černohubá cigája s černě zbarvenými končetinami a hlavou. Toto plemeno je nenáročné. Jeho kombinovaná užitkovost je orientována na maso, vlnu i mléko. Mléčná produkce plemene cigája je 120 kg mléka za laktaci. Plemeno je vhodné do horských oblastí (Zootechnika 2011c).

### 3.2.1.6 Šumavská ovce

Šumavská ovce, jak je patrné z názvu, se řadí k ovcím podhorských a horských oblastí. Je chovaná především na Šumavě. Jedná se o ovce s trojstrannou užitkovostí na maso, mléko i vlnu. Roční stříž vlny je u beranů 5–6 kg a u ovcí 3–4 kg. Chov v horských oblastech je

umožněn i díky pevné tělesné konstituci ovcí. Produkce mléka se pohybuje okolo 100–170 litrů za laktaci. Důležitým rysem tohoto plemena je skutečnost, že jeho jedinci patří mezi genové rezervy České republiky (Zootechnika 2011c).

#### 3.2.1.7 Valašská ovce

Valašská ovce je jedno z českých nejstarších původních salašnických plemen. Vzniklo křížením několika plemen s původními slovenskými plemeny. Jedná se o plemeno s menším až středním tělesným rámcem s kratšími končetinami. Toto plemeno má také trojstrannou užitkovost na maso, mléko a vlnu. Ovce jsou odolné vůči nepříznivým podmínkám chovu a jsou vhodné do chovu v oblastech podhůří a hor. Mléčná produkce se pohybuje do 150 litrů za laktaci. Jedinci tohoto plemena se řadí mezi genové rezervy České republiky (Zootechnika 2011c).

#### 3.2.1.8 Kent–Romney

Kent–Romney je anglické plemeno s dlouhou vlnou. Vyznačuje se kombinací masné a vlnářské užitkovosti. Jedná se o plemeno se středním až větším tělesným rámcem s krátkou hlavou. Plemeníci i ovce jsou geneticky bezrohé. Zvířata se hodí do drsnějších klimatických podmínek s vyšší relativní vlhkostí. V České republice jsou vhodná k celoročnímu extenzivnímu chovu. Ovce jsou nenáročné na výživu a ustájení. Roční produkce vlny je u beranů do 7,5 kg a u ovcí do 6 kg (Zootechnika 2011c).

#### 3.2.1.9 Zwartbles

Zwartbles je plemeno vyšlechtěné na území Holandska. Jedná se o plemeno s charakteristickým zabarvením. Základní barvou je hnědá, na hlavě se nachází bílá lysinka a bílépunčošky na zadních končetinách a konci ocasu. Obě pohlaví jsou geneticky bezrohá (Zootechnika 2011c).

### 3.2.2 Masný typ

Masný typ je druhým nejčastěji chovaným užitkovým typem ovcí v České republice. Podíl tohoto typu na chovu ovcí činil v roce 2006 38 % chovaných ovcí (Kuchtík et al., 2007). Mezi plemena s masnou užitkovostí lze zařadit ovce suffolk, oxford down, i'le de France, texel, charollais či clun forest (Zootechnika 2011a).

### 3.2.3 Plodný a mléčný (dojný) typ

Dalšími typy ovcí chovaných v České republice jsou plodný a dojný typ. Chov těchto typů není v České republice příliš obvyklý, jelikož se zde chovají ovce spíše pro maso než pro mléko. Trh s výrobky z ovčího mléka není příliš rozsáhlý. Proto tyto typy chovaných ovcí zaujímaly v roce 2006 pouze 8 % z celkového počtu chovaných ovcí v České republice (Kuchtík et al. 2007). Mezi plodná plemena patří ovce romanovská, finská, východofríská nebo olkulská (Zootechnika, 2011b).

Ve světě se dojí přibližně 10 milionů kusů ovcí. Roční produkce ovčího mléka dosahuje hodnot kolem 7,8 milionů tun (Štolc & Nohejlová, 2006).

#### 3.2.3.1 Romanovská ovce

Romanovská ovce pochází z Ruska. Patří mezi plemena plodná. Dosahuje plodnosti 200 až 300 %. Ve vrhu často bývají 2–4 jehňata. Plemeno se vyznačuje vynikající mléčnou užitkovostí. Jedná se o plemeno se středním tělesným rámcem, které je charakteristické svým klabonosem a bezrohostí (Zootechnika 2011b). Mléčná užitkovost těchto ovcí se pohybuje kolem 150 litrů za 100 dní laktace (SCHOK, 2015a).

#### 3.2.3.2 Finská ovce

Finská ovce je plemenem se středním tělesným rámcem. Plodnost se pohybuje okolo 200 % (Zootechnika 2011b).

#### 3.2.3.3 Východofríská ovce

Východofríská ovce je dalším plemenem patřícím mezi plemena s mléčnou užitkovostí. Byla vyšlechtěna na hranicích mezi Holandskem a Německem v oblasti východního Fríska, odtud pochází její název. Jedná se o plemeno s velkým tělesným rámcem, které má delší nohy a užší hrudník. Obě pohlaví jsou geneticky bezrohá (Štolc & Nohejlová, 2006). Jde o plemeno dojně s trojstrannou užitkovostí, mléčnou, masnou a vlněnou. Průměrná roční dojivost tohoto plemene někdy přesahuje i 1000 kg mléka za laktaci, v průměru je to však kolem 600 kg mléka za laktaci. Tučnost mléka východofríské ovce je až 7 %. Plodnost se pohybuje okolo 200 %. Roční produkce vlny se pohybuje do 5 kg u ovcí a 7 kg u beranů. V České republice se toto plemeno chová především v bílých odstínech barvy. Některé chovy mají také zbarvení do černa. Ve světě je východofríská ovce značně rozšířena. Byla používána při šlechtění řady mléčných plemen ovcí. V České republice docházelo k zušlechťování valašských a šumavských ovcí tímto plemenem (Zootechnika 2011b).

#### 3.2.3.4 Olkuská ovce

Olkuská ovce pochází z Polska. K vyšlechtění došlo křížením východofríské ovce s plemenem kent. Řadí se mezi plodná plemena s plodností okolo 200 % v našich podmínkách. Jedná se o plemeno se středním až větším tělesným rámcem. Dosahuje také výborné mléčnosti (Zootechnika 2011b).

#### 3.2.3.5 Lacaune

Lacaune je nejrozšířenější mléčné plemeno ovcí, které pochází z Francie. Má kombinovanou užitkovost na maso a mléko. Dělí se na masný a mléčný typ. K jeho vyšlechtění bylo použito pyrenejských ovcí společně s plemeny lauraguais, rutcheinos a ségala. Následně bylo zušlechtováno plemeny merino a southdown. Jedná se o bezrohé plemeno se středním až větším tělesným rámcem, harmonické tělesné stavby, s korektním postojem končetin. Hlava je klabonosá a porostlá pouze krycí srstí. Plemeno se vyznačuje vysokou mléčnou produkcí. Průměrná délka laktace se pohybuje v rozmezí 6 až 8 měsíců. Za tuto dobu je nadojeno průměrně 250 až 300 litrů mléka. Některé ovce mohou dosáhnout produkce až 700 litrů mléka za laktaci (Náš chov 2015).

V dnešní době také dochází k chovu zájmových plemen, jako jsou ovce jakob, jurská, kamerunská, kerry hill, ouessant nebo vřesová ovce. Tato plemena slouží spíše jako atrakce pro děti nebo pro potěšení člověka (Kuchčík et al. 2007).

### 3.3 Výrobky z ovčího mléka

Ovčí mléko bylo využíváno již od počátku domestikace ovcí člověkem. Jelikož ovčí mléko obsahuje dvakrát více pevných částic než mléko kravské a kozí, spočívá jeho hlavní potenciál ve výrobě mléčných produktů, jako jsou například jogurty nebo sýry (Haenlein & Wendorff 2006). V Jižní Americe jsou produkty z ovčího mléka vyráběné ručně tradičním způsobem s použitím syrového ovčího mléka bez přidání mlékařské kultury. Tento způsob výroby odlišuje jihoamerické produkty od ostatních výrobků z ovčího mléka jejich typickou chutí a vůní. K vytvoření mléčných produktů dochází pomocí autochtonních mikroorganismů, které jsou v ovčím mléce obsažené (Medina et al. 2011).

Ke konzumaci syrového ovčího mléka dochází pouze výjimečně. Spotřeba syrového mléka je pro konzumenta skutečné mikrobiologické riziko kvůli možné přítomnosti nežádoucích patogenních bakterií (Hickey et al. 2015). V Jižní Americe se spotřeba syrového ovčího mléka nedoporučuje vzhledem k jeho potenciálu šíření chorob přenášených potravinami a výskytu zoonóz v důsledku kontaminace syrového ovčího mléka.

V zemích, kde je horko a nemají takové možnosti chlazení mléka, se vyrábí fermentované ovčí mléko. Toto mléko obsahuje mléčnou kyselinu, která brání v růstu patogenním mikroorganismům, které mohou způsobit mikrobiální zkázu mléka (Mills 1989). Kefír je fermentovaný nápoj z ovčího mléka, který je vyroben pomocí zaočkování kefírovými zrny, které obsahují bakterie mléčného kvašení (Wszolek et al. 2001). Během fermentace bakterie mléčného kvašení produkují mléčnou kyselinu, zatímco kvasinky produkují alkohol a oxid uhličitý (Bylund 1995). Kefír je velmi populární v Rusku a balkánských zemích, kde je nazýván „mléčným šampaňským“ (Mills 1989).

Vzhledem k vysokému obsahu tuku v ovčím mléce, se z něj vyrábí i máslo. Malé množství ovčího másla je vyráběno v Kanadě a Evropě (Gasser 1997, Mills 1989). V Řecku vzniká 4000 tun ovčího másla ze syrového mléka jako vedlejší produkt při výrobě sýrů (Mills 1989). Ovčí máslo neobsahuje tak vysoké množství karotenoidů jako ovčí mléko, a proto má mnohem světlejší barvu. Je téměř bílé. Jeho chuť závisí na účinnosti pasterace, tedy na snížení lipázové aktivity ve smetaně (Haenlein & Wendorff 2006).

Dalším produktem vyráběným z ovčího mléka je ghee. Jedná se o olejovitý máslový produkt, který je vyráběný z nesoleného ovčího másla. Vyrábí se v Indii a v arabských zemích. Rozdíl mezi máslem a ghee je nejen v konzistenci, ale také v obsahu tuku. Obsah tuku v ghee je výrazně vyšší. Pohybuje se v rozmezí mezi 98,0 a 99,5 % (Haenlein & Wendorff 2006).

Netradičním výrobkem, který se již na trhu objevil, je zmrzlina z ovčího mléka. Při obsahu 10 % a více tuku ve zmrzlině však byla mezi spotřebiteli v této mražené pochoutce zaznamenána atypická příchuť, někdy také jimi pojmenovaná jako skopová příchuť (O’Kane & Wilbey 1990). Proto bylo navrženo, aby se na trh nejprve uváděly zmrzliny, které obsahují nižší procento tuku, aby si spotřebitelé na specifickou chuť ovčí zmrzliny přivykli. Nejoblíbenější výrobek obsahoval 9 % tuku a 6 % bílkovin (Wilbey et al. 1995).

Jogurt je nejznámějším a nejoblíbenějším mléčným výrobkem, do kterého jsou přidávány bakteriální kultury. Nejvyšší spotřeby jogurtů dosahují země kolem Středozevního moře, v Asii a ve střední Evropě (Bylund 1995). K vysoké konzumaci jogurtů dochází také v Řecku, kde popularita jogurtu spočívá v hladké a pevné textuře, ale i ve zvláštní chuťové

charakteristice (Kehagias et al. 1986). Tyto země většinou chovají větší populace mléčných ovcí, a tak jsou dostatečně zásobované ovčím mlékem. Ovčí mléko obsahuje ideální počet pevných látek pro výrobu jogurtu, takže není nutná zdlouhavá úprava mléka. Toto mléko by mělo být pasterizováno při teplotě 91 °C po dobu 30 sekund (Kisza et al. 1993) nebo 82 °C po dobu 30 minut (Wendorff 2001a). Mléko pro výrobu jogurtu je následně zahřáto na vysokou teplotu, aby došlo ke zničení původních bakterií, ale také k denuraci syrovátkových bílkovin, laktoglobulinu a laktalbuminu, pro hladší strukturu jogurtu (Kosikowski & Mistry 1997). Po ochlazení na 42 až 44 °C se mlékoinkuluje kulturami *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Mléčná směs se nadále nechá kvasit při teplotě 44 °C dokud pH nedosáhne hodnoty 4,6. Jogurt se následně ochladí a skladuje při teplotě 4 °C až do spotřebování. Do jogurtů také mohou být přidány probiotické kultury *Lactobacillus acidophilus* nebo *Bifidobacterium*, které v jogurtu zlepšují jeho nutriční vlastnosti. Bylo také zjištěno, že ovčí jogurt má vyšší biologickou hodnotu a je lépe stravitelný než jogurt z kravského mléka (Juarez & Ramos 1984). S největší pravděpodobností k tomu dochází v důsledku vyšší aktivity laktázy v ovčím mléce, což vede k tomu, že ovčí jogurt má nižší obsah laktózy (Kehagias & Dalles 1984).

Ovčí mléko je bohatým zdrojem živin a používá se především pro výrobu sýrů. Vysoký obsah tuhých látek v ovčím mléce přispívá k vysokému výnosu sýra. Mezi nejznámější ovčí sýry patří Pecorino Romano, Roquefort, Manchego a Feta. Některé sýry se vyrábějí přímo ze syrového mléka, na výrobu jiných je použito mlékotepelně ošetřené nebo pasterizované. Mezi ovčí sýry vyráběné na Slovensku patří kaškaval, oštiepok, hrudkový ovčí sýr, merino, parenica, korbáčikové nitě, brynza a další.

Na Slovensku se z ovčího mléka kromě tradičních sýrů vyrábí nápoj zvaný žinčica. Jedná se o nápoj podobný kefíru, tedy kysaný mléčný nápoj. Vzniká jako vedlejší produkt při výrobě brynzy. Vyrábí se několik druhů. Existuje slaná nebo kyselá žinčice. Je to nápoj, který je velmi bohatý na mikroorganismy.



## 3.4 Metody stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčeho mléka

### 3.4.1 Chloridové ionty

Chloridové ionty v mléce se stanoví argentometrickou titrací. Jedná se o metodu odměrné analýzy, která používá dusičnan stříbrný  $\text{AgNO}_3$  jako odměrný roztok. Kromě chloridových iontů se pomocí této analýzy dají stanovit také ionty bromu, jodu nebo kyanidu ve vodě. Bodu ekvivalence, tj. stavu, kdy je ukončena chemická reakce a látka již kvantitativně zreagovala s přidaným činidlem, je dosaženo po trvalém zbarvení kapaliny do červenohnědé barvy.

Druhou nejběžnější testovací metodou pro detekci chloridových iontů v mléce je potenciometrická titrace. Stejně jako při argentometrické titraci je používán standardní roztok dusičnanu stříbrného ke stanovení koncentrace iontů chloru, které se následně vypočítají ze spotřeby standardního roztoku dusičnanu stříbrného. Rozdílný je pouze koncový bod titrace. Potenciometrická titrace určuje titrační koncový bod špičkou potenciálu, kdežto titrace argentometrická určuje konec titrace vznikem červenohnědé zbarvení. Ve srovnání obou titrací je potenciometrická titrace citlivější a objektivnější (Xingguang et al. 2018).

Další metodou, kterou lze stanovit chloridové ionty v mléce, je metoda pulzní amperometrické detekce (PAD). Obecně je založena na tvaru trojitého potenciálu a lze s ní získat reprodukovatelné signály (Guedes et al. 2015). V této metodě by měla být elektroda dostatečně pulzována, aby došlo k odstranění a vyčištění adsorbovaných látek. Hughes & Johnson (1981) poprvé popsali použití pulzní amperometrické detekce s platinovými elektrodami pro detekci sacharidů po separaci kapalinovou chromatografií. Tento postup byl vyvinut a široce používán jako detekční technika pro různé látky, včetně sacharidů (Rohrer et al. 2013, Nguyen et al. 2015, Jamaluddiin Ahmed & Smith 2015), kyanidy (Wu et al. 2015), aminy a sloučeniny organoidů (Lee & Yeo, 2001). Tuto metodu lze kombinovat s analýzou průtoku (FI). FI je automatizovaná analytická metoda se širokým využitím v mnoha oblastech (Nabi et al. 1996, Peng et al. 2015). Výhody této metody jsou vysoká účinnost a jednoduchost (Chetty & Surendra 2016, Yan et al. 2016). Principem této metody je udržování vzorku za přísně kontrolovaných podmínek a jeho disperze v činidlo, které je unášeno proudem. Pokud se nemění způsob vstřikování roztoku vzorku, rychlost proudění v potrubí, teplota a proces disperze, může být FI analýzou stanovena koncentrace látek podle sestavené pracovní křivky pomocí standardního roztoku (Jolley et al. 1997). Přesnost metody byla kontrolována pomocí kapalinové chromatografie, kde byla vykázána dobrá shoda s výsledky (Xingguang et al. 2018).

Kromě výše popsaných metod je k dispozici řada dalších metod pro detekci chloridových iontů. Například Noguchi et al. (2009) uvádí iontovou chromatografii pro současné stanovení iontů fluoru ( $F^-$ ), iontů chloru ( $Cl^-$ ) a iontů bromu ( $Br^-$ ) v cementu. Meze detekce pro  $F^-$ ,  $Cl^-$  a  $Br^-$  jsou 0,2, 0,3 a 0,5 mg/kg; tyto metody však vyžadují předběžné zpracování vzorku a složité postupy, což snižuje jejich vhodnost pro automatické testování (Xingguang et al. 2018).

### 3.4.2 Draslík, sodík, vápník

Ke stanovení draslíku, sodíku a vápníku často dochází pomocí atomové absorpční spektrometrie. Jedná se o optickou analytickou metodu, která slouží pro kvantitativní stanovení více než 60 prvků. Volné atomy látek v plynném stavu jsou schopny absorbovat záření takové vlnové délky, kterou samy emitují. Zdrojem potřebného záření je nejčastěji výbojka s dutou katodou, která poskytuje emisní atomové spektrum daného kovu. Často se využívá plamenová absorpční spektrometrie, kde je kapalný vzorek nasáván přes zmlžovač a zmlžovací komoru do plamene. Tam dochází k vypaření aerosolu vzorku.

Další metodou, jak stanovit sodík, draslík a vápník v mléce je mineralizace daného vzorku s následným změřením koncentrace prvků na hmotnostním spektrometru s indukčně vázanou plazmou (ICP-MS) (Fantuz et al. 2012).

Vápník v mléce lze stanovit i pomocí komplexometrické titrace. Stanovovaný kation kovu reaguje s činidlem, kterým je nejčastěji Chelaton 3. Touto reakcí pak vzniká málo disociovaný komplex, který je ve vodě rozpustný. Bodu ekvivalence je dosaženo pomocí metalochromních indikátorů, které s kovovým kationtem vytvoří slabý barevný komplex. Spotřeba Chelatonu 3 je přepočtena na množství vápníku ve vzorku.

### 3.4.3 Bílkovinné frakce

Stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce je prováděno metodou kapalinové chromatografie.

Mezi další metody stanovení bílkovinných frakcí v mléce patří kapilární elektroforéza. Tato metoda je rychlá, má vysoké rozlišení a nízké provozní náklady (Omar et al. 2016). Došlo k vývoji jednoduchých, rychlých a automatizovaných metod s vynikající separací jednotlivých mléčných proteinů na základě jejich poměru náboje k hmotnosti. Tento poměr umožňuje jejich identifikaci a kvantifikaci (Recio et al. 1997).

## 4 Materiál a metody

Cílem práce je stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího mléka. Jedná se o stanovení množství chloridů, sodíku, draslíku, vápníku a jednotlivých bílkovinných frakcí v ovčím mléce. Pro stanovení vybraných ukazatelů kvality ovčího mléka bylo použito vzorků z dvou různých ovčích farem, které se nachází v České republice. Jedná se o farmy Šonov a Krmelín, přičemž každá se nachází na jiném konci České republiky.

### 4.1 Farma Krmelín

Farma Krmelín se nachází v Moravskoslezském kraji. Jedná se o obec, která je situována asi 15 kilometrů jižně od Ostravy. Jde zde o konvenční chov nejen ovcí, ale také koz. Farma patří manželům Michaele a Lukáši Hlubcovým, kteří jsou oba veterináři. Know how své farmy mají založené na principech francouzských farem s dlouhodobou chovatelskou tradicí. Na farmě je chována ovce plemene lacaune (obrázek 1). Své výrobky prodávají pod značkou Bon Lait, která je certifikována IFS – mezinárodním certifikátem kvality a bezpečnosti potravin. Výrobky Bon Lait jsou ovčí a kozí jogurty (obrázek 2), čerstvé kozí mléko, sýr podobný sýru feta, 100% kozí kolostrum, mléčná (sušená) výživa od 1 roku a další. Ve výrobě také mají kozí a ovčí jogurty zrající v kelímky, které jsou také prodávány pod značkou Bon Lait. Lze je nalézt v prodeji v sítích supermarketů Albert a Globus a ve vybraných prodejnách zdravé výživy. Výrobky farmy Krmelín jsou také prodávány v sítích prodejen Billa pod značkou Billa Premium (Bon Lait 2019).



Obrázek 1. Ovce z farmy Krmelín – plemeno lacaune.[1]



Obrázek 2. Výrobky z farmy Krmelín. [2]

## 4.2 Farma Šonov

Druhou farmou, je farma Šonov, která se nachází v Královéhradeckém kraji, tudíž ve východních Čechách. Tuto farmu lze nalézt v obci Šonov u Broumova, v blízkosti Javořích hor, které se nacházejí v chráněné krajinné oblasti Broumovsko. Jedná se o ekologický chov východofríských ovcí. Farma byla založena v roce 1995 manželi Monikou a Vladimírem Menčíkovými. Na obrázku 3 lze vidět východofríské ovce, které na farmě chovají. Z počátečních 28 východofríských ovcí se stádo rozrostlo na 200 dojných ovcí, 100 jehnic a 200 jehňat. Kromě chovu ovcí se majitelé farmy zajímají také o chov dojných koz, ale také krav a koní. Jako zajímavost chovají také skotský náhorní skot. Obhospodařují cca 200 ha luk, pastvin a polí (Farma Šonov, 2019).

Mléko východofríských ovcí je zpracováváno na čerstvé, polotvrdé a dlouhozrající sýry, jogurty, nápoje, kefiry (obrázek 4), bryzdu, ale i tvaroh. Denně je zpracováváno přibližně 200 litrů ovčího mléka. Kozí a kravské mléko není produkováno v tak vysokém množství a zpracovává se na tvaroh, jogurty, pasterované mléko a kefir. Všechny produkty jsou kontrolovány kontrolní organizací KEZ, neboli kontrolou ekologického zemědělství, která produktům uděluje značku BIO. Tyto produkty lze zakoupit přímo na farmě od jara do podzimu, v obchodech zdravé výživy a ve farmářských obchodech v okolí, to znamená ve Verněřovicích, v Náchodě, v Novém Městě nad Metují, ale také v Hradci Králové, v Trutnově a v Praze (Farma Šonov, 2019).

Farma Šonov užívá značky BIO a majitelé deklarují, že jejich zvířata se od jara do podzima pasou na čerstvé trávě a v zimě je krmí senem, senáží a obilím, které jsou výhradně z jejich luk a polí. Ve výrobě BIO výrobků, především pak sýrů, používají jen mléko ze své farmy, kulturu a syřidlo. Jako jediný konzervant slouží sůl. Do kořeněných sýrů je navíc přidáváno koření, které jeod roku 2018 také v kvalitě BIO. Do jogurtů je přidávána pouze jogurtová kultura a ovoce, které je také v kvalitě BIO (Farma Šonov, 2019).



Obrázek 3. Východofríská ovce z farmy Šonov. [3]



Obrázek 4. Výrobky farmy Šonov. [4]

Celkem bylo odebráno 20 vzorků mléka. Odběr vzorků mléka zajišťoval Výzkumný ústav mlékárenský. Z konvenčního chovu v Krmelíně bylo odebráno 12 vzorků ovčího mléka a z ekologického chovu v Šonově bylo odebráno 8 vzorků. Vzorky byly odebrány do plastových vzorkovnic. Dále byly vzorky roztrženy podle počtu somatických buněk do tří skupin – nejnižší počet somatických buněk (do  $500 \times 10^3$ ), střední počet somatických buněk ( $500\text{--}1000 \times 10^3$ ) a nejvyšší počet somatických buněk (nad  $1000 \times 10^3$ ). Dále byly odebrány vzorky bazénové. Jako konzervační prostředek pro udržení kvality odebraného syrového mléka byly použity tablety Broad Spectrum Microtabs® II. Po samotném odběru bylo mléko zchlazeno na teplotu 4 °C a transportováno do laboratoře, kde bylo zmrazeno na teplotu -40 °C. Při této teplotě bylo mléko uchováváno do vlastní analýzy, aby se zabránilo mikrobiální či jiné zkáze.

Stanovení jednotlivých ukazatelů kvality ovčího mléka probíhalo dle normy ČSN 57 0530, Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků.

### 4.3 Použité chemikálie

- Kyselina dusičná – 25% roztok, Lachner, Česká republika, p.a.
- Thiokyanatan amonný – 0,1N roztok, Lachner, Česká republika, p.a.
- Dusičnan stříbrný – 0,1N roztok, Lachner, Česká republika, p.a.
- Dodekahydrát síranu amonno-železitého – roztok nasycený za studena, Lachner, Česká republika, p.a.
- Kyselina dusičná – 67%, Analpure, Analytika, Česká republika
- Peroxid vodíku – min. 30%, Analytika, Česká republika
- Demineralizovaná voda
- Referenční materiál – ERM-BD 151 Skimmed milk powder, No. 0566, Belgie
- Kyselina dusičná – 1,5% roztok, Lachner, Česká republika, p.a.
- Referenční materiál pro Na, Ca, K –  $1,000 \pm 0,002$  g/l, Atasol, Analytika, Česká republika, p.a.
- Acetonitril — CHROMASOLV® Plus pro HPLC, Sigma-Aldrich, Česká republika, čistota  $\geq 99,9$  %,
- Citran sodný, Sigma-Aldrich, Česká republika, čistota  $\geq 99$  %,
- Deionizovaná voda (odpor 18,2 M $\Omega$ )

- Dithiotreitol (DIT) – BioUltra,  $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$ , Sigma-Aldrich, Česká republika, čistota p.a.,
- Guanidin hydrochlorid, Sigma-Aldrich, Česká republika, čistota  $\geq 99,5 \%$

#### 4.4 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Kapátka
- Automatické pipety – 100–1000  $\mu\text{l}$  a 10–100  $\mu\text{l}$ , Soccorex ACURA 825 100, Švýcarsko
- Mineralizační tlakové nádoby, Berghof, Německo
- Teflonové váženky
- Automatické pipety - 100–1000  $\mu\text{l}$ , thermo Scientific, Česká republika
- Jednorázové injekční stříkačky Luer-Slip, objem 2 ml, Fischer Scientific, Německo
- PVDF mikrofilmy s porozitou 0,45  $\mu\text{m}$ , Chromservis, Česká republika
- HPLC vialky, objem 2 ml, VT0098M-1232, Německo

#### 4.5 Použité přístroje

- Analytické váhy PLJ 300-3CM, Kern& Sohn, Německo
- Filtrační přístroj pro demineralizaci vody, Millipore, Německo
- Lednice
- Mrazicí box
- AAS (Varian, SpectraAA 110 se systémem SIPS, Austrálie
- AAS lampy pro stanovení draslíku a sodíku, Photron Lamps, Austrálie
- AAS lampa pro stanovení vápníku, Photron Lamps, Austrálie
- Analytické váhy, Kern&Sohn, Německo
- Lyofilizátor LYOVAC GT2, Gea Lyophil, Německo
- Mineralizační pec, MWS-3+Speedwave, Berghof, Německo
- Topná deska s regulátorem, JR3 TD02, Altec, Česká republika
- Centrifuga 5810R, Eppendorf, Německo
- Kapalinový chromatograf e2695 s PDA detektorem 996, Waters Corporation, USA
- Vortex



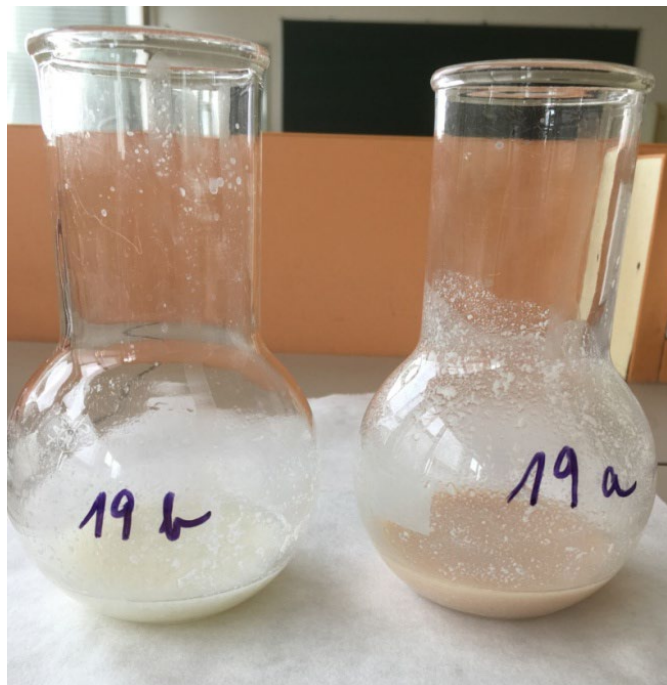
## 4.6 Stanovení chloridových iontů v ovčím mléce

### 4.6.1 Postup stanovení chloridových iontů

Chloridy byly stanoveny po přidavku kyseliny dusičné do mléka. Následně byly vysráženy přebytkem roztoku 0,1 N dusičnanu stříbrného a k zpětné titraci se použil 0,1 N roztok thiokyanatanu amonného. Výsledek je vyjádřen v mg chloridů na 100 g mléka.

Do titrační baňky s objemem 100 ml bylo odváženo přibližně 10 gramů mléka a hodnota se přesně zaznamenala. Pak se k mléku přidalo 5 ml 25% kyseliny dusičné a 1 ml síranu železitoamonného. Po promíchání se přidalo 10 ml roztoku 0,1 N dusičnanu stříbrného a za stálého míchání se titrovalo roztokem 0,1 N rhodanidu amonného, až do trvalého červenohnědého zbarvení kapaliny. Průběh titrace má být rychlý, aby byl přechod barvy dostatečně ostrý. Připravené vzorky je třeba po přidání chloridu stříbrného co nejdříve titrovat. Chlorid stříbrný na světle šedne, proto není možné připravit si více vzorků předem a titrovat pak vše najednou.

Každý vzorek byl připravován a titrován ve dvou opakováních. Rozdíl barevného zbarvení mléka před a po argentometrické titraci lze vidět na obrázku číslo 5.



Obrázek 5. Vzorek mléka před a po argentometrické titraci. [5]



#### 4.6.2 Výpočet stanovení chloridových iontů

Obsah chloridového iontu v mg na 100 g mléka se následovně vypočte podle vzorce:

$$x = \frac{(10 - b) \cdot 3,546 \cdot 100}{a}$$

$x$  ..... obsah chloridového iontu [mg/100 g mléka]

$a$  ..... navážka mléka [g]

$b$  ..... množství 0,1N thiokyanatanu amonného [ml] spotřebované při zpětné titraci vzorku

#### 4.7 Stanovení sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce

Ke stanovení minerálních prvků v ovčím mléce dochází metodou atomové absorpční spektrometrie. Samotné vzorky mléka bylo nutno před samotnou analýzou pomocí atomového absorpčního spektrometru náležitě upravit. Vzorek mléka byl nejprve lyofilizován, následně homogenizován, zmineralizován v mikrovlnné peci, odpařen, naředěn a až poté měřen na atomovém absorpčním spektrometru.

##### 4.7.1 Mineralizace v mikrovlnné peci

Cca 10 ml syrového ovčího mléka bylo přelito do kádinky a přendáno do lyofilizátoru. Následně se sušené mléko pečlivě zhomogenizovalo rozmačkáním na suchý, nehrudkovatý a strukturně stejný prášek.

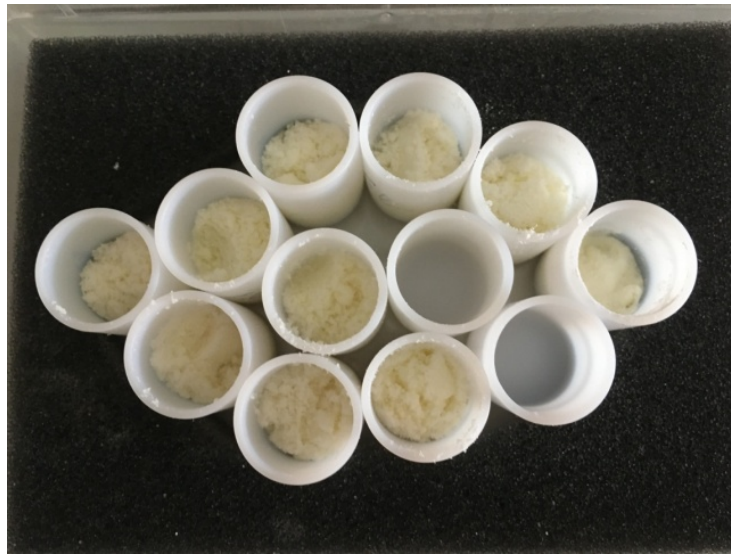
Pro mineralizaci bylo třeba odebrat vzorek ideálně o hmotnosti mezi 0,280 – 0,310 gramu do teflonové váženky (obrázek 6). Každý vzorek byl navážen ve třech paralelních opakováních. Současně se vzorky mléka byly analyzovány i dva slepé vzorky a jeden vzorek s referenčním materiálem.

Po navážení vzorků se do teflonových mineralizačních tlakových nádob přidalo automatickým dávkovačem 2 ml 67% kyseliny dusičné a 3 ml peroxidu vodíku s koncentrací minimálně 30 %. Po tomto smíchání chemikálií se do patry vsypal vzorek naváženého sušeného mléka a přidala se i samotná váženka. Patry byly ponechány přibližně 30–60 minut reagovat při pokojové teplotě. Následně byly bezpečně uzavřeny a

mineralizovány

v mikrovlnné peci Berghof po dobu 60 minut dle standardního operačního postupu vypracovaného přímo pro mléko. Mikrovlnnou pec Berghof MWS 3+ speedwave lze vidět na obrázku číslo 7.

Po dokončení mineralizace a vychladnutí patron byly vzorky kvantitativně převedeny do skleněných kádinek. Teflonové tlakové nádoby byly důkladně vypláchnuty demineralizovanou vodou.



Obrázek 6. Váženky se sušeným mlékem, referenčním materiálem a dva slepé vzorky. [6]



Obrázek 7. Mikrovlnná pec Berghof MWS 3+ speedwave. [7]

#### 4.7.2 Postup odpaření vzorků

Vzorky, které byly kvantitativně převedeny z teflonových patron do skleněných kádinek, bylo nutné odpařit na topné desce s regulátorem. Kádinky připravené k odpaření na topné desce lze vidět na obrázku číslo 8. Deska byla vyhřáta na 120 °C a odpaření trvalo přibližně 2 hodiny. Záleží na naředění vzorku demineralizovanou vodou při kvantitativním převádění vzorku z patron do skleněných kádinek. Odpaření se provádělo téměř do suchého zbytku, kdy na dně kádinky zůstane již pouze lehce viskózní kapka vzorku. Ta se následně naředila 1,5% kyselinou dusičnou na požadovaný objem a kvantitativně se převedla do skleněné zkumavky. Vzorky byly uloženy před další přípravou do lednice s teplotou 4 °C. Vzorky připravené k uložení lze vidět na obrázku číslo 9.



Obrázek 8. Topná deska se vzorky k odpaření. [8]



Obrázek 9. Vzorky připravené k naředění. [9]

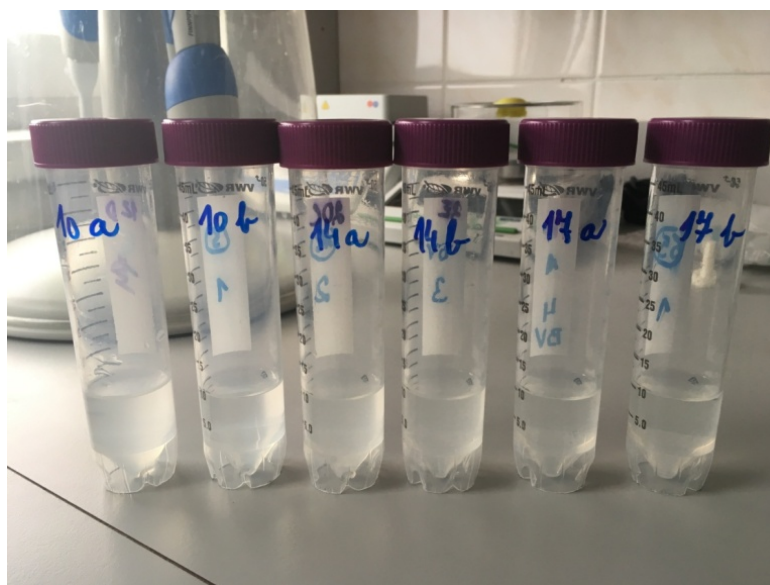
### **4.7.3 Postup stanovení vybraných minerálních prvků (sodík, draslík, vápník) pomocí atomové absorpční spektrometrie**

Před stanovením sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce bylo nutné vzorky, které byly připravené výše popsáním způsobem, naředit, jelikož obsahovaly větší množství těchto prvků. Vzorky připravené k měření sodíku a draslíku bylo třeba naředit stokrát, kdežto vzorky pro měření vápníku třicetkrát. Vzorky byly naředěny 1,5% kyselinou dusičnou. Pro kontrolu správného měření množství prvků ve vzorku se použily standardy pro jednotlivé prvky, sodík, draslík a vápník. Měření obsahu jednotlivých minerálních prvků v ovčím mléce bylo provedeno pomocí atomového absorpčního spektrometru. Naměřené hodnoty byly následně přepočteny a vyjádřeny v  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  čerstvého mléka.

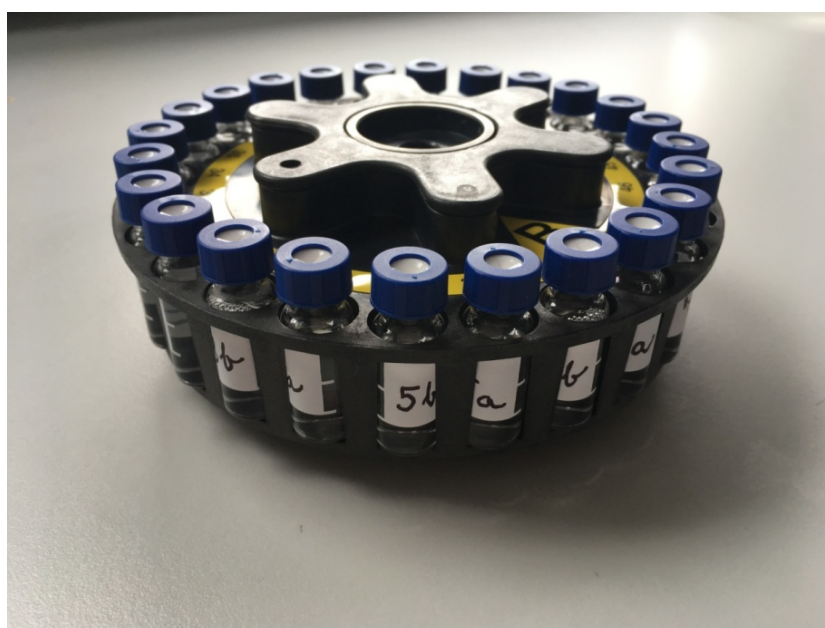
## **4.8 Stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce**

### **4.8.1 Postup stanovení bílkovinných frakcí**

Mléko skladované v mrazicím boxu bylo vyndáno a rozmrazeno. Následně bylo odebráno 10 ml syrového nehomogenizovaného mléka, které se odstředilo na centrifuze rychlostí 12 000 otáček za minutu při teplotě 20 °C po dobu 10 minut. Odstředěné mléko bylo na 5 minut uloženo do mrazicího boxu s teplotou -20 °C, kvůli odstranění nechtěného tuku, který by během analýzy zanášel kolonu a mohl by interferovat při stanovení bílkovin. Po uplynutí stanovené doby došlo ke slití mléčného séra. Bylo odebráno 0,5 ml supernatanu, ke kterému se přidaly 2 ml pufru a 7,5 ml neionizované vody. Pufr obsahoval 6 M guanidin-HCl, 20 mM dithiothreitol a 5 mM citran trisodný. Následně byl vzorek po krátkou dobu vortexován a ponechán 1 hodinu při pokojové teplotě se inkubovat. Inkubace vzorků je vidět na obrázku číslo 10. Po hodinové inkubaci byl znovu krátce vortexován. Následně byl vzorek přefiltrován stříkačkovým membránovým filtrem s průměrem pórů 0,45  $\mu\text{m}$  do vialky. Na filtraci každého vzorku bylo nutné použít nový filtr, neboť část vzorku se na filtru zachytí. Metoda pravděpodobně nejen z těchto důvodů neposkytuje 100% výtěžnost. Roztok ve vialce byl dále analyzován na kapalinovém chromatografu. Všechny vzorky byly připraveny ve dvou opakováních.



Obrázek 10. Inkubující se vzorky. [10]



Obrázek 11. Vzorky připravené k analýze HPLC. [11]

#### 4.8.2 Chromatografické podmínky

Analytická kolona: Vydac 214TP C4 5 $\mu$ m (průměr 2,1 mm, délka 150 mm), Grace Discovery Sciences, USA

Složení mobilní fáze A – H<sub>2</sub>O: acetonitril (10:90), (v/v) s podílem 0,1 % TFA

Složení mobilní fáze B – H<sub>2</sub>O: acetonitril (90:10), (v/v) s podílem 0,1 % TFA

Průtok mobilní fáze: 0,25 ml.min<sup>-1</sup>

Typ eluce: gradientová

Teplota chromatografické kolony: 40 °C

Objem analyzovaného vzorku: 10  $\mu$ l

Doba analýzy: 71 minut

Podmínky detekce: detektor diodového pole (PDA), vlnová délka  $\lambda = 218$  nm

Schéma gradientové eluce je uvedeno v tabulce číslo 1.

Tabulka 1. Podmínky gradientové eluce

Čas [min]	Průtok [ml.min <sup>-1</sup> ]	% A	% B	Typ křivky
0	0,25	78,5	21,5	6
3	0,25	73,5	26,5	6
6	0,25	71,4	28,5	6
16	0,25	69,4	30,6	6
27	0,25	63,9	36,1	6
31	0,25	63,9	36,1	2
39	0,25	62,2	37,8	6
52	0,25	58,7	41,3	11
63	0,25	56,7	43,3	11
66	0,25	56,7	43,3	6
69	0,25	78,5	21,5	6
71	0,25	78,5	21,5	6

Dle analyzovaných standardů kaseinu a syrovátkových bílkovin byly vytvořeny kalibrační křivky. Výše uvedené standardy byly rozpuštěny v připraveném pufru. Kalibrační křivky měly ve zvoleném koncentračním rozsahu lineární průběh. Zvolený koncentrační

rozsah odpovídal očekávaným hodnotám sledovaných analyz v ovčím mléce (korelační koeficient  $R = 0,972 - 0,999$ ). Nejnižší hodnota korelačního koeficientu byla sledována u kalibrační závislosti  $\kappa$ -kaseinu. V tabulce číslo 2 lze vidět meze detekce a meze stanovitelnosti odpovídající jednotlivým bílkovinným frakcím.

Tabulka 2. Meze detekce a meze stanovitelnosti sledovaných analytů.

<b>Bílkovinná frakce</b>	<b>LOD [mg/ml]</b>	<b>LOQ [mg/ml]</b>
$\alpha$ S1-kasein	0,02	0,07
$\alpha$ S2-kasein	0,05	0,17
$\beta$ -kasein	0,05	0,17
$\kappa$ -kasein	0,02	0,07

## 4.9 Statistické vyhodnocení

Základní statistické charakteristiky, jako průměr či směrodatné odchylky, byly vypočteny pomocí programu Microsoft Office Excel 2007. Pro další statistické zhodnocení byl použit statistický program Statgraphics centurion XV. Byly sledovány změny v obsahu chloridů, sodíku, draslíku, vápníku a bílkovinných frakcí v ovčím mléce v závislosti na počtu somatických buněk v mléce a průběhu laktačního období. Pro statistické hodnocení obsahu sledovaných analytů v závislosti na obou faktorech v ovčím mléce byly použity pouze soubory výsledků získané pro vzorky ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín, kde došlo celkem ke třem odběrům. Pro porovnání mléka obou farem, Krmelína i Šonova, byly použity pouze bazénové vzorky.

Pro statistické vyhodnocení vzorků byla použita analýza rozptylu ANOVA. Za nulovou hypotézu bylo považováno tvrzení, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi obsahem daných látek v ovčím mléce a průběhem laktace či počtem somatických buněk. Jinými slovy, že počet somatických buněk v mléce ani stadium laktace nemá vliv na obsah stanovených látek v ovčím mléce. Zvolenou hladinou pravděpodobnosti byla  $\alpha = 0,05$ . Další použitou analýzou byl test více rozsahů a krabicový graf. Příklady výstupů statistického vyhodnocení jsou uvedeny v příloze 1-3.

## 5 Výsledky

### 5.1 Stanovení chloridových iontů v ovčím mléce

V tabulce 3 je uvedeno průměrné množství chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín, tedy z konvenčního chovu a v tabulce 4 je uvedené průměrné množství chloridů ve vzorcích mléka z ekologického chovu farmy Šonov.

Množství chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín se pohybovalo v rozmezí od 59,386 do 123,193 mg na 100 gramů mléka. Průměrné množství chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín bylo 96,16 mg na 100 gramů mléka s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 17,81$ .

Množství chloridů ve vzorcích mléka z farmy Šonov se pohybovalo v rozmezí od 100,149 do 132,58 mg na 100 gramů mléka. Průměrné množství chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín bylo 112,34 mg na 100 gramů mléka s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 9,77$ .

V grafu číslo 1 jsou znázorněny rozdíly v průměrném obsahu chloridů v ovčím mléce nadojeném na různých farmách.

Tabulka 3. Obsah chloridů ve vzorcích ovčího mléka z Krmelína – konvenční chov (průměr ze dvou paralelních opakování).

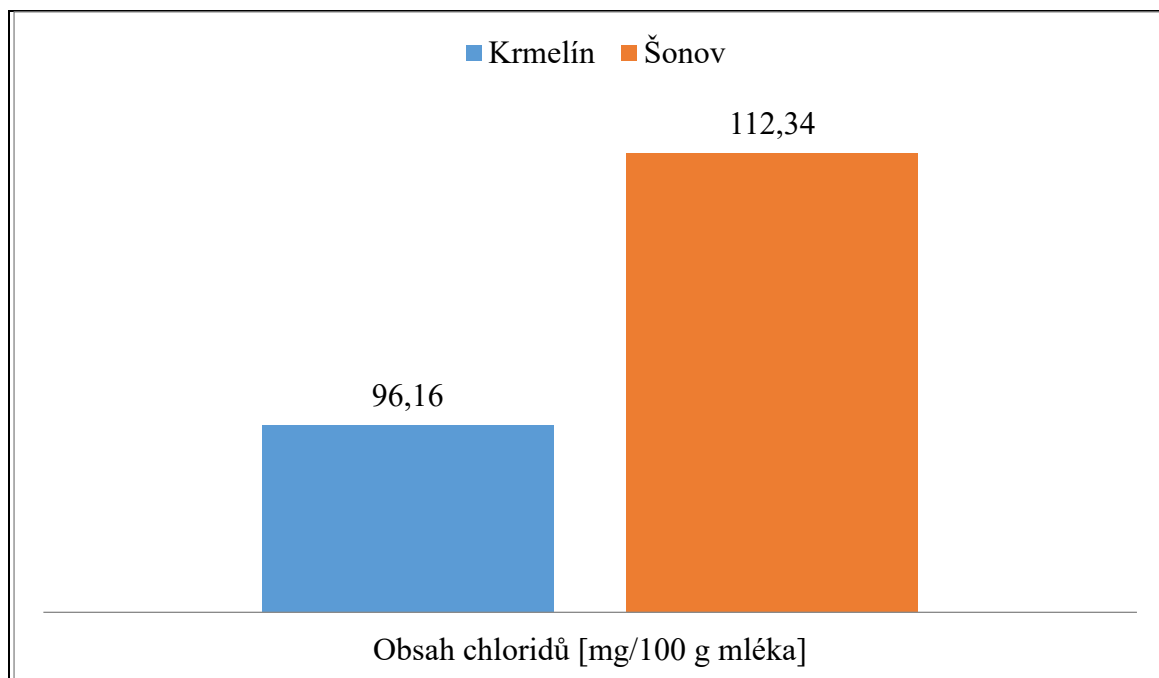
KRMELÍN			
číslo vzorku	Vzorek	odběr	chloridy mg/100g mléka
1	OM bazén Krmelín	4/2018	101,013 $\pm$ 3,54
2	OM PSB 500-1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	4/2018	106,354 $\pm$ 0,01
3	OM PSB do 500 ( $10^3$ /ml) Krmelín	4/2018	100,163 $\pm$ 0,89
4	OM PSB nad 1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	4/2018	101,061 $\pm$ 1,77
9	OM bazén Krmelín	6/2018	105,477 $\pm$ 0,87
10	OM PSB do 500 ( $10^3$ /ml) Krmelín	6/2018	91,292 $\pm$ 0,89
11	OM PSB 500-1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	6/2018	123,193 $\pm$ 0,88
12	OM PSB nad 1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	6/2018	109,031 $\pm$ 2,66
13	OM bazén Krmelín	8/2018	93,066 $\pm$ 0,88
14	OM PSB do 500 ( $10^3$ /ml) Krmelín	8/2018	102,78 $\pm$ 1,77
15	OM PSB 500-1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	8/2018	59,386 $\pm$ 9,76
16	OM PSB nad 1000 ( $10^3$ /ml) Krmelín	8/2018	61,15 $\pm$ 0,89



Tabulka 4. Obsah chloridů ve vzorcích ovčího mléka z Šonova – ekologický chov (průměr ze dvou paralelních opakování).

ŠONOV			
číslo vzorku	Vzorek	odběr	chloridy mg/100g mléka
5	OM bazén Šonov	4/2018	117,892 ± 0,88
6	OM PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	4/2018	132,958 ± 1,78
7	OM PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	4/2018	115,232 ± 1,76
8	OM PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	4/2018	113,433 ± 1,76
17	OM bazén Šonov	6/2018	109,007 ± 2,67
18	OM PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	6/2018	101,04 ± 0,01
19	OM PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	6/2018	109,014 ± 0,91
20	OM PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml) Šonov	6/2018	100,149 ± 0,88

Graf 1. Průměrný obsah chloridů v ovčím mléce z farmy Krmelín a Šonov během laktace.



## 5.2 Stanovení sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce

V tabulce číslo 5 je uveden obsah draslíku, sodíku a vápníku v lyofilizovaných vzorcích mléka. Nejnižší hodnota obsahu draslíku byla v bazénovém vzorku mléka z farmy Krmelín, který byl odebrán v červnu roku 2018. Jeho průměrná hodnota činila  $4232,13 \pm 264,55$  mg draslíku na 1 kilogram lyofilizovaného mléka. Nejvyšší množství draslíku v lyofilizátu obsahoval naopak vzorek z Šonova s počtem somatických buněk do  $500 (10^3/\text{ml})$  odebraný v dubnu roku 2018. Jeho hodnota dosahovala  $10\,194,98 \pm 620,14$  mg draslíku na 1 kg lyofilizovaného ovčího mléka. Nejnižší obsah sodíku byl stanoven ve vzorku mléka ovcí chovaných na farmě Šonov s počtem somatických buněk do  $500 (10^3/\text{ml})$  odebraným v dubnu roku 2018. Nejvyšší obsah sodíku  $5328,65 \pm 102,94$  mg na 1 kilogram lyofilizovaného mléka byl stanoven v ovčím mléce s počtem somatických buněk nad  $1000 (10^3/\text{ml})$ , které bylo odebráno v srpnu roku 2018 na farmě Krmelín. Vápník se pohyboval v rozmezí od  $2979,82 \pm 347,31$  do  $10\,083,07 \pm 1924,92$  mg vápníku na 1 kilogram lyofilizovaného mléka, s průměrnou hodnotou  $2695,31 \pm 1043,4$  mg na 1 kilogram lyofilizovaného mléka.

V tabulce 6 a 7 jsou uvedena přepočtená množství draslíku, sodíku a vápníku na čerstvé mléko. V tabulce číslo 6 je uveden obsah sledovaných makroelementů v čerstvém ovčím mléce z farmy Krmelín. Obsah draslíku se pohyboval v rozmezí od 868,95 do 1772,5 mg draslíku na 1 kilogram čerstvého mléka. Obsah sodíku se pohyboval v rozmezí od 284,14 do 967,68 mg sodíku na 1 kilogram čerstvého ovčího mléka. Obsah vápníku se pak pohyboval v rozmezí od 552,46 do 1301,99 mg vápníku na 1 kilogram čerstvého mléka. V tabulce 7 je pak uveden obsah mikronutrientů v čerstvém ovčím mléce z farmy Šonov. Obsah draslíku se v mléce odebraném na farmě Šonov pohyboval v rozmezí od 939 do 1999,24 mg na 1 kilogram čerstvého ovčího mléka. Obsah sodíku byl stanoven v rozmezí od 246,56 do 753,77 mg sodíku na 1 kilogram čerstvého mléka. Obsah vápníku se nacházel mezi hodnotami 602,82 až 1878,48 mg vápníku na 1 kilogram čerstvého mléka.

V Grafu číslo 2 je znázorněn průměrný obsah draslíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka. V grafu číslo 3 je vyobrazen průměrný obsah sodíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích mléka. Graf číslo 4 ukazuje průměrný obsah vápníku v lyofilizovaných bazénových vzorcích mléka odebraného na obou farmách.

Tabulka 5. Obsah draslíku, sodíku a vápníku v lyofilizovaných vzorcích mléka.

Vzorek	Odběr	Obsah K [mg/kg]	Obsah Na [mg/kg]	Obsah Ca [mg/kg]
<b>Bazén Krmelín</b>	4/2018	7 544,18 ± 104,32	2 177,87 ± 296,52	8 083,91 ± 16,94
PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	8 284,93 ± 220,25	1 531,46 ± 21,06	5 440,99 ± 547,05
PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	10 082,50 ± 193,25	1 936,05 ± 87,10	6 711,08 ± 29,50
PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	6 744,06 ± 102,37	1 744,56 ± 27,91	2 979,82 ± 347,31
<b>Bazén Šonov</b>	4/2018	8 309,98 ± 117,12	1 837,32 ± 91,08	6 341,09 ± 291,89
PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	10 194,98 ± 620,14	1 257,33 ± 84,88	3 074,06 ± 401,30
PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	9 224,86 ± 1212,60	3 237,90 ± 141,35	10 083,07 ± 1924,92
PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	4/2018	7 960,82 ± 15,12	4 194,58 ± 24,42	5 199,85 ± 142,27
<b>Bazén Krmelín</b>	6/2018	4 232,13 ± 264,55	2 478,24 ± 47,1	3 990,35 ± 345,25
PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	7 215,13 ± 879,86	2 405,40 ± 281,16	6 881,57 ± 1014,37
PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	4 624,54 ± 357,55	3 888,55 ± 190,93	4 121,68 ± 123,87
PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	6 685,70 ± 88,36	4 123,05 ± 380,17	6 448,27 ± 427,59
<b>Bazén Krmelín</b>	8/2018	7 055,83 ± 165,02	3 101,34 ± 123,58	6 698,12 ± 303,05
PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml)	8/2018	5 600,07 ± 551,76	2 559,96 ± 540,66	6 114,75 ± 1010,89
PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	8/2018	6 320,01 ± 291,06	3 546,80 ± 214,34	6 684,73 ± 217,11
PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	8/2018	5 503,73 ± 829,72	5 328,65 ± 102,94	4 540,62 ± 755,99
<b>Bazén Šonov</b>	6/2018	4 396,32 ± 5,68	1 585,09 ± 9,32	8 645,13 ± 234,72
PSB do 500 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	6 874,89 ± 765,97	2 477,04 ± 204,32	8 533,24 ± 820,16
PSB 500-1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	5 782,65 ± 19,97	2 569,71 ± 31,88	7 548,69 ± 121,37
PSB nad 1000 (10 <sup>3</sup> /ml)	6/2018	4 718,60 ± 95,89	1 925,36 ± 114,47	7 470,21 ± 164,22

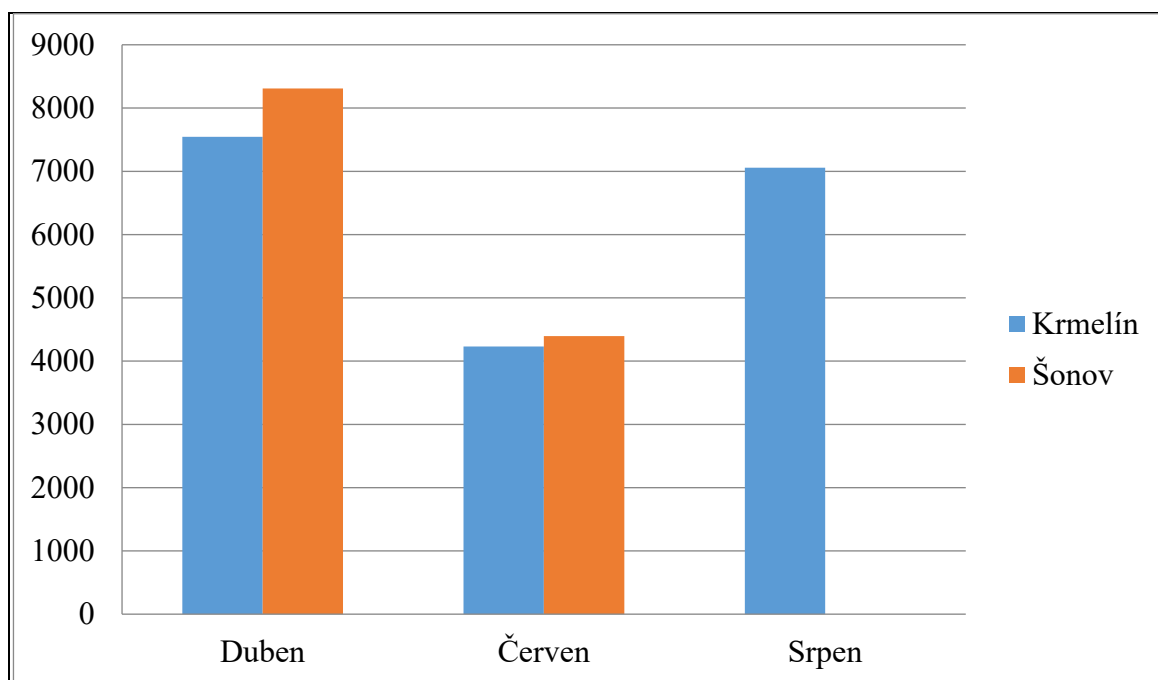
Tabulka 6. Obsah mikronutrientů v čerstvém ovčím mléce v průběhu laktace – Krmelín.

<b>Krmelín</b>				
<b>Odběr 2018</b>	<b>PSB 10<sup>3</sup>/1 ml</b>	<b>Draslík (mg/kg)</b>	<b>Sodík (mg/kg)</b>	<b>Vápník (mg/kg)</b>
Duben	do 500	1537,68	284,24	1009,85
	500 - 1000	1772,5	340,36	1179,81
	nad 1000	1250,35	323,44	552,46
Červen	do 500	1365,1	455,1	1301,99
	500 - 1000	868,95	730,66	774,46
	nad 1000	1251,56	771,84	1207,12
Srpen	do 500	1038,81	474,87	1134,29
	500 - 1000	1205,23	676,37	1274,78
	nad 1000	999,48	967,68	824,58
Průměr		1254,407	558,2844	1028,816
Maximum		1772,5	967,68	1301,99
Minimum		868,95	284,24	552,46

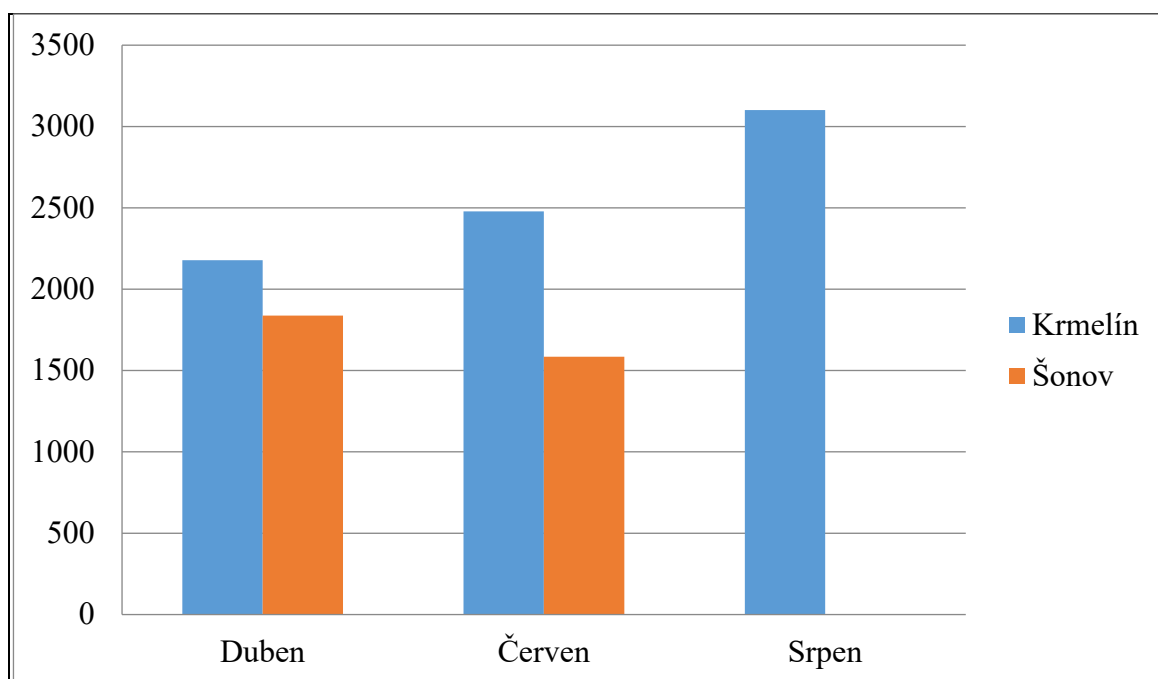
Tabulka 7. Obsah mikronutrientů v čerstvém ovčím mléce v průběhu laktace – Šonov.

<b>Šonov</b>				
<b>Odběr 2018</b>	<b>PSB 10<sup>3</sup>/1 ml</b>	<b>Draslík (mg/kg)</b>	<b>Sodík (mg/kg)</b>	<b>Vápník (mg/kg)</b>
Duben	do 500	1999,24	246,56	602,82
	500 - 1000	1718,59	603,22	1878,48
	nad 1000	1430,56	753,77	934,41
Červen	do 500	1259,48	453,79	1563,29
	500 - 1000	1013,7	450,47	1323,29
	nad 1000	939	383,15	1486,57
Průměr		1393,48	481,8267	1298,143
Maximum		1999,24	753,77	1878,48
Minimum		939	246,56	602,82

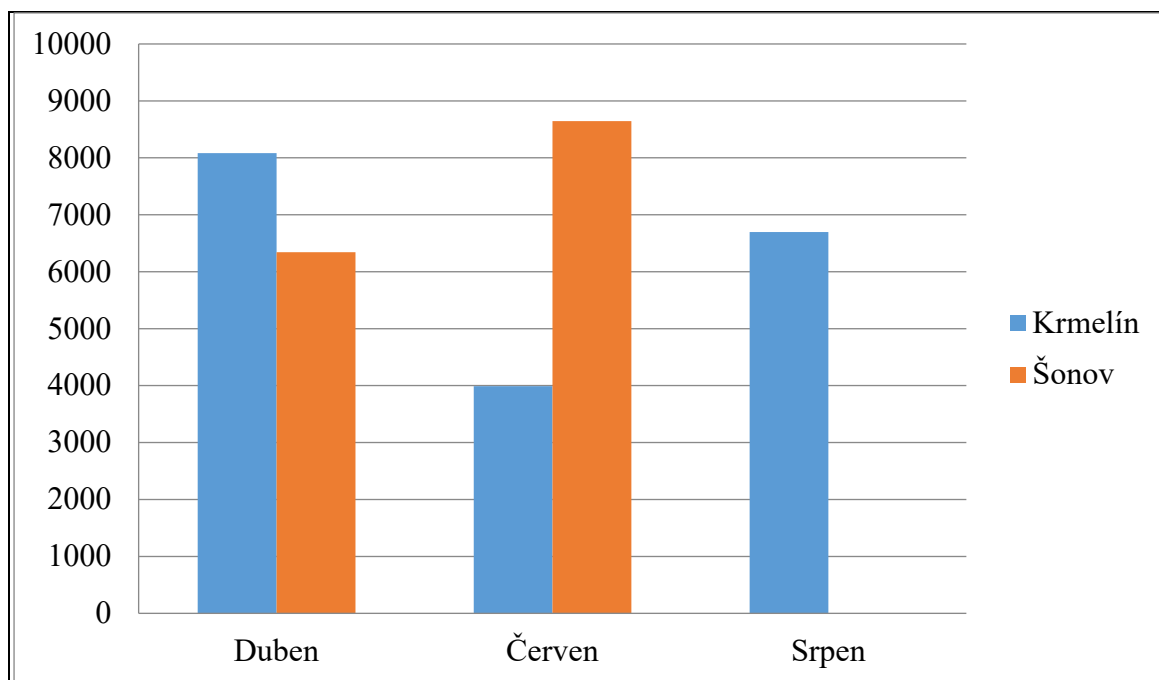
Graf 2. Průměrný obsah draslíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.



Graf 3. Průměrný obsah sodíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.



Graf 4. Průměrný obsah vápníku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.



### 5.3 Stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce

Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín je uvedeno v tabulce číslo 8. Obsah celkového kaseinu byl ve vzorcích mléka odebraných v Krmelíně  $75,66 \%$  s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 17,33$ . Pohyboval se v hodnotách mezi  $40,54 \pm 0,24 \%$  až  $95,07 \pm 1,69 \%$ . Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S1-kaseinu bylo ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín  $28,73 \%$  se směrodatnou odchylkou  $\pm 9,06$  za období laktace. Jeho relativní zastoupení v kaseinu se pohybovalo v rozmezí od  $10,55 \pm 1,05 \%$  do  $40,77 \pm 1,59 \%$ . Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S2-kaseinu se ve vzorcích mléka z Krmelína odebraných během celé laktace pohybovalo kolem  $0,87 \pm 0,51 \%$ . Jeho relativní zastoupení v kaseinu bylo v rozmezí od  $0,21 \pm 0,03 \%$  do  $1,98 \pm 1,33 \%$ . Průměrné relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo v těchto vzorcích  $57,57 \pm 12,73 \%$ . Jeho hodnoty se pohybovaly mezi  $36,89 \pm 1,06 \%$  a  $82,02 \pm 2,09 \%$ . Průměrné relativní zastoupení  $\kappa$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka  $12,61 \%$  s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 5,56$ . Jeho relativní zastoupení v kaseinu nabývalo hodnot od  $4,04 \pm 1,17 \%$  do  $20,98 \pm 0,69 \%$ .

V tabulce číslo 9 je uvedeno relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov. Obsah celkového kaseinu byl ve vzorcích mléka odebraných na Farmě Šonov 81,79 % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 12,33$ . Pohyboval se v hodnotách mezi  $53,27 \pm 6,62$  % až  $94,15 \pm 0,68$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S1-kaseinu bylo ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Šonov 22,86 % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 11,67$  za období laktace. Jeho relativní zastoupení v kaseinu se pohybovalo v rozmezí od  $6,28 \pm 1,06$  % do  $34,75 \pm 3,35$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S2-kaseinu se ve vzorcích mléka z Šonova odebraných během celé laktace činilo  $1,15 \pm 0,88$  %. Jeho relativní zastoupení bylo v rozmezí od  $0,09 \pm 0,00$  % do  $2,24 \pm 0,03$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo v těchto vzorcích  $59,28 \pm 17,68$  %. Jeho hodnoty se pohybovaly mezi  $37,47 \pm 2,57$  % a  $85,96 \pm 1,19$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\kappa$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka 17,00 % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 6,36$ . Jeho relativní zastoupení nabývalo hodnot od  $7,66 \pm 0,13$  % do  $29,01 \pm 1,99$  %.

V grafu číslo 5 je znázorněno průměrné relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Krmelín. V grafu číslo 6 jsou uvedena průměrná relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov.

Tabulka 8. Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín

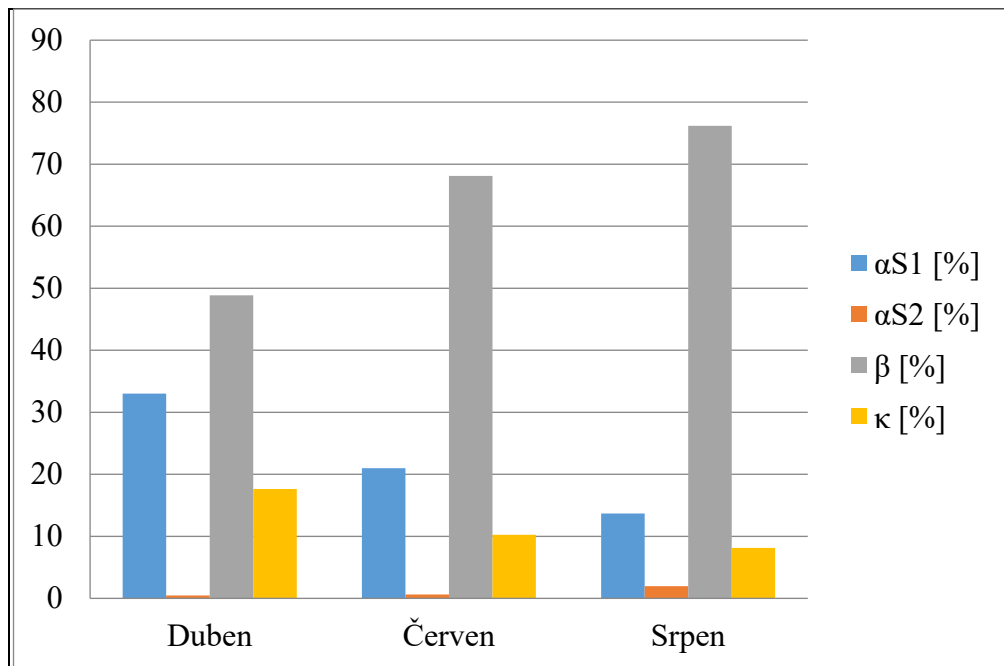
Krmelín						
Vzorek	Odběr	% alfaS1-CN	% alfaS2-CN	% beta-CN	% kappa-CN	% CN
Bazén	4/2018	33,01 ± 1,07	0,48 ± 0,18	48,87 ± 1,83	17,64 ± 0,94	91,77 ± 4,74
PSB < 500	4/2018	27,43 ± 1,90	<MD	56,72 ± 1,41	15,85 ± 0,50	81,47 ± 2,06
PSB 500 - 1000	4/2018	27,10 ± 5,29	<MD	56,21 ± 5,57	16,01 ± 0,44	85,26 ± 3,69
PSB > 1000	4/2018	35,95 ± 0,48	0,62 ± 0,30	43,75 ± 0,17	19,68 ± 0,34	95,07 ± 1,69
Bazén	6/2018	21,00 ± 5,98	0,63 ± 0,00	68,12 ± 4,85	10,26 ± 1,14	72,50 ± 4,39
PSB < 500	6/2018	29,53 ± 0,77	0,92 ± 0,04	65,51 ± 1,90	4,04 ± 1,17	68,30 ± 0,83
PSB 500 - 1000	6/2018	36,09 ± 1,06	0,21 ± 0,03	46,91 ± 2,87	16,79 ± 1,84	88,40 ± 2,60
PSB > 1000	6/2018	40,77 ± 1,59	1,36 ± 0,16	36,89 ± 1,06	20,98 ± 0,69	91,62 ± 0,98
Bazén	8/2018	13,68 ± 0,85	1,98 ± 1,33	76,20 ± 1,26	8,13 ± 0,91	54,07 ± 3,89
PSB < 500	8/2018	10,55 ± 1,05	1,13 ± 0,08	82,02 ± 2,09	6,30 ± 1,13	40,54 ± 0,24
PSB 500 - 1000	8/2018	31,66 ± 7,11	1,05 ± 0,26	55,15 ± 4,70	8,40 ± 3,13	86,53 ± 121,82
PSB > 1000	8/2018	38,01 ± 3,66	0,28 ± 0,11	54,49 ± 2,66	7,22 ± 0,90	52,33 ± 1,34



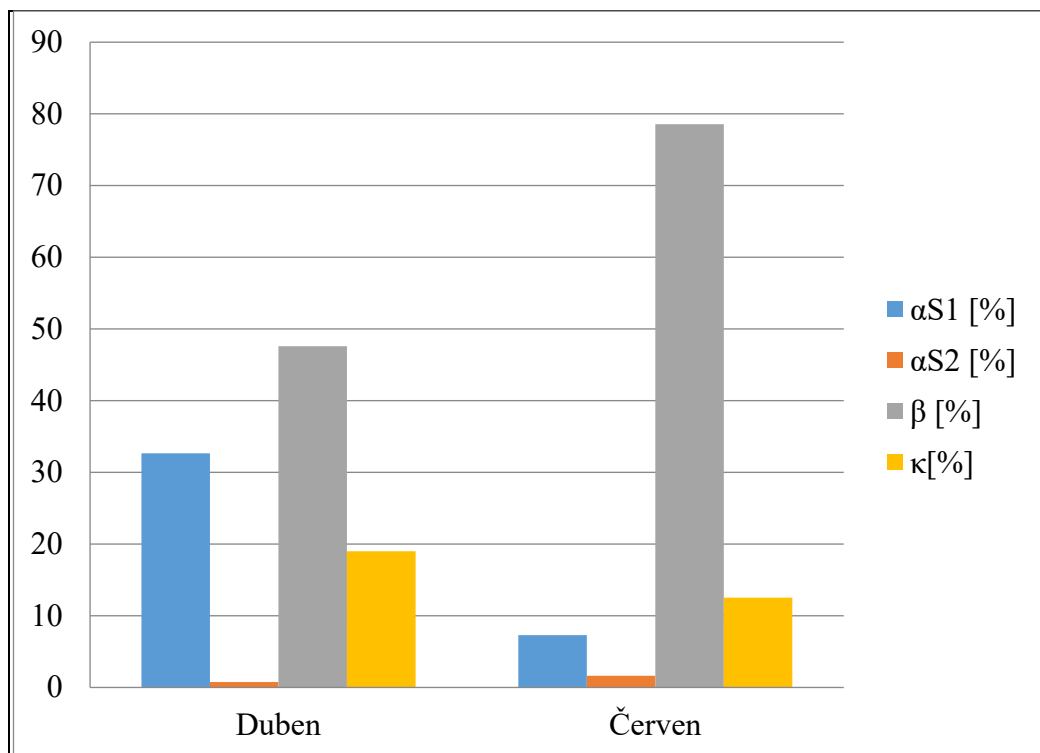
Tabulka 9. Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov

Šonov						
Vzorek	Odběr	% alfaS1-CN	% alfaS2-CN	% beta-CN	% kappa-CN	% CN
Bazén	4/2018	32,66 ± 0,36	0,76 ± 0,47	47,59 ± 1,76	19,00 ± 0,92	90,82 ± 0,85
PSB < 500	4/2018	33,73 ± 7,30	2,24 ± 0,03	44,79 ± 4,34	19,24 ± 2,93	77,85 ± 3,82
PSB 500 - 1000	4/2018	34,75 ± 3,35	<MD	43,15 ± 5,48	22,10 ± 2,14	88,28 ± 2,07
PSB > 1000	4/2018	31,44 ± 3,92	2,07 ± 0,64	37,47 ± 2,57	29,01 ± 1,99	94,15 ± 0,68
Bazén	6/2018	7,30 ± 3,35	1,63 ± 0,47	78,55 ± 7,13	12,52 ± 3,31	53,27 ± 6,62
PSB < 500	6/2018	6,28 ± 1,06	0,09 ± 0,00	85,96 ± 1,19	7,66 ± 0,13	85,83 ± 0,42
PSB 500 - 1000	6/2018	11,18 ± 2,38	0,09 ± 0,00	77,56 ± 2,84	11,17 ± 0,46	75,19 ± 0,50
PSB > 1000	6/2018	25,56 ± 3,26	<MD	59,15 ± 8,64	15,29 ± 5,37	88,93 ± 3,32

Graf 5. Průměrné relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Krmelín.



Graf 6. Průměrné relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov.



## 6 Diskuze

V rámci této diplomové práce byl hodnocen obsah vybraných minerálních látek v ovčím mléce. Konkrétně se jednalo o množství chloridů, sodíku, draslíku a vápníku. Dále bylo stanoveno relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém množství kaseinu v ovčím mléce. Všechny tyto ukazatele byly hodnoceny v závislosti na počtu somatických buněk v mléce a dále na průběhu laktace. Hodnoceno bylo mléko ovčí dvou plemen, a to ovce východofrišské a lacaune. Každé plemeno bylo chováno na jiné farmě. Farmy se od sebe lišily též způsobem chovu.

### 6.1 Obsah chloridových iontů v ovčím mléce

Pirisi et al. (2000), dále též Morgan & Gasspard (1999) zjistili, že zvyšující se počet somatických buněk zvyšuje také množství chloridů obsažených v kozím mléce. Jelikož se jedná o mléko malých přežvýkavců, byla zde určitá pravděpodobnost, že i v ovčím mléce bude docházet ke stejnému jevu.

Pro stanovená množství chloridových iontů v ovčím mléce nebyla potvrzena domněnka, že množství chloridových iontů roste s rostoucím počtem somatických buněk v mléce. Nebylo ani prokázáno, že by na množství chloridových iontů v mléce měla vliv délka trvání laktace. V obou případech je obsah chloridových iontů v ovčím mléce proměnlivý a nelze pozorovat žádné závislosti na sledovaných faktorech.

Z výsledků je patrné, že v mléce pocházejícím z konvenčního chovu farmy Krmelín, se nachází menší průměrné množství chloridových iontů než v mléce, které pochází z ekologického chovu farmy Šonov. Průměrné množství chloridových iontů v ovčím mléce z farmy Krmelín dosahuje hodnoty  $96,16 \pm 17,8$  mg chloridů na 100 gramů mléka. Průměrné množství chloridových iontů v ovčím mléce z farmy Šonov, tedy ekologického chovu, činí  $112,34 \pm 9,77$  mg chloridů na 100 gramů mléka.

Haenlein a Wendorff v roce 2006 uvedli, že průměrný obsah chloridů v ovčím mléce je 160 mg na 100 gramů mléka. Stejného výsledku dosáhli i Gaucheron (2013), Guéguen (1996), Park et al. (2007) a Tamine et al. (2011). V porovnání s výsledky této práce je hodnota 160 mg chloridů na 100 gramů mléka přibližně 1,5krát vyšší. Bornaz et al. (2009), Ivanova (2011) i Mayer & Fiechter (2012) uvedli, že obsah chloridů se v ovčím mléce pohybuje v rozmezí od 0 do 160 mg na 100 gramů mléka v závislosti na plemeni, výživě a dalších faktorech. V tomto rozmezí lze nalézt i výsledky této práce. Raynal-Ljutovac et al. (2008) stanovili rozsah pro obsah chloridových iontů v ovčím mléce na 110–112 mg

na 100 gramů mléka. Danému rozmezí odpovídá mléko z farmy Šonov. Ve studii Marouškové (2018) byl pozorován růst obsahu chloridů se zvyšujícím se počtem somatických buněk v kozím i ovčím mléce. Průměrný obsah chloridů v mléce ovce lacaune byl v její studii 114,0 mg na 100 gramů mléka.

Byly hodnoceny statisticky významné rozdíly mezi bazénovými vzorky obou farem. Mezi bazénovými vzorky, které byly odebrány v dubnu roku 2018, existoval statisticky významný rozdíl na dané hladině významnosti ( $P < 0,05$ ). Naopak mezi bazénovými vzorky, které byly odebrány v červnu roku 2018 na obou farmách, neexistoval statisticky významný rozdíl ( $P > 0,05$ ) na hladině pravděpodobnosti  $\alpha = 0,05$ , tedy byla potvrzena nulová hypotéza.

Statisticky významné rozdíly v množství jednotlivých ukazatelů kvality ovčího mléka v závislosti na počtu somatických buněk a průběhu laktace byly hodnoceny na vzorcích mléka odebraných na farmě Krmelín, protože na této farmě bylo odebráno vyšší množství vzorků než na farmě Šonov. V obsahu chloridových iontů byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi vzorky odebranými v srpnu roku 2018 s počtem somatických buněk vyšším než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a ostatními vzorky. Dále byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi všemi vzorky a vzorkem ovčího mléka s počtem somatických buněk od 500 do 100 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v červnu, kde byl také stanoven nejvyšší obsah chloridových iontů. Další statisticky významný rozdíl byl stanoven mezi vzorkem ovčího mléka odebraného v červnu roku 2018 s počtem somatických buněk do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a vzorky mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které bylo odebráno v dubnu, bazénovým vzorkem odebraným v červnu, vzorkem mléka s počtem somatických buněk nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v červnu a vzorkem s počtem somatických buněk do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebrán v srpnu téhož roku. U všech výše uvedených vzorků byl zaznamenán statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) na dané hladině pravděpodobnosti. Pro ostatní případy nebyly prokázány statisticky významné rozdíly ( $P > 0,05$ ).

## **6.2 Obsah sodíku, draslíku a vápníku v ovčím mléce**

### **6.2.1 Draslík**

Při stanovení draslíku v konvenčním chovu na farmě Krmelín vyšlo najevo, že jeho obsah je v průběhu laktace proměnlivý. Proměnlivý byl obsah draslíku v ovčím mléce i s rostoucím počtem somatických buněk. V ekologickém chovu farmy Šonov obsah draslíku v ovčím mléce klesal s počtem somatických buněk, ale i v průběhu laktace. Podařilo se však

zajistit pouze 2 série vzorků, a proto pozorované trendy nejsou dostatečně průkazné. Mléko bylo odebráno v dubnu a v červnu roku 2018.

Maximální hodnoty obsahu draslíku v ovčím mléce z farmy Krmelín bylo dosaženo na počátku laktace, tedy v dubnu. Jeho obsah v té době byl 1772,5 mg na 1 kilogram čerstvého mléka. Nejnižší hodnota obsahu draslíku byla nalezena v odběru mléka z června. Obsah draslíku zde dosahoval 868,95 mg na 1 kilogram čerstvého mléka.

Na farmě Šonov byla nejvyšší hodnota obsahu draslíku zjištěna také v dubnu, a to 1999,24 mg draslíku na 1 kilogram čerstvého mléka. Nejnižší hodnota obsahu draslíku byla stanovena v červnu, a to 939 mg draslíku na 1 kilogram čerstvého mléka. Průměrný obsah draslíku v mléce z farmy Šonov činil 7182,89 mg/kg lyofilizovaného mléka, kdežto v lyofilizátu mléka z farmy Krmelín byl pouze 6657,73 mg/kg.

Ve studii Pirisiho et al. (2000) byl pozorován klesající trend draslíku v ovčím mléce v závislosti na počtu somatických buněk. Tato skutečnost byla pozorována pouze v ovčím mléce z ekologického chovu farmy Šonov, kde došlo k odběru mléka pouze ve dvou měsících a nelze tedy trend klesajícího množství draslíku s počtem somatických buněk věrohodně potvrdit. Maroušková (2018) zjistila, že v kozím mléce s rostoucím počtem somatických buněk obsah draslíku klesal. V ovčím mléce se jí tento klesající trend nepodařilo potvrdit, jelikož byl obsah draslíku relativně proměnlivý.

Mezi bazénovými vzorky z obou farem, které byly odebrány v dubnu roku 2018, byl prokázán statisticky významný rozdíl v obsahu draslíku ( $P < 0,05$ ). Pro obsah draslíku statisticky významný rozdíl v bazénových vzorcích mléka v červnu roku 2018 nebyl potvrzen ( $P > 0,05$ ).

Statisticky byly také hodnoceny vzorky odebrané na farmě Krmelín. V obsahu draslíku nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi vzorky ( $P > 0,05$ ) v závislosti na počtu somatických buněk v mléce a na průběhu laktace. Jediný statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) v obsahu draslíku se ukázal mezi vzorkem ovčího mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v srpnu roku 2018 a všemi ostatními odebranými vzorky na farmě Krmelín.

### **6.2.2 Sodík**

Opačný trend než v případě draslíku byl pozorován pro obsah sodíku v ovčím mléce. Obsah sodíku v mléce z konvenčního chovu farmy Krmelín v průběhu laktace rostl. Zvyšoval se také obsah sodíku v ovčím mléce s rostoucím počtem somatických buněk.

Na farmě Šonov, tedy v ekologickém chovu ovcí, docházelo také k růstu obsahu sodíku s počtem somatických buněk v mléce, avšak na rozdíl od konvečního chovu, v ekologickém chovu nedocházelo k nárůstu obsahu sodíku v průběhu laktace. Obsah sodíku v ovčím mléce se v průběhu laktace na farmě Šonov naopak snižoval.

Nejvyšší hodnota obsahu sodíku v ovčím mléce z farmy Krmelín byla stanovena v srpnu, a to 967,68 mg sodíku na 1 kilogram čerstvého mléka. Nejnižší hodnota obsahu sodíku v mléce byla na farmě Krmelín stanovena naopak v dubnu. Množství sodíku v mléce bylo 284,24 mg na 1 kilogram čerstvého mléka. Nejvyšší zjištěná hodnota obsahu sodíku v mléce na farmě Šonov byla 753,77 mg na 1 kilogram čerstvého mléka. Odběr byl proveden v dubnu. Nejnižší hodnota byla také naměřena v dubnu, a to 246,56 mg na 1 kilogram čerstvého mléka. Vzorky mléka se lišily počtem somatických buněk v mléce. Vyššího obsahu sodíku dosáhlo mléko s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Průměrný obsah sodíku v lyofilizovaném ovčím mléce dosahoval hodnoty  $2901 \pm 1081 \text{ mg.kg}^{-1}$  na farmě Krmelín a  $2127 \pm 624,2 \text{ mg.kg}^{-1}$  na farmě Šonov.

Morgan & Gaspard (1999) ve své studii popsali, že obsah sodíku v kozím mléce roste s rostoucím počtem somatických buněk. Také Pirisi et al. (2002) zjistili, že se obsah sodíku v ovčím mléce zvyšuje v závislosti na počtu somatických buněk. Na farmě Krmelín, kde jsou chovány ovce plemene lacaune, došlo k potvrzení, že obsah sodíku roste v ovčím mléce s počtem somatických buněk. Stejná skutečnost byla potvrzena i na farmě Šonov, kde chovají východofrišské ovce. Dle Marouškové (2018) byl obsah sodíku v kozím i ovčím mléce relativně proměnlivý.

Mezi bazénovými vzorky farmy Krmelín a Šonov nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v obsahu sodíku ( $P > 0,05$ ). V bazénových vzorcích odebraných v červnu roku 2018 byl statisticky významný rozdíl prokázán v obsahu sodíku ( $P < 0,05$ ).

Při porovnávání obsahu sodíku ve vzorcích z farmy Krmelín byly prokázány statisticky významné rozdíly ( $P > 0,05$ ) mezi vzorkem ovčího mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) a bazénovým vzorkem odebraným v dubnu, v červnu i srpnu, dále se všemi vzorky odebranými v červnu a všemi vzorky odebranými v srpnu. Ve vzorku ovčího mléka s počtem somatických buněk do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) existuje statisticky významný rozdíl od vzorků ovčího mléka s vyšším počtem somatických buněk než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných v dubnu, bazénových vzorků odebraných v červnu i srpnu, dále od ovčího mléka s vyšším počtem somatických buněk než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které bylo odebráno v červnu a také od všech vzorků odebraných v srpnu. Vzorek ovčího mléka s počtem somatických buněk do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu a bazénový vzorek odebraný v červnu se statisticky

významně liší od vzorků s určeným počtem somatických buněk, které byly odebrané v dubnu, dále od vzorků s počtem somatických buněk od 0 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v červnu a dále také od zbývajících vzorků, které byly odebrány v srpnu. Bazénový vzorek, který byl odebrán v srpnu roku 2018, se statisticky významně liší od vzorků s určeným počtem somatických buněk, které byly odebrané v dubnu, dále od všech vzorků odebraných v červnu a také od vzorků s počtem somatických buněk do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v srpnu roku 2018. Mezi vzorkem mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které bylo odebrané v červnu, existuje statisticky významný rozdíl v porovnání se vzorky s určeným počtem somatických buněk odebraných v dubnu, s bazénovým vzorkem a vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v červnu a vzorky odebranými v srpnu, kromě vzorku s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). U vzorku s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v červnu je to obdobné. Jediný rozdíl je v tom, že existuje statisticky významný rozdíl i mezi vzorkem s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v srpnu. Tento vzorek se statisticky významně liší od vzorků s určeným počtem somatických buněk odebraných v dubnu, dále od vzorků odebraných v červnu kromě vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) a dále od vzorků s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v srpnu. Vzorek s počtem somatických buněk nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu se statisticky významně liší od všech ostatních vzorků. Mezi dalšími vzorky nebyl pozorován statisticky významný rozdíl.

### 6.2.3 Vápník

Obsah vápníku v ovčím mléce v konvenčním chovu nevykazoval žádnou závislost na počtu somatických buněk. V průběhu laktace byl obsah vápníku v odebraných vzorcích přibližně stejný. Z toho lze usuzovat, že v konvenčním chovu ani průběh laktace, ani rostoucí počet somatických buněk nemá vliv na obsah vápníku v mléce.

V ekologickém chovu v Šonově také nebyla pozorována závislost mezi rostoucím počtem somatických buněk a obsahem vápníku ve vzorcích ovčího mléka. V průběhu laktace však došlo k nárůstu obsahu vápníku v mléce. Průměrné množství vápníku v mléce odebraném na farmě Krmelín bylo  $1028 \pm 243,7$  mg na 1 kilogram ovčího mléka. Průměrné množství vápníku v mléce z farmy Šonov bylo  $1298 \pm 420,1$  mg na 1 kilogram mléka. Průměrný obsah vápníku v lyofilizovaném mléce odpovídal  $7111 \pm 2016$  mg.kg<sup>-1</sup> z farmy Šonov a z farmy Krmelín  $5724 \pm 1443$  mg.kg<sup>-1</sup>.

Při porovnání obou chovů, konvenčního a ekologického, byli jedinými společnými ukazateli proměnlivý obsah vápníku v ovčím mléce s rostoucím počtem somatických buněk vzorku a zvyšující se obsah sodíku s rostoucím počtem somatických buněk.

Průměrný obsah draslíku a vápníku v lyofilizátu ovčího mléka a tedy u v čerstvém mléce z ekologického chovu farmy Šonov byl vyšší, než průměrný obsah draslíku a vápníku v lyofilizátu mléka a zároveň i čerstvém mléce z konvenčního chovu farmy Krmelín. Opačně tomu bylo v případě sodíku. Jeho průměrný obsah byl vyšší v lyofilizátu mléka z farmy Krmelín, tedy z konvenčního chovu.

Park et al. (2007) uvádí hodnotu pro množství vápníku v ovčím mléce 193 mg na 100 gramů mléka, což odpovídá 1930 mg na 1 kilogram mléka. Park tedy uvádí vyšší průměrné množství vápníku v ovčím mléce, než bylo stanoveno ve vzorcích odebraného mléka na obou farmách.

Mezi bazénovými vzorky z obou farem, které byly odebrány v dubnu roku 2018, byl prokázán statisticky významný rozdíl v obsahu vápníku ( $P < 0,05$ ). V bazénových vzorcích odebraných v červnu roku 2018 byl statisticky významný rozdíl prokázán v obsahu vápníku ( $P < 0,05$ ).

Při porovnání statisticky významných rozdílů mezi vzorky odebranými na farmě Krmelín byl pozorován statisticky významný rozdíl mezi bazénovým vzorkem odebraným v dubnu a dubnovými vzorky s počtem somatických buněk nad 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), dále vzorky odebranými v červnu kromě vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), a také vzorky s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v srpnu. Vzorek s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v dubnu, bazénový vzorek ze srpna a vzorek s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně liší od vzorku s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v dubnu, bazénovým a vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v červnu a také se vzorkem s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v srpnu. Vzorek s PSB do 500 odebraný v dubnu se statisticky významně liší od vzorků s vyšším počtem somatických buněk než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) u mléka odebraného v dubnu, dále od bazénového vzorku a vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraného v červnu a také od vzorku s nejvyšším PSB, který byl odebraný v srpnu. Statisticky významný rozdíl existuje také mezi vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v dubnu a bazénovým vzorkem a vzorkem s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných také v dubnu, dále také mezi bazénovým a vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných v červnu. Bazénový vzorek odebraný v červnu a vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v dubnu se statisticky významně liší od ostatních vzorků odebraných v dubnu, od vzorků s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných v červnu a také od všech vzorků odebraných v srpnu, kromě



vzorku s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Vzorek s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v červnu a vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu se statisticky významně liší od vzorku bazénového a vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrány v dubnu, dále od vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v červnu a také od všech vzorků odebraných v srpnu. Vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v červnu a vzorek s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu se statisticky významně liší od vzorku bazénového a vzorku s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných v dubnu, bazénového vzorku odebraného v červnu a také vzorku s nejvyšším počtem PSB odebraným v srpnu.

### 6.3 Obsah bílkovinných frakcí v ovčím mléce

V konvenčním chovu na farmě Krmelín bylo zjištěno vyšší průměrné relativní zastoupení  $\alpha\text{S1}$ -kaseinu v celkovém kaseinu než v ekologickém chovu farmy Šonov. Relativní zastoupení  $\alpha\text{S2}$ -kaseinu a  $\beta$ -kaseinu bylo v ovčím mléce z obou farem přibližně stejné. Vyšší relativní zastoupení  $\kappa$ -kaseinu a celkového kaseinu v bílkovinách se ukázalo ve vzorcích mléka z ekologického chovu farmy Šonov.

Ve vzorcích z farmy Krmelín byla pozorována závislost mezi procentuálním zastoupením všech bílkovinných frakcí a fází laktace. Relativní zastoupení  $\alpha\text{S2}$ -kaseinů v celkovém množství kaseinu v ovčím mléce v průběhu laktace stoupalo. Ten samý trend byl zjištěn i v případě  $\beta$ -kaseinů. Opačný trend byl zaznamenán v ovčím mléce z farmy Krmelín pro bílkovinné frakce  $\alpha\text{S1}$ -kaseinu a  $\kappa$ -kaseinu. Relativní zastoupení bílkovinné frakce  $\alpha\text{S1}$ -kaseinu s počtem somatických buněk stoupalo ve vzorcích mléka odebraných v červnu 2018. Naopak průměrné relativní zastoupení bílkovinných frakcí  $\beta$ -kaseinu s rostoucím počtem somatických buněk klesalo pouze ve vzorcích mléka odebraných v červnu 2018 a průměrné procentuální zastoupení  $\alpha\text{S2}$ -kaseinů klesalo s rostoucím počtem somatických buněk pouze ve vzorcích mléka odebraných v srpnu roku 2018.

Relativní zastoupení bílkovinné frakce  $\alpha\text{S2}$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka velmi nízké. V mléce odebraném v dubnu roku 2018 s počtem somatických buněk  $< 500 \times 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$  a  $500\text{--}1000 \times 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$  bylo množství  $\alpha\text{S2}$ -kaseinu v mléce dokonce pod mezí detekce.

Z výsledků stanovení bílkovinných frakcí v ovčím mléce z konvenčního chovu farmy Krmelín není patrná závislost na relativním zastoupení kaseinových frakcí a zvyšujícím se počtu somatických buněk v mléce. Průměrné procentické zastoupení veškerých kaseinových bílkovin i celkového množství bílkovin v mléce plemene lacaune bylo 75,66 % za celé období laktace. Největší zastoupení měla frakce  $\beta$ -kaseinu, která se vyskytovala v průměrném obsahu

57,57 %. Druhou nejvíce zastoupenou frakcí byl  $\alpha$ S1-kasein. Jeho průměrný obsah byl za celé období laktace 28,73 %. Ostatní frakce se vyskytovaly v menší míře. Nejméně zastoupenou frakcí byl  $\alpha$ S2-kasein s průměrným relativním zastoupením 0,87 %.

V ekologickém chovu farmy Šonov byly vzorky odebrány pouze ve dvou měsících, a to v dubnu a v červnu roku 2018. Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v celkovém kaseinu mělo stejný průběh ve sledovaném kratším období laktace, jako vykazovalo mléko z farmy Krmelín. Pravděpodobně by tento trend pokračoval i v dalších měsících. Relativní zastoupení bílkovinných frakcí  $\alpha$ S2-kaseinu a  $\kappa$ -kaseinu v průběhu laktace ve vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov klesala, kdežto bílkovinná frakce  $\beta$ -kaseinu a  $\alpha$ S2-kaseinu vzrůstala. Průměrné zastoupení kaseinových bílkovin v bílkovinách mléka plemene východofříská ovce činilo 82,56 %, což je vyšší hodnota než byla stanovena v mléce plemene lacaune z farmy Krmelín. Průměrné relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí si bylo velmi podobné. Mírně nižší průměrné relativní zastoupení bylo stanoveno pro frakci  $\alpha$ S1-kasein, které bylo 24,16 % v mléce z farmy Šonov oproti 28,73 % z farmy Krmelín. V mléce z ekologického chovu bylo stanoveno vyšší relativní zastoupení bílkovinné frakce  $\kappa$ -kaseinu. Průměrné relativní zastoupení  $\kappa$ -kaseinu bylo v ovčím mléce získaném z farmy Šonov 17,55 % oproti 12,61 % v mléce nadojeném na farmě Krmelín.

Z výsledků lze vyčíst, že procentické zastoupení  $\alpha$ S1-kaseinu se stoupajícím počtem somatických buněk v mléce v dubnu roku 2018 mírně narůstalo. Tento trend se však nepotvrdil ve vzorcích mléka odebraného v červnu téhož roku. Relativní zastoupení těchto bílkovinných frakcí bylo u druhého odběru výrazně nižší. Relativní zastoupení bílkovinných frakcí  $\alpha$ S2-kaseinu se v červnu roku 2018 s počtem somatických buněk postupně snižovalo.

Při průměrném obsahu bílkovin 5,5 % v ovčím mléce lze vypočítat průměrné množství kaseinu přítomné v odebraném ovčím mléce. Ve vzorcích mléka z farmy Krmelín bylo průměrné zastoupení celkového kaseinu v bílkovinách stanoveno na 75,66 %. Při přepočtu vychází tato hodnota na 4,16 gramu kaseinu na 100 gramů mléka. Zastoupení celkového kaseinu v bílkovinách ovčího mléka z farmy Šonov se pohybovalo kolem 81,79 %. Po přepočtu vychází obsah kaseinu v tomto mléce na 4,50 gramu na 100 gramů ovčího mléka. Aganga et al. (2002) uvádí rozmezí pro obsah celkového kaseinu v ovčím mléce od 2,66 do 6,25 gramů na 100 gramů mléka. Mléko z farmy Krmelín i Šonov tedy odpovídají svým obsahem kaseinu danému rozmezí.

Průměrné relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka z farmy Krmelín  $57,57 \pm 12,73$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka z farmy

Šonov  $59,28 \pm 17,68$  %. Bramanti et al. (2003) uvádí relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu v ovčím mléce výrazně nižší a to 30 %.

Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S1-kaseinu bylo ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín  $28,73$  % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 9,06$  za období laktace. Jeho zastoupení se pohybovalo v rozmezí od  $10,55 \pm 1,05$  % do  $40,77 \pm 1,59$  %. Průměrné zastoupení  $\alpha$ S2-kaseinu ve vzorcích mléka z Krmelína odebraných během celé laktace činilo  $0,87 \pm 0,51$  %. Jeho zastoupení bylo v rozmezí od  $0,21 \pm 0,03$  % do  $1,98 \pm 1,33$  %. Relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo v těchto vzorcích mléka  $57,57 \pm 12,73$  a stanovené zastoupení se pohybovalo mezi  $36,89 \pm 1,06$  % a  $82,02 \pm 2,09$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\kappa$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka  $12,61$  % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 5,56$ . Jeho relativní zastoupení nabývalo hodnot od  $4,04 \pm 1,17$  % do  $20,98 \pm 0,69$  %.

Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S1-kaseinu bylo ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Šonov  $22,86$  % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 11,67$  za období laktace. Jeho zastoupení se pohybovalo v rozmezí od  $6,28 \pm 1,06$  % do  $34,75 \pm 3,35$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\alpha$ S2-kaseinu ve vzorcích mléka z Šonova odebraných během celé laktace činilo  $1,15 \pm 0,88$  %. Jeho zastoupení se pohybovalo v rozmezí od  $0,09 \pm 0,00$  % do  $2,24 \pm 0,03$  %. Průměrné relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu bylo v těchto vzorcích  $59,28 \pm 17,68$  %. Zastoupení  $\beta$ -kaseinu v celkovém obsahu kaseinu se pohybovalo mezi hodnotami  $37,47 \pm 2,57$  % a  $85,96 \pm 1,19$  %. Průměrné zastoupení  $\kappa$ -kaseinu bylo ve vzorcích mléka  $17,00$  % s výběrovou směrodatnou odchylkou  $\pm 6,36$ . Jeho relativní zastoupení nabývalo hodnot od  $7,66 \pm 0,13$  % do  $29,01 \pm 1,99$  %.

Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v celkovém obsahu kaseinu se v bazénových vzorcích mléka odebraných v dubnu roku 2018 na dvou různých farmách statisticky významně nelišila ( $P > 0,05$ ). V bazénových vzorcích mléka původem z obou farem, odebraných v červnu, již statisticky významné rozdíly nastaly. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán v obsahu  $\beta$ -kaseinu a  $\kappa$ -kaseinu ( $P < 0,05$ ). V obsahu bílkovinných frakcí  $\alpha$ S1- a  $\alpha$ S2-kaseinu nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl na dané hladině pravděpodobnosti ( $P > 0,05$ ).

Při sledování relativního zastoupení bílkovinné frakce  $\alpha$ S1-kaseinu v ovčím mléce, které bylo odebráno na farmě Krmelín, byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi bazénovým vzorkem odebraným v dubnu a dubnovými vzorky s PSB do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), všemi červnovými vzorky kromě mléka s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) a všemi vzorky, které byly odebrané v srpnu. Červnový odběr s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), srpnový bazénový vzorek, srpnový odběr s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně lišily

od bazénového vzorku a mléka s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraných v dubnu a mléka s vyšším počtem somatických buněk než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které bylo odebrané v červnu. Dubnový odběr s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně lišil od bazénového vzorku a vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v červnu a od vzorků odebraných v srpnu kromě mléka s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Červnové mléka s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně liší od bazénového vzorku odebraného v dubnu a srpnu a také od vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které bylo odebrané taktéž v srpnu. Mezi ostatními vzorky nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly.

U bílkovinné frakce  $\alpha$ S2-kaseinu byl zaznamenán statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebrán v dubnu a všemi ostatními vzorky odebranými na farmě Krmelín. U ostatních vzorků nebyl pozorován statisticky významný rozdíl.

U bílkovinné frakce  $\beta$ -kaseinu v mléce odebraném na farmě Krmelín byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi vzorkem ovčího mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v dubnu a bazénovým vzorkem odebraným v dubnu, mlékem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraným v červnu a všemi vzorky odebranými v srpnu kromě mléka s počtem somatických buněk od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Vzorek mléka s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu se statisticky významně liší od vzorků odebraných v dubnu kromě vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v červnu. Vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v dubnu a vzorek s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v červnu se statisticky významně liší od bazénového vzorku odebraného v dubnu, vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraného v červnu a vzorků odebraných v srpnu kromě vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Bazénový vzorek odebraný v srpnu, vzorek s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v červnu a vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v srpnu se statisticky významně liší od bazénového vzorku a vzorku s nejvyšším počtem somatických buněk, které byly odebrány v dubnu a vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v červnu. Statisticky významný rozdíl také existuje mezi vzorkem s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v dubnu, bazénovým vzorkem z června, vzorkem s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebrán v červnu, vzorkem s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v srpnu v porovnání se dubnovými vzorky kromě vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a vzorkem s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebrán v červnu. U dalších vzorků nebyl pozorován statisticky významný rozdíl.

V relativním zastoupení bílkovinné frakce  $\kappa$ -kaseinu u mléka z farmy Krmelín byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P > 0,05$ ) mezi bazénovým vzorkem odebraným v dubnu

a dubnovými vzorky s PSB do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), všemi červnovými vzorky kromě vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) a všemi vzorky odebranými v srpnu. Vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebrán v červnu, se statisticky významně liší od dubnového bazénového vzorku, červnového vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) a srpnového vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ). Dubnový vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně liší od bazénového vzorku a vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v červnu, a také od všech vzorků, které byly odebrané v srpnu. Červnový odběr s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně liší od bazénového vzorku a vzorku s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané také v červnu a dále všech vzorků, které byly odebrané v srpnu, kromě vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ). Další statisticky významný rozdíl byl pozorován mezi dubnovými vzorky s PSB do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), srpnovým vzorkem s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) a dubnovým bazénovým vzorkem se vzorkem s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), odebraným také v dubnu. Vzorek s PSB do 500 ( $10^3/\text{ml}$ ) odebraný v červnu a vzorek se stejným počtem somatických buněk odebraný v srpnu se statisticky významně liší od bazénového vzorku a vzorku s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), které byly odebrané v dubnu a červnovými vzorky s PSB vyšším než 500 ( $10^3/\text{ml}$ ). Červnový bazénový vzorek, srpnový bazénový vzorek a srpnový vzorek s PSB nad 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ) se statisticky významně liší od bazénového vzorku a vzorku s PSB nad 1000, které byly odebrané v dubnu a vzorku s PSB od 500 do 1000 ( $10^3/\text{ml}$ ), který byl odebraný v červnu. Mezi ostatními vzorky nebyl pozorován statisticky významný rozdíl na dané hladině pravděpodobnosti.

Rozdíly mezi studiiemi a výsledky této práce mohou být zapříčiněny chybami způsobenými při odběru a během manipulace se vzorky. V létě v roce 2018 byly nezvykle velmi vysoké teploty a v důsledku této skutečnosti mohlo dojít ke zkáze vzorku, která se následně projevila při rozmrazování uchovávaného vzorku. Například vzorek z farmy Krmelín, odebraný v červnu roku 2018, s počtem somatických buněk  $< 500 \times 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$  byl již po prvním rozmražení zkyslý. Mírně nakyslý byl i bazénový vzorek a vzorek s počtem somatických buněk  $< 500 \times 10^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ , odebraný na farmě Krmelín v srpnu roku 2018. K chybám mohlo dojít i přípravě vzorků k analýze rovněž v důsledku vysokých teplot v laboratoři, při nichž musely být vzorky z důvodu omezené trvanlivosti zpracovávány.

## 7 Závěr

- Nebyl prokázán vliv počtu somatických buněk nebo stádia laktace na obsah chloridů v ovčím mléce.
- Obsah draslíku klesal s počtem somatických buněk a s průběhem laktace ve vzorcích ovčího mléka z farmy Šonov, tedy v mléce východofríských ovcí. V mléce ovcí plemene lacaune z farmy Krmelín byl obsah draslíku v průběhu laktace i s počtem somatických buněk proměnlivý.
- Při stanovení obsahu sodíku v ovčím mléce byl zaznamenán stoupající trend s rostoucím počtem somatických buněk v mléce získaném z obou farem a v průběhu laktace na farmě Krmelín. Pouze na farmě Šonov obsah sodíku v mléce v průběhu laktace klesal.
- Pro obsah vápníku v mléce nebyl zaznamenán v závislosti na PSB žádný trend. Jeho množství v mléce bylo stále přibližně stejné, pouze v mléce z farmy Šonov na rozdíl od mléka původem z Krmelína vzrůstal obsah vápníku v průběhu laktace.
- Při stanovení jednotlivých bílkovinných frakcí bylo zjištěno, že relativní zastoupení obsahu  $\alpha$ S2- a  $\kappa$ -kaseinu v celkovém množství kaseinu v průběhu laktace klesalo, kdežto relativní zastoupení frakcí  $\alpha$ S1- a  $\beta$ -kaseinu stoupalo.
- Počet somatických buněk v ovčím mléce sledovaných plemen neměl vliv na zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí.
- Při porovnání obou chovů, tedy ekologického na farmě Šonov, kde chovají východofríské ovce a konvenčního chovu farmy Krmelín, kde chovají ovce plemene lacaune lze říci, že na obsah minerálních látek až na obsah sodíku, bylo bohatší mléko plemene lacaune odebrané v ekologickém chovu farmy Šonov.

## 8 Literatura

1. Aganga AA, Amarteifio JO, Nikile N. 2002. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis* 15, pp. 533–543.
2. Al-Wabel NA. 2008. Mineral contents of milk of cattle, camels, goats, and sheep in the central region of Saudi Arabia. *Asian Journal of Biochemistry* 3:373–5.
3. Amigo L, Recio I, Ramos M. 2000. Genetic polymorphism of ovine milk proteins: Its influence on technological properties of milk: A review. *International Dairy Journal* 10, pp. 135–149.
4. Anifantakis EM. 1986. Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk. Pages 42–53 in *Proceedings, IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk*. Sept. 23–25, 1985, Athens, Greece, International Dairy Federation Publ., Brussels, Belgium, Bulletin No. 202.
5. Balthazar CF, Pimentel TC, Ferrao LL, Almada CN, Santilo A, Albenzio M, Mollakhalili N, Mortazavian AM, Nascimento JS, Silva MC, Freitas MQ, Sant'Ana AS, Granato D, Cruz AG. Sheep Milk: Physicochemical Characteristics and Relevance for Functional Food Development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16, pp. 247–262.
6. Balthazar CF, Silva HLA, Vieira AH, Neto RPC, Cappato LP, CoimbraPT, Moraes J, Andrade MM, Calado VMA, Granato D, Freitas MQ, Tavares MIB, Raices RSL, Silva MC, Cruz AG. 2017. Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International* 91, pp. 38–46.
7. Barłowska J, Sz wajkowska M, Litwinczuk Z, Król J. 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 10, pp. 291–302.
8. Bon Lait. Bon Lait gurmánská minimlékárna [online]. 2019. [cit. 2019-4-2]. Dostupné z <<https://www.bonlait.cz/o-nas/>>.
9. Bornaz S, Sahli ALI, Attalah A, Attla H. 2009. Physicochemical characteristic and renneting properties of camels' milk: a comparison with goats', ewes' and cows' milks. *International Journal of Dairy Technology* 62, pp. 505–513.
10. Bramanti E, Sortino CH, Onor M, Beni F, Raspi G. 2003. Separation and determination of denatured  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-,  $\beta$ - and  $\kappa$ -caseins by hydrophobic interaction

- chromatography in cow's, ewe's and goat's milk, milk mixtures and cheeses. *Journal of Chromatography* 994(1-2), pp. 59–74.
11. Brozos C, Saratsis Ph., Boscós C, Kyriakis SC, Tsakalof P. 1998. Effects of long-term recombinant bovine somatotropin (bST) administration on milk yield, milk composition and mammary gland health of dairy ewes. *Small Ruminant Research* 29, pp. 113–120.
  12. Bylund G. 1995. *Dairy Processing Handbook*. Teknotext (ed.), Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden.
  13. Campbell JR., Marshall RT. 1975. *The Science of Providing Milk for Man*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY, 801 p.
  14. Claeys WL, Verraes C, Cardoen S, De Block J, Huyghebaert A, Raes K, Dewettinck K, Herman L. 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control* 42, pp. 188–201.
  15. Coni E, Bocca B, Caroli S. 1999. Minor and trace element content of two typical Italian sheep dairy products. *Journal of Dairy Research* 66, pp. 589–598.
  16. Dario C, Carnicella D, Dario M, Bufano G. 2008. Genetic polymorphism of  $\beta$ -lactoglobulin gene and effect on milk composition in Leccese sheep. *Small Ruminant Research* 74:270–3.
  17. Coop IE. 1982. *Sheep and Goat Production*. Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam, Netherlands, World Animal Science Series C1, 492 p.
  18. Fantuz F, Ferraro S, Todini L, Piloni R, Mariani P, Salimei E. 2012. Donkey milk concentration of calcium, phosphorus, potassium, sodium and magnesium. *International Dairy Journal* 24, pp. 143–145.
  19. Farma Šonov. Ovčí farma a výrobce mléčných potravin [online]. 2019. [cit. 2019-4-2]. Dostupné z <<https://farmasonov.cz/>>.
  20. Foglietta F, Serpe L, Canaparo R, Vivenza N, Riccio G, Imbalzano E, Gasco P, Zara GP. 2014. Modulation of butyrate anticancer activity by solid lipid nanoparticle delivery: an in vitro investigation on human breast cancer and leukemia cell lines. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 17:231–47.
  21. Gantner V, Mijić P, Baban M, Škrtić Z, Turalija A. 2015. The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo* 65:223–31.



22. Gasser H. 1997. Management of a dairy sheep flock and production of value-added cheeses. Pages 1–4 in Proceedings of 3rd Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Department of Animal Sciences, University of Wisconsin, Madison.
23. Gaucheron F. 2013. Milk minerals, trace elements, and macroelements. In: Park YW, Haenlein GFW (Eds.), Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health. John Wiley & Sons, Oxford, p. 172–199.
24. Guedes TDJ, Alecrim MF, Oliveira FM, Lima AB, Barbosa SL, Santos WTPD. 2015. Determination of prazosin in pharmaceutical samples by flow injection analysis with multiple-pulse amperometric detection using boron-doped diamid electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry* 20, pp. 1–7.
25. Guéguen L. 1996. La Valeur Nutritionnelle Mineérale du lait de Chèvre. In: Freud G (Ed.), Intérêts Nutritionnel et Diététique du lait de Chèvre. Institut National de La Recherche Agronomique, Niort, France, p. 68–80.
26. Gueguen L, Pointillart A. 2000. The bioavailability of dietary calcium. *The Journal of the American College of Nutrition* 19, pp. 119–136.
27. Haenlein GFW. 2001. The nutritional value of sheep milk. *International Journal of Animal Science* 16, pp. 253–268.
28. Haenlein GFW. 2001. Past, present and future perspectives of small ruminant dairy research. *Journal of Dairy Science* 84:2097–115.
29. Haenlein GFW, Wendorff WL. 2006. Sheep Milk. *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Edited by Park YW, Haenlein GFW. Copyright © 2006 by Blackwell Publishers. pp. 137 – 194.
30. Hughes S, Johnson DC. 1981. Amperometric detection of simple carbohydrates at platinum electrodes in alkaline solutions by application of triple-pulse potential waveform. *Analytica Chimica Acta* 132, pp. 11–22.
31. Chetty AA, Surendra P. 2015. Flow injection analysis of nitrate and nitrite in commercial baby foods. *Food Chemistry* 197, pp. 503–508.
32. Chianese L. 1997. The casein variants of ovine milk and the relationships between the  $\alpha_{s1}$ -casein variants and milk composition, micellar size and cheese yield. In *Caseins and caseinates: Structures, interactions, networks*. Hannah symposium. Scotland, United Kingdom.
33. Chianese L, Garro G, Addeo F, López-Gálvez G, Ramos M. Discovery of an ovine  $\alpha_{s2}$ -casein variant. *Journal of Dairy research* 60, pp. 485–493.

34. IDF. 2001. Influence of feed on major components of milk. International Dairy Federation Publications, Brussels, Belgium, Bulletin 366, 77 p.
35. Ivanova S. 2011. Dynamical changes in the trace element composition of fresh and lyophilized ewe's milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 17, pp. 25–30.
36. Jamaluddin Ahmed M, Smith RM. 2015. Determination of stevioside by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Separation Science* 25, pp. 170–172.
37. Jollès J, Fiat AM, Schoentgen F, Alais C, Jollès P. 1974. The amino acid sequence of sheep  $\kappa$ -casein. II Sequence studies concerning the  $\kappa$ -caseinoglycopeptide and establishment of the complete primary structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta* 365, pp. 335-343.
38. Jolley S, Koppang M, Jackson T, Swain GM. 1997. Flow injection analysis with diamid thin-film detectors. *Analytical Chemistry* 69, pp. 4099–4107.
39. Juarez M, Ramos M. 1984. Dairy products from ewe's and goat's milk. *Dairy Industries International* 49, pp. 20–24.
40. Kaminarides S, Stamou P, Massouras T. 2007. Comparison of the characteristics of set-type yoghurt made from ovine milk of different fat contents. *International Journal of Food Science and Technology* 42:1019–28.
41. Kehagias, CH, Dalles TN. 1984. Bacteriological and biochemical characteristics of various types of yogurt made from sheep's and cow's milk. *Journal of Food Protection* 47, pp. 760–761.
42. Kehagias C, Komiotis A, Koulouris S, Koroni H, Kazazis J. 1986. Physio-chemical properties of set type yogurt made from cow's, ewe's and goat's milk. *Bulletin of the International Dairy Federation* 202, pp. 167–169.
43. Kiszka J, Domagała J, Wszołek M, Loiczak T. 1993. Yoghurts from sheep milk. *Acta Acad. Agr. Tech. Olst.* 25, pp. 78–87.
44. Kosikowski FV, Mistry VV. 1997. *Cheese and Fermented Milk Foods, Vol. I: Origins and Principles*. F.V. Kosikowski, LLC, Westport, CT, 728 p.
45. Kuchtík, J. Užitkové vlastnosti ovčí [online]. 2015. [cit. 2019-4-2]. Dostupné z <<http://www.chovzvirat.cz/clanek/729-uzitkove-vlastnosti-ovci/>>.
46. Kuchtík J, Hošek M, Axmann R, Milerski M. 2007. *Chov ovčí*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno. 112 p.
47. Larson, BL. (ed.). 1985. *Lactation*. Iowa State University Press, Ames, IA, 276 p.

48. Lee JW, Yeo IH. 2001. Integrated pulsed amperometry for the analysis of organic compounds. *Microchemical Journal* 70, pp. 173–177.
49. Maroušková N. 2018. Vliv počtu somatických buněk na obsah sodíku, draslíku a chloridů v mléce malých přežvýkavců. Česká zemědělská univerzita v Praze. 70 p.
50. Martin P, Addeo F. 1996. Genetic polymorphism of casein in the milk of goats and sheep. Pages 45–58 in *Proceedings IDF-CIRVAL Seminar Production and Utilization of Ewe and Goat Milk*, Oct. 19–21, 1995, Crete, Greece, International Dairy Federation Publ., Brussels, Belgium.
51. Mayer HK, Fiechter G. 2012. Physicochemical characteristic of goat's milk in Austria – seasonal variations and differences between six Leeds. *International Dairy Journal* 24, pp. 57–63.
52. Medina RB, Oliszewska R, Abeij'on Mukdsia MC, van Nieuwenhovea CP, González SN. 2011. Sheep and goats dairy products from South America: microbiota and its metabolic activity. *Small Ruminant Research* 101, pp. 84–91.
53. Mills O. 1989. *Practical Sheep Dairying*. 2nd revised edition, Thorsons Publishing Group, Wellingborough, Northamptonshire, U.K., 320 p.
54. Ministerstvo zemědělství. 2018. Situační a výhledová zpráva – ovce a kozy. Praha. ISBN 978-80-7434-424-4.
55. Moioli B, Pilla F, Tripaldi C. 1998. Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats: A review. *Small Ruminant Research* 27, pp. 185–195.
56. Molik E, Bonczar G, Misztal T, Zebrowska A, Zieba D. 2012. The effect of the photoperiod and exogenous melatonin on the protein content in sheepmilk. In: Hurley WL, editor. *Milk protein*. 1st ed. Rijeka: Intech.
57. Morgan F, Gaspard CE. 1999. Influence of somatic cells on technological properties of goat milk and on characteristics of goat cheese. *Renc. Rech. Rumin.* 6:317.
58. Nabi A, Rashid A, Yaqoob M. 1996. Flow injection analysis of hydrogen peroxide with peroxyoxalate chemiluminescence detection. *Journal of The Chemical Society of Pakistan* 18, pp. 211–213.
59. *Náš chov*. Plemeno měsíce: lacaune. 2015. *Náš chov: odborný časopis pro chovatele hospodářských zvířat a veterinární lékaře*, pp. 14–15 .
60. Nguyen HD, Nguyen TTL, Nguyen KM, Nguyen AM, Nguyen QH. 2015. Amperometric detection of carbohydrates based on the glossy carbon electrode

- modified with gold nano-flake layer. *Analytical and Bioanalytical Research*. 5, pp. 14–20.
61. O’Kane G, Wilbey RA. 1990. The influence of protein levels on the quality of sheep’s milk ice cream. *Journal of the Society of Dairy Technology* **43** (3):77–78.
  62. Omar A, Harbourne N, Oruna-Concha MJ. Quantification of major camel milk proteins by capillary electrophoresis. *International dairy Journal* **58**:31–35.
  63. Park YW, Juárez M, Ramos M, Haenlein GFW. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminants Research* **68**, pp. 88–113.
  64. Peng T, Ming L, Tu Y. 2015. A new designed cell for luminal based electrochemiluminescence by bi-potentiostatic excitation for flow-injection analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **738**, pp. 8–13.
  65. Pirisi A, Piredda G, Corona M, Pes M, Pintus S, Ledda A. 2000. Influence of somatic cell count on ewe’s milk composition, cheese yield and cheese quality. In: Thomas, D. L., Poeter, S. (eds.) *Proceedings of Sixth Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Canada. pp. 47-59.
  66. Pirisi A, Piredda G, Papoff CM, di Salvo R, Pintus S, Garro G, Ferranti P, Chianese L. 1999. Effects of sheep  $\alpha$ -s-1-casein CC, CD and DD genotypes on milk composition and cheesemaking properties. *Journal of Dairy Research* **66**, pp. 409–419.
  67. Ramos M, Juarez M. 2003. Sheep milk. Pages 2539–2545 in Hubert Roginski, John W. Fuquay, and Patrick F. Fox (eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, 4 vol.
  68. Rasmussen N, Andersen JH, Jespersen H, Mouritsen OG, Ditzel HJ. 2010. Effect of free fatty acids and lysolipids on cellular uptake of doxorubicin in human breast cancer cell lines. *Anticancer Drugs* **21**:674–7.
  69. Raynal-Ljutovac K, Lagriifoul G, Paccard P, Guillet I, Chilliard Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research* **79**, pp. 57–72.
  70. Recio I, Amigo L, López-Fandiño R. 1997. Assessment of the quality of dairy products by capillary electrophoresis of milk proteins. *Journal of Chromatography B*, **697**, pp. 231–242.

71. Recio I, de la Fuente A, Juárez M, Ramos M. 2009. Bioactive compounds in sheep milk. In: Park YW, editor. Bioactive compounds in milk and dairy products. Iowa: Wiley-Blackwell, pp. 83–104, Chapter 4.
72. Recio I, Ramos M, Amigo L. 1997. Study of the polymorphism of ovine  $\alpha_{s1}$ - and  $\alpha_{s2}$ -caseins by capillary electrophoresis. *Journal of Dairy Research* 64, pp. 525–534.
73. Revilla I, Escuredo O, González-Martín MI, Palacios C. 2017. Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. *Food Chemistry* 214:468-77.
74. Rohrer JS, Basumallick L, Hurum D. 2013. High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection for carbohydrate analysis of glycoproteins. *Biochemistry* 78, pp. 697–709.
75. SCHOK. Svaz chovatelů ovcí a koz – Romanovská ovce. [online]. 2015a. [cit. 2019-20-3]. Dostupné z <<https://www.schok.cz/plemena-ovci/plemena-plodna/romanovska-ovce-r>>.
76. Selvaggi M, Laudadio V, Dario C, Tufarelli V. 2014a. Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: an useful tool for dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:3090–9.
77. Selvaggi M, Laudadio V, Dario C, Tufarelli V. 2014b. Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Molecular Biology Reports* 41:1035–48.
78. Štolc L, Nohejlová L. 2006. Mléčná plemena ovcí a jejich využití v ČR. *Den mléka* 2006. Česká zemědělská univerzita. 2 p.
79. Tamime AY, Wszolek M, Božanić R, Özer B. 2011. Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research* 101, pp. 2–16.
80. Semjan, Š. 1994. *Mliekarstvo*. Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra. 84 p.
81. Wendorff WL. 2001a. Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.):E74 – E78.
82. Wilbey RA, Allen R, Anstis J, Cameron F. 1995. Manufacture of ice cream from ewe milk. Page 218–220 in *Proceedings of the IDF seminar on the production and utilization of ewe and goat milk*, Crete (Greece). International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
83. Wijesinha-Bettoni R, Burlingame B. 2013. Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D, editors. *Milk and dairy products in human nutrition*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

84. Wszolek M., Tamime AY, Muir DD, Barclay MNI. 2001. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 34, pp. 251–261.
85. Wu W, Xiao Q, Ping Z, Mei Y, Wan Y, Liang H. 2015. Rapid measurement of free cyanide in Libor by ion chromatography with pulsed amperometric detection. *Food Chemistry* 172, pp. 681–684.
86. Xingguang Ch, Beibei Ch, Huiting X, Junjun X, Lizhi L, Huifeng P, Danwen D, Ganhui H. 2018. Determinativ of chlorine ions in raw milk by pulsed amperometric detection in flow injection system. *Journal of Dairy Science* **101**:11–9647.
87. Yan Z, Zhang Z, Yu Y, Liu Z, Chen J. 2016. Chemiluminescence determinativ of potassium bromate in flour based on flow injection analysis. *Food Chemistry* 190, pp. 20–24.
88. Zootechnika. Plemena masná [online]. 2011a. [cit. 2019-11-3]. Dostupné z <<http://www.zootechnika.cz/clanky/chov-ovci/plemena-ovci/plemena-masna.html>>.
89. Zootechnika. Plemena plodná [online]. 2011b. [cit. 2019-11-3]. Dostupné z <<http://www.zootechnika.cz/clanky/chov-ovci/plemena-ovci/plemena-plodna.html>>.
90. Zootechnika. Plemena s kombinovanou užítkovostí [online]. 2011c. [cit. 2019-11-3]. Dostupné z <<http://www.zootechnika.cz/clanky/chov-ovci/plemena-ovci/plemena-s-kombinovanou-uzitkovosti.html>>.

## 9 Citace obrázků

### Obrázek 1

[1]

<https://www.facebook.com/713996215377660/photos/a.838792852897995/857085521068728/?type=3&theater> (3.2.2019)

### Obrázek 2

[2] <https://www.bonlait.cz/o-nas/#&gid=1&pid=6> (3.2.2019)

### Obrázek 3

[3] <http://img2.ct24.cz/cache/900x700/article/41/4045/404437.jpg> (3.2.2019)

### Obrázek 4

[4] <https://www.regionalnipotravina.cz/ocenene-regionalni-potraviny/kralovehradecky-kraj/bio-ovci-mleko/> (3.2.2019)

### Obrázek 5

[5] Zdroj autor.

### Obrázek 6

[6] Zdroj autor.

### Obrázek 7

[7] Zdroj autor.

### Obrázek 8

[8] Zdroj autor.

### Obrázek 9

[9] Zdroj autor.

### Obrázek 10

[10] Zdroj autor.

### Obrázek 11

[11] Zdroj autor.

## 10 Přílohy

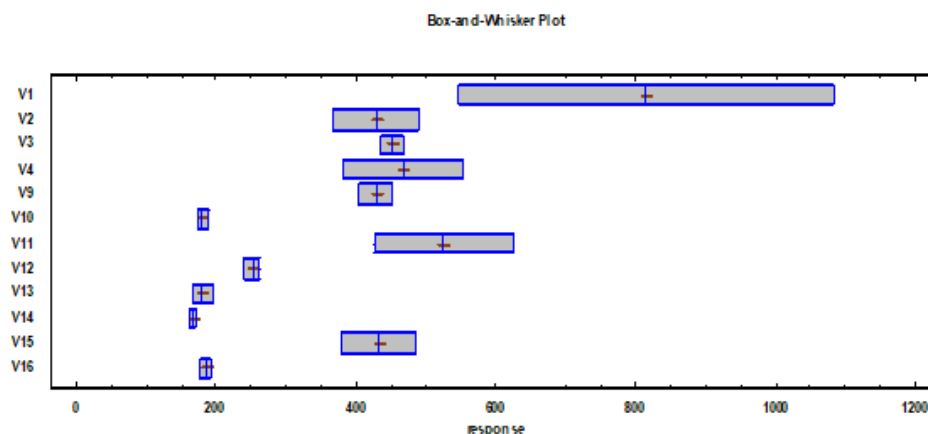
Příloha 1. Multiple range test pro obsah chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín.

	Count	Mean	Homogeneous Groups
V15	2	59.387	X
V16	2	61.1505	X
V10	2	91.2918	X
V13	2	93.0657	XX
V3	2	100.163	XXX
V1	2	101.012	XXX
V4	2	101.061	XXX
V14	2	102.798	XX
V9	2	105.477	X
V2	2	106.354	X
V12	2	109.031	X
V11	2	123.193	X

Příloha 2. ANOVA tabulka pro obsah draslíku ve vzorcích farmy Krmelín.

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.74039E9	11	1.58217E8	1.72	0.1410
Within groups	1.84136E9	20	9.20681E7		
Total (Corr.)	3.58175E9	31			

Příloha 3. Box and Whisker test pro relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu ve vzorcích mléka z farmy Krmelín.





## 11 Seznamy

### 11.1 Seznam tabulek

**Tabulka 1.** Podmínky gradientové eluce.

**Tabulka 2.** Meze detekce a meze stanovitelnosti sledovaných analytů.

**Tabulka 3.** Obsah chloridů ve vzorcích ovčího mléka z Krmelína – konvenční chov (průměr ze dvou paralelních opakování).

**Tabulka 4.** Obsah chloridů ve vzorcích ovčího mléka z Šonova – ekologický chov (průměr ze dvou paralelních opakování).

**Tabulka 5.** Obsah draslíku, sodíku a vápníku v lyofilizovaných vzorcích mléka.

**Tabulka 6.** Obsah mikronutrientů v čerstvém ovčím mléce v průběhu laktace – Krmelín.

**Tabulka 7.** Obsah mikronutrientů v čerstvém ovčím mléce v průběhu laktace – Šonov.

**Tabulka 8.** Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích ovčího mléka odebraného na farmě Krmelín

**Tabulka 9.** Relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kaseinu ve vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov.

### 11.2 Seznam grafů

**Graf 1.** Průměrný obsah chloridů v ovčím mléce farmy Krmelín a Šonov během laktace.

**Graf 2.** Průměrný obsah draslíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.

**Graf 3.** Průměrný obsah sodíku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.

**Graf 4.** Průměrný obsah vápníku v lyofilizovaných bazénových vzorcích ovčího mléka.

**Graf 5.** Průměrné relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Krmelín.

**Graf 6.** Průměrné relativní zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v celkovém kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebraných na farmě Šonov.

### 11.3 Seznam obrázků

**Obrázek 1.** Ovce z farmy Krmelín – plemeno lacaune. [1]

**Obrázek 2.** Výrobky z farmy Krmelín. [2]

**Obrázek 3.** Východofříská ovce z farmy Šonov. [3]

**Obrázek 4.** Výrobky farmy Šonov. [4]

**Obrázek 5.** Vzorek mléka před a po argentometrické titraci. [5]

**Obrázek 6.** Váženky se sušeným mlékem, referenčním materiálem a dva slepé vzorky. [6]

**Obrázek 7.** Mikrovlnná pec Berghof MWS 3+ speedwave. [7]

**Obrázek 8.** Topná deska se vzorky k odpaření. [8]

**Obrázek 9.** Vzorky připravené k naředění. [9]

**Obrázek 10.** Inkubující se vzorky. [10]

**Obrázek 11.** Vzorky připravené k analýze HPLC. [11]

## **11.4 Seznam příloh**

**Příloha 1.** Multiple range test pro obsah chloridů ve vzorcích mléka z farmy Krmelín.

**Příloha 2.** ANOVA tabulka pro obsah draslíku ve vzorcích farmy Krmelín.

**Příloha 3.** Box and Whisker test pro relativní zastoupení  $\beta$ -kaseinu ve vzorcích mléka z farmy Krmelín.