

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Vliv nového typu krmivových doplňků na kvalitu kravského mléka

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Barbora Chmelová

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miroslavě Potůčkové za odborné vedení a podnětné nasměrování v problematice, které jsem se věnovala v mé diplomové práci. Děkuji velice za trpělivost, která dalece překročila hranice času určeného pro konzultace.

Vliv nového typu krmivových doplňků na kvalitu kravského mléka

Souhrn

Cílem diplomová práce bylo charakterizovat vliv suplementace humáty na složení (čisté a syrovátkové bílkoviny, nebílkovinné dusíkaté látky, popeloviny, volné mastné kyseliny, citráty a močovina), fyzikálně-chemické (bod mrznutí) a technologické (syřitelnost a termostabilita) vlastnosti kravského mléka. Do pokusu bylo zařazeno celkem 10 krav (český strakatý skot, český strakatý skot křížený s ayrshirským skotem a český strakatý skot křížený s holštýnským červeným skotem) s pořadím laktace 1, 2, 3 a 6. Zvířata byla náhodně rozdělena do 2 skupin po 5, kontrolní (standardní krmná dávka) a experimentální (standardní krmná dávka + humáty ve formě 12 g.d⁻¹ přípravku HUMAFIT, ReConsulting a.s., CZ). Experimentální perioda čítala 3 kalendářní měsíce, během nichž proběhlo celkem 7 odběrů syrového kravského mléka.

Veškeré zkoumané vzorky splnily zákonodárné požadavky, které ukládá Vyhláška č. 77/2003 Sb. Bylo pozorováno, že přídavek humátů do krmné dávky dojnic zvyšoval množství čistých bílkovin a popelovin ($p \leq 0,05$). Pravděpodobně mohl též pozitivně působit na obsah syrovátkových bílkovin, nebílkovinného dusíku, volných mastných kyselin a citrátů, avšak zde nelze jednoznačně vyloučit ani další faktory. V případě bodu mrznutí, jež odpovídal během celého pokusu standardnímu syrovému kravskému mléku (-0,54 až -0,59 °C), syřitelnosti, která byla po celou dobu experimentu dobrá (≤ 5 až 7 min), a termostability, jež byla naopak stále špatná, vliv suplementace humáty jednoznačně taktéž prokázán nebyl.

Klíčová slova: humáty, krmivo, mléčný hovězí dobytek, Sachalinský Leonardit, složení mléka

Effect of a new type nutritional supplementation on milk quality in dairy cows

Summary

The aim of the diploma thesis was to characterise the effect of humate's supplementation on composition (pure and whey proteins, non-protein nitrogen, ash, free fatty acids, citric acid and urea), physico-chemical (freezing point) and technological (cheeseability and thermostability) properties of cow milk. In the current experiment were used 10 dairy cows (Czech pied cattle, Czech pied cattle × Ayrshire cattle and Czech pied cattle × Holstein red cattle) as research animals. Their lactation period was no. 1, 2, 3 and 6. Cows were randomly divided into 2 groups with 5 animals per group, control (standard feed mixture) and experimental (standard feed mixture + humates in form of 12 g.d⁻¹ HUMAFIT, ReConsulting a.s., CZ). The experimental period took 3 months with 7 samplings of raw milk.

All samples were in compliance with the legislative requirements imposed by Decree No. 77/2003 Coll. It was observed that humate's supplementation increased pure protein and ash content ($p \leq 0.05$). Humate's application could probably have positive effect on the whey protein, non-protein nitrogen, free fatty acid and citrate content but in this case could not be excluded also other factors. It was not observed effect of humate's supplementation on freezing point, which was during the whole experiment standard (-0.54 to -0.59 °C), cheeseability, which was during the whole experimental period good (≤ 5 to 7 min), and thermostability, which was constantly bad.

Keywords: humates, feed, dairy cattle, Sakhalin Leonardite, milk composition

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Kravske mléko	3
3.1.1	Složení kravského mléka	3
3.1.2	Faktory ovlivňující kvalitu mléka	4
3.2	Vliv krmivových doplňků na kvalitu kravského mléka	5
3.2.1	Citrusy	6
3.3	Vliv přídatku humátů do krmné dávky na kvalitu kravského mléka	8
3.3.1	Charakteristika humátů	8
3.3.2	Specificky efektivní látky v humátech a jejich působení	9
3.3.3	Vliv přídatku humátů do krmné dávky hospodářských zvířat	10
4	Materiály a metody	12
4.1	Materiály	12
4.1.1	Kravske mléko	12
4.1.2	Huminové látky	13
4.1.3	Použité chemikálie	13
4.2	Použité přístroje	14
4.3	Analytické metody	15
4.3.1	Stanovení obsahu vybraných složek a fyzikálně-chemických vlastností kravského mléka infračervenou spektroskopií	15
4.3.2	Stanovení obsahu čistých bílkovin v kravském mléce	15
4.3.3	Stanovení obsahu syrovátkových bílkovin a nebílkovinných dusíkatých látek v kravském mléce	16
4.3.4	Stanovení obsahu popelovin v kravském mléce	16
4.3.5	Stanovení syřitelnosti kravského mléka	17
4.3.6	Stanovení termostability kravského mléka	18
4.4	Statistická analýza	19
5	Výsledky	20
5.1	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah čistých bílkovin v mléce ..	20
5.2	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah syrovátkových bílkovin v mléce	22
5.3	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah nebílkovinných dusíkatých látek v mléce	24
5.4	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah popelovin v mléce	26
5.5	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah volných mastných kyselin v mléce	28

5.6	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah citrátů v mléce	30
5.7	Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah močoviny v mléce	32
5.8	Účinek přídatku humátů v KD krav na fyzikálně-chemické a technologické parametry mléka.....	34
5.8.1	Bod mrznutí	34
5.8.2	Syřitelnost	36
5.8.3	Termostabilita	38
6	Diskuze.....	39
7	Závěr	42
8	Seznam literatury	43
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	48
10	Přílohy.....	49
10.1	Seznam obrázků	49
10.2	Seznam tabulek.....	50

1 Úvod

Mléko a mléčné výrobky jsou pro svou vysokou nutriční hodnotu dlouhodobě oceňovány jako významná součást zdravé lidské stravy. V mléku se nacházejí jak energetické sloučeniny (lipidy, proteiny a sacharidy), tak v menším množství neenergetické složky zahrnující mikroelementy (minerály, vitamíny a další stopové prvky) a ostatní elementy (karotenoidy, polyfenoly apod.). Některé mléčné komponenty jsou biologicky aktivní a bylo potvrzeno, že jsou schopny působit proti vzniku nebo rozvoji arteriosklerózy, cukrovky, osteoporózy, vysokého krevního tlaku a dalších civilizačních chorob.

Na obsah látek v mléce může mít vliv mnoho faktorů, mezi něž je možno zahrnout mezi jinými výživu, zdravotní stav, stáří, fázi laktace a genetické faktory. Právě výživa zvířat pak působí jedním z rozhodujících účinků na složení mléka, proto jsou po celém světě testovány různé druhy krmiv se záměrem zvyšování jeho kvality a nutriční hodnoty. V posledních letech se studie v této oblasti zaměřily na používání aditiv přírodního původu, zejména rostlinných.

Mezi přírodní složky rostlinného původu, které mohou působit na kvalitu živočišných produktů (maso, mléko, vejce), je možno řadit primární metabolity rostlin (např. aminokyseliny, mastné kyseliny, sacharidy), sloučeniny potřebné pro vnitřní látkovou výměnu (enzymy, karotenoidy atd.) či druhotné produkty látkové výměny (alkaloidy, alkoholy, flavonoidy, organické kyseliny, saponiny apod.). Použití rostlinných materiálů a vedlejších produktů by tak mohlo mít příznivý vliv na snižování nákladů na výrobu a současně na složení živočišných výrobků. Jednu ze zajímavých skupin suplementů spadajících do této kategorie tvoří sloučeniny humózní podstaty (např. fulvinové a huminové kyseliny), na jejichž využití ve výživě hovězího mléčného dobytka byla zaměřena tato diplomová práce.

2 Cíle práce

Cílem diplomové práce bylo v teoretické části zpracování literární rešerše shrnující současné poznatky o huminových látkách, jejich vlastnostech a využití jako krmné suroviny pro hospodářská zvířata, resp. dojnice. V praktické části pak bylo provedeno měření vzorků kravského mléka pocházejícího od dojnic krmených běžným způsobem a dojnic, jejichž krmná dávka obsahovala přídavek huminových látek, s cílem porovnání jejich vybraných složek, fyzikálně-chemických a technologických vlastností.

Hypotézou diplomové práce je, že suplementace huminovými látkami ovlivňuje složení, fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti kravského mléka.

3 Literární rešerše

3.1 Kravské mléko

Syrové kravské mléko je významnou potravinářskou surovinou, která je zpracovávána na celou řadu dalších produktů. Dle Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004 v aktuálním znění, je definováno jako produkt sekrece mléčné žlázy hospodářských zvířat (krav), který nebyl podroben ohřevu nad 40 °C nebo ošetření s rovnocenným účinkem (Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004).

3.1.1 Složení kravského mléka

Syrové kravské mléko je složeno z hlavních (voda, sacharidy, lipidy, proteiny) a vedlejších komponentů. V objemu 100 g neupraveného kravského mléka jsou průměrně obsaženy v následujících množstvích: 87,6 g vody, 4,5 g sacharidů (laktózy), 3,9 g tuku, 3,3 g bílkovin, 155 mg draslíku, 118 mg vápníku, 93 mg fosforu, 89 mg chlóru, 43 mg sodíku, 11 mg hořčíku, 0,400 mg zinku, 0,030 mg železa, 0,031 mg jódu, 0,001 mg selenu, stopy mědi a manganu, 2 mg vitamínu C, 0,23 mg riboflavinu, 0,20 mg niacinu, 0,08 mg vitamínu E, 0,06 mg vitamínu B6, 0,03 mg thiaminu, 0,02 mg karotenu, 0,0009 mg vitamínu B12 a stopové množství vitamínu D (McCance et Widdowson's, 2008).

Laktóza, hlavní sacharid mléka, tvoří cca 4,5 % hm. Je významná nejen svou energetickou hodnotou, ale rovněž příznivým působením na střevní mikroflóru, čímž přispívá k lepší využitelnosti některých živin.

Tučnost mléka v České Republice chovaných krav se pohybuje zhruba okolo 4 % hm (3,9 % hm.). Mléčný tuk je souborem lipidů emulgovaných v podobě mikročástic (tukových kuliček) ve vodném prostředí. Tyto lipidy představují zejména triacylglyceroly (97 - 98 %), zbytek tvoří fosfolipidy (0,2 - 1,0 %), volné steroly (0,2 - 0,4 %) a ve stopách volné mastné kyseliny. Přibližně 62 % z celkového množství mastných kyselin je nasycených, 34 % mononenasycených a 4 % polynenasycených. V tukové složce mléka jsou také přítomny lipofilní vitamíny (A, D, E, K).

Nejhodnotnější látkou pro lidskou výživu obsaženou v kravském mléce jsou zejména vysoce využitelné proteiny (min. cca 3,2 % hm.), které lze dělit na 2 hlavní kategorie, kaseinovou a syrovátkovou frakci. Kaseinové bílkoviny jsou složeny z α_S -kaseinu (42 %), β -kaseinu (25 %), κ -kaseinu, λ -kaseinu a γ -kaseinu. Hlavní podíl syrovátkových proteinů (70 - 80 %) je tvořen částicemi β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu, zbytek tvoří sérový

albumin, imunoglobuliny, laktoferrin, glykomakropeptid a enzymy. Mléčné bílkoviny jsou též zdrojem prekurzorů biologicky aktivních látek (Červený, 2004).

Kravske mléko je rovněž zdrojem významných minerálních látek, vitamínů a dalších stopových prvků. V zemích Evropy se mléko a mléčné produkty podílí na celkovém příjmu vápníku z 60 - 80 %. Vápenaté kationty vytvářejí s mléčnými proteiny rozpustné komplexy a v této podobě je pak tento makroelement pro člověka snadno vstřebatelný. Kromě vitamínů rozpustných v tucích (viz výše) jsou v mléce rozpuštěny rovněž hydrofilní vitamíny (thiamin, niacin, riboflavin, kyselina pantothenová, kyanokobalamin, kyselina askorbová, pyridoxin a kyselina listová). (Opletal et Šimerda, 2015; Walstra et al., 2006).

3.1.2 Faktory ovlivňující kvalitu mléka

Složení mléka je z biologického hlediska ovlivněno genetickým základem dojnic a jejich plemennou příslušností. Frelich (2011) však uvádí, že hodnota koeficientu dědičnosti je nízká (0,2 - 0,3) a na produkci mléka má tedy vliv především vnější prostředí, tedy stádium a pořadí laktace, stáří zvířete při jeho prvním otelení, zdravotní stav, výživa a krmení a technologie ustájení (Frelich, 2011; Harris et al., 1998).

Výživa mléčných krav tvoří jeden z rozhodujících faktorů, jež ovlivňují jejich produktivitu a složení mléka. Krmná dávka by měla být odpovídající fyziologickému stavu zvířete, jeho kondici, fázi reprodukčního cyklu či současné výši mléčné užitkovosti. Měla by být vyvážená vhodným zastoupením živin a samozřejmě zdravotně nezávadná. Pokud nemají vysokoprodukční dojnice dostatek energie a základních živin, nemůže se zcela uplatnit jejich vysoký potenciál. Nedostatky ve výživě pak zároveň mohou způsobovat metabolické poruchy (Theurer, 1986).

3.2 Vliv krmivových doplňků na kvalitu kravského mléka

Doplňkové látky v krmivech neboli krmná aditiva jsou komoditou, o níž se v posledních 5 letech hovoří stále více. Důsledkem spojení velké části zemí Evropy s Evropskou unií (EU) dochází k jistým konfliktům. Výkonná moc EU v oblasti zemědělství cítí potřebu vytvoření jednotného systému zahrnujícího také seznam látek, které mohou být používány jako krmné suplementy, aby nebyla ohrožena bezpečnost potravních řetězců, čímž jsou však potlačena národní specifika, která v dřívějších dobách umožňovala využívání určitých doplňkových látek na území své země. Dosud byl tento postup považován za bezproblémový. V současné době ovšem není možné brát na tato specifika ohled, protože tím jsou vytvořeny překážky ve vývozu a dovozu a rovněž zkomplikována výroba zemědělských produktů.

Hledání alternativních krmiv, která by mohla zcela nebo alespoň částečně nahradit konvenční plodiny, jako je sója či kukuřice, si získává stále větší pozornost vědců a producentů krmiv. Hospodářská politika týkající se pěstováním konvenčních plodin celosvětově přispívá ke zvyšování nákladů na produkci mléka. Odborníci na výživu zvířat usilují o stanovení nutričních hodnot alternativních krmivových suplementů. Potravinová produkce, jež má nižší náklady, odpovídající kvalitu, a která přispívá k naplnění nutričních požadavků zvířat, je zásadní pro ziskovost mlékárenství (Neto et al. 2015).

Mnoho provedených výzkumů potvrzuje, že podávání organických minerálů v krmných dávkách hospodářským zvířatům, má vliv na zlepšení kvality a produkce mléka. Dále také na zvýšení obsahu tuku v mléce bez navýšení příjmu sušiny ve stravě dojníc, což přináší vyšší efektivitu využití v mléčné produkci (Del Valle et al., 2015).

Od roku 2006 jsou v EU již zakázány zbývající 4 antibiotické stimulanty růstu (alinomycin, avilamycin, flavomycin a monensin). Moderní krmná aditiva vycházejí především z přírodních rostlinných zdrojů, jako jsou např. části rostlin, extrakty, koření, rostlinné oleje, silice a směsi přírodních látek ze zeleniny a ovoce. Tato aditiva podléhají legislativě EU týkající se potravin, krmiv a krmných přípravků (Doporučení komise EU 2011/25/EU).

V rostlinách se nachází různé látky, které vykazují prospěšné účinky na zdraví lidí i zvířat. Patří mezi ně např. alkaloidy, fenoly, glykosidy, lecitiny, polyfenoly, polypeptidy či saponiny. Použití rostlinných matric ve výrobě krmných aditiv proto celosvětově vzrůstá, i když výzkum v této oblasti není tak rychlý, jak by bylo potřeba. Důvodem jsou nejen určité konzervativní zvyklosti, ale i fakt, že jde o komplikované směsi různých sloučenin, na jejichž

standardizaci, stabilizaci a charakterizaci interakcí jsou potřeba specializovaná pracoviště (Opletal et Šimerda, 2015).

Charakterizací různých rostlinných suplementů na kvalitu kravského mléka se v poslední době zabývá řada vědeckých studií. Tedesco a kol. (2015) zjišťovali např. účinek modřínových pilin na složení kravského mléka a krevních parametrů dojníc. Experimentální stádo bylo tvořeno 24 italskými frískými kravami, které po dobu 20 dnů dostávaly 300 g modřínových pilin denně. Autoři neprokázali vliv na složení a produkci mléka ani na příjem krmiva, zjistili však, že modřínové piliny pozitivně působily na játra dojníc, v nichž se snížilo množství cholesterolu a celkového bilirubinu. To by mohlo být pravděpodobně způsobeno vysokým obsahem dihydroflavonolu taxifolinu v tomto rostlinném substrátu (Tedesco et al., 2015).

Xu a kol. (2014) se zase zaměřili na účinek přídatku luteinu na produkci a kvalitu mléka u holštýnského skotu. 60 krav bylo krmeno 3x denně 100, 150 nebo 200 g sloučeniny extrahované z měsíčku lékařského, která byla přidávána do krmné dávky. Studie prokázala její pozitivní vliv na výtěžnost, vyšší obsah mléčného tuku a laktózy. Vědci také pozorovali, že lutein zvyšoval antioxidační schopnosti organismu, čímž by mohl zabránit nemocem (Xu et al., 2014).

Matloup a kol. (2017) srovnávali účinky koriandrového oleje jako alternativní látky k antibiotiku salinomycinu, jež se přidávalo do krmiv kvůli lepšímu využití krmiva, vyšší produkci mléka a zlepšení trávení. V experimentu bylo zkoumáno stádo 30 fríských dojníc, jimž bylo po dobu 63 dnů podáváno 14 ml koriandrového oleje denně nebo 4 g salinomycinového prášku. Autoři předpokládali, že přídatek koriandrového oleje změní fermentaci v batoru a následným zlepšením účinnosti trávení živin povede k vyššímu laktačnímu výkonu krav. Z výsledků studie vyplynulo, že použití oleje z koriandru mělo podobné účinky jako salinomycin, přičemž při použití látky přírodního původu se není třeba obávat reziduí antibiotika v mléce nebo rozvoje bakterií na salinomycin rezistentních (Matloup et al., 2017).

3.2.1 Citrusy

Williams a kol. (2014) experimentovali na základě pozitivních výsledků z *in vitro* pokusů s přídatkem mandlových slupek a citrusové dužniny k vojtěškovému senu. Zkoumáno bylo celkem 32 holštýnsko-fríských dojníc, jimž byla 28 dnů podávána strava složená z vojtěškového sena s přídatkem mandlových slupek (experimentální stádo složené z 10 zvířat), vojtěškového sena s přídatkem citrusové dužniny (experimentální skupina

čítající 10 krav), nebo čistého vojtěškového sena (kontrolní stádo o 12 ks dobytka). *In vivo* studie nepotvrdila předpokládaný pozitivní vliv suplementů na výtěžnost mléka a snížené množství vyprodukovaného metanu. Dojnice krmené vojtěškovým senem s přidavkem mandlových slupek měly nižší průměrnou dojivost i nižší obsah bílkovin. Průměrná tučnost mléka a produkce metanu pak byly u všech skupin srovnatelné. Rozdíly mezi výstupy *in vitro* a *in vivo* pokusů vysvětlili vědci odlišnými poměry účinných látek, kdy v krmných dávkách zvířat není možné dosáhnout 50% obsahu mandlových slupek z *in vitro* experimentu. V pokusu ve stájích představovaly mandlové slupky jen 17 % celkového obsahu. Stejně tak nedostatečný účinek citrusů mohl být způsoben přidavkem celé citrusové dužniny, v níž je nižší koncentrace čistého esenciálního oleje, než byla použita v *in vitro* experimentu (Williams et al., 2014).

Hypotéza Yinga a kol. (2017) spočívala v tom, že citrusový extrakt zvýší příjem sušiny, a tím i energetickou rovnováhu a následně produkci mléka. Ve 2 pokusech bylo zkoumáno 26 holštýnských krav po dobu 21 (pokus 1), resp. 14 (pokus 2) dnů. Experimentální skupina čítala 15 dojnic, kterým byly podávány 4 g citrusového extraktu za den při pokusu 1 a 4,5 g den při pokusu 2, kontrolní skupina pak čítala vždy 11 ks dobytka. V příjmu krmiva, produkci mléka a průměrném obsahu tuku a proteinů nebyl pozorován žádný statisticky významný rozdíl ($p \leq 0,05$). Došlo však ke změně hladin plazmatického inzulínu a neesterifikovaných mastných kyselin, což dle vědců naznačuje určité metabolické účinky citrusového extraktu a potřebu dalších experimentů (Ying et al., 2017).

3.3 Vliv přídavku humátů do krmné dávky na kvalitu kravského mléka

Jak již bylo popsáno v kap. 3.2, zákonodárné úpravy EU, jež směřují k chovu zvířat bez používání antibiotik, stimulují hledání a využívání nových výživových doplňků zejména rostlinného původu. Humáty jsou přirozenou součástí potravy zvířat i lidí, jelikož se jedná o organickou složku země. Nacházejí se v půdě, řekách, potocích, jezerech i pitné vodě a jejich přídavek do krmné dávky hospodářských zvířat tak nemůže zatížit potravinový řetězec nebezpečnými rezidui antibiotik (Vavřínek, 2017).

3.3.1 Charakteristika humátů

Půdní organická hmota je složená z humifikovaných a nehumifikovaných látek. Složky nehumifikované jsou všechny, které mohou být zařazeny do jedné ze samostatných skupin sloučenin, např. aminokyseliny, tuky, cukry aj. Humifikované (také huminové nebo humusové) látky jsou odlišné, neoznačitelné složky. Jedná se o skupinu hnědočerných sloučenin o poměrně vysoké molekulové hmotnosti, jež vznikly sekundárními syntetickými procesy. Patří mezi ně zejména huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy (Metzger, 2009).

Huminové látky jsou běžné organické látky, které se nacházejí například v lignitu, rašelině, v půdě, ve vodě. Vznikají mikrobiální aktivitou z původních organických materiálů, jakými jsou odumřelé rostlinné a živočišné tkáně (Chang et al., 2014).

Velké množství autorů se domnívá, že všechny humáty tmavé barvy jsou součástí soustavy úzce příbuzných polymerů o vysoké molekulové hmotnosti, které však nejsou zcela totožné. Tento koncept vysvětluje rozdíly mezi 2 hlavními skupinami humusových látek, huminovými a fulvovými kyselinami, jež se liší molekulovými hmotnostmi, odlišným počtem funkčních frakcí (fenolických, karboxylových) a rozsahem polymerace. Termín huminové látky (HL) je pak obvykle používán jako obecný název pro charakteristiku barvy hmoty nebo její části získané na základě rozdílné rozpustnosti. Skupina huminových kyselin není rozpustná ve vodě za kyselých podmínek (pH nižší než 2), ale při vyšších hodnotách pH rozpustná je. Tyto sloučeniny mohou být vyluhovány z půdy různými činidly a jsou nejvýznamnější extrahovatelnou součástí půdních humusových látek. Jejich barva je tmavě hnědá až černá. Huminové kyseliny jsou významnými prekurzory či součástmi bitumenu, kerogenu, ropy a uhlí a mají schopnost vázat se na takřka jakoukoliv látku, včetně minerálů, půdních částic a proteinů. Bylo potvrzeno, že tyto sloučeniny nevznikají mikrobiální přeměnou organické hmoty, ale procesy zcela chemickými, a jsou lehce degradovatelné známými chemickými cestami (např. dekarboxylací), přičemž vznikají látky jako asphalt,

bitumen, břidlicový olej, černouhelný dehet, kerogen a ropa. Přesná přeměna je pak zřejmě závislá na čase a vnějších podmínkách přirozeného prostředí. Z těchto důvodů lze přirozené přeměny huminových kyselin snadno laboratorně napodobit, a tak syntetizovat nové sloučeniny neznámé povahy příbuzné složkám asfaltu, bitumenu, břidlicového oleje, kerogenu a ropy. Oproti tomu fulvokyseliny jsou ve vodě rozpustné při všech hodnotách pH. Jedná se o složky, které zůstávají v okyseleném roztoku po vyloučení huminových kyselin. Mají světle žlutou až žlutohnědou barvu a obsahují nižší podíl C (45 %) ku O₂ (48 %). Huminy jsou pak ve vodě zcela nerozpustné nezávisle na hodnotě pH a mají černou barvu. Obsahují nejvíce C (62 %) a nejméně O₂ (30 %). (Metzger, 2009)

3.3.2 Specificky efektivní látky v humátech a jejich působení

Podle dostupné literatury prokázaly HL řadu biologicky aktivních vlastností. Jejich významné antiseptické účinky byly zaznamenány již roku 1924. Později byl zaregistrován rovněž pozitivní vliv humátů na překyselení žaludku a další trávicí poruchy (díky své dobré pufrací schopnosti stabilizují pH v celé gastrointestinální soustavě), antioxidační, antimikrobiální a protizánětlivé vlastnosti. Huminové a fulvové kyseliny různé koncentrace jsou běžně používány zejména v Koreji a Číně, kde je lékaři aplikují při léčbě zánětů, k regulaci imunitního a hormonálního systému, k léčbě poruch zažívacího traktu a léčbě nádorů (Fulvic acid, 2017). Střední a západní Evropa je ve vztahu k humátům poněkud nejistá, i když čisté huminové a fulvové kyseliny jsou k pokusům používány. Důvodů je více. Jedná se o nestandardní, různorodý materiál, jehož kvalitu není možné reprodukovat, a u průmyslových kompostů, ze kterých se často vyrábí, je určité nebezpečí zvýšeného obsahu některých toxických prvků a rovněž riziko, jež plyne z přítomnosti zbytků tkání teplokrevných živočichů (Agazzi et al., 2007; Fulvic acid, 2017; Opletal et Šimerda, 2009).

Agazzi a kol. (2007) uvádí, že humáty byly zkoumány z hlediska svého veterinárního využití (léčba průjmů a jiné zažívací potíže psů a koček) a také výživového potenciálu pro hospodářská zvířata. Bylo zjištěno, že tyto sloučeniny jsou schopné na sliznici gastrointestinálního systému zvířat vytvářet ochranný film proti toxinům a infekcím, díky čemuž by mělo být zabezpečeno lepší využití živin z krmiv. Jako měniče iontů a chelatační činidla mohou také podporovat vyšší vstřebávání dusíku, fosforu, mědi a železa. HL navíc mohou mít vliv na metabolismus virů a bakterií, především na látkovou přeměnu sacharidů a bílkovin, přičemž důsledkem je pak přímý zánik virových částic a bakteriálních buněk. Výsledky studií naznačují, že tyto sloučeniny v těle pravděpodobně stimulují symbiotické mikroorganismy v bачору i probiotika ve střevech (bifidobakterie, laktobacily atd.) při

současném potlačení patogenních druhů. Bylo prokázáno, že mezi druhy bakterií, na které působí přírodní HL inhibičně, patří *Candida albicans*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, a *Streptococcus pyogenes*. Při suplementaci humáty v práci Mosleyho (1996) např. klesl počet případů mastitid zjištěných během dojení z průměrných 3 až 4 případů denně na 4 případy za měsíc. (Agazzi et al., Islam et al., 2005; Mosley, 1996).

Humáty mohou mít dále příznivý vliv na imunitní systém zvířat. Akční mechanismy v huminových sloučeninách jsou spojeny se schopností tvorby komplexních sacharidů, jež fungují jako modulátory mezibuněčných interakcí, uchovávají činnost imunitní soustavy v rovnováze a brání eventuálním neadekvátním reakcím organismu (Metzger, 2009).

Cennou vlastností HL je také schopnost vázat těžké kovy (např. Ba, Cd, Cu, Pb) a toxické sloučeniny exogenního i endogenního původu (amoniak, dioxiny, fytotoxiny, mikrobiální toxiny, mykotoxiny, zbytky pesticidů apod.), které se tak stávají pro organismus zvířete nedostupnými a odcházejí z něho v podobě trusu (Vavřínek, 2017).

Huminové kyseliny se dle Büsing a kol. (2013) používají k profylaktickému léčení střevních onemocnění u velkého počtu druhů, ale mechanismus účinku zůstává stále neobjasněn. Předpokládá se, že huminové kyseliny působí lokálně.

3.3.3 Vliv přídavku humátů do krmné dávky hospodářských zvířat

Sloučeniny na bázi HL byly úspěšně použity pro zlepšení produkčních charakteristik různých druhů hospodářských zvířat. Bohužel, řada studií přinesla protichůdné výsledky, které je možno přičíst zejména různé skladbě přípravků na bázi humátů. Problémem je rovněž to, že HL nemají konzistentní složení, jež je závislé na tom, z jakého prostředí pocházejí. Další příčinou mohou být rozdíly mezi zvířecími druhy a věkem pokusných zvířat zkoumaných v různých pracích. Údajů o působení HL na látkovou skladbu živočišných produktů je tedy prozatím velice málo a je potřeba dalšího zkoumání.

Podle Kocabağlıho a kol. (2002) by měly humáty přidávané do vody či krmiva zlepšovat růstové charakteristiky drůbeže, avšak Rath a kol. (2006) naopak pozorovali, že huminové kyseliny měly na růst brojlerových kuřat vliv negativní. Práce Changa a kol. (2014) prokázala vliv fulvokyselin na tloušťku sádla jatečných prasat. Zkoumáno bylo 180 prasat, která byla krmena dietou doplněnou o 0, 0,2, 0,4, 0,6 a 0,8 % hm. kyseliny fulvové. Po porážce 30 zvířat bylo ze vzorků zjištěno, že u prasat krmených fulvokyselinami se snížila vrstva sádla (Chang et al., 2014; Kocabağlı et al., 2002; Rath et al., 2006).

HL byly také úspěšně aplikovány ke zlepšení přirozené odolnosti skotu a jeho produkčních charakteristik. Skupina 500 holštýnských dojnic testovaných v Texasu, která dostávala humáty, dokázala efektivněji využít krmivo. Kontrolní stádo zkonsumovalo průměrně 17,2 kg krmiva denně, testované stádo 16,3 kg, přičemž produkce mléka u experimentálního stáda vzrostla o 0,8 kg na den a zvíře. S ohledem na to, že produkce mléka přímo souvisí s příjmem krmiva, znamenalo přidání HL výrazné zvýšení efektivity chovu. Pozorované změny vedly autory k závěru, že HL zlepšovaly trávení živin, čímž se zvyšovala produkce mléka. Laktační křivka se při užívání humátů navíc vyrovnávala, což pravděpodobně znamená, že prodloužením laktační periody by bylo možné dosáhnout zvýšení souhrnného množství mléka od dané krávy. Dále byl potvrzen jejich uklidňující účinek, což se projevilo sníženou agresivitou zvířat při přijímání potravy. Sníženy byly i účinky teplotního stresu způsobeného letními teplotami a zmírnil se zápach a množství výkalů. Při menším množství výkalů a mírnějším zápachu se tak snížilo rovněž množství živočišných odpadů a omezila se pravděpodobnost výskytu chorob přenášených hmyzem (Mosley, 1996). Islam a kol. (2005) zase uvádí, že huminové kyseliny způsobují zvýšení tvorby mléka, procenta tuku v něm a zlepšují rovněž využití krmiva. Chirase a kol. (2000) uskutečnili pokusy s podáváním HL 24 volům kříženého hovězího skotu ve výkrmu. Výsledky 56denního pozorování ukázaly 12% zvýšení produktivity zvířat. Vzorky hnoje od experimentálního stáda měly navíc jemnější strukturu a méně zapáchaly, přičemž došlo až k 64% snížení množství amoniaku v exkrementech. Autoři dále uvádí zvýšení hladin hemoglobinu a antioxidantů v krvi volů (Agazzi et al., 2007; Chirase et al., 2000; Islam et al., 2005; Mosley, 1996).

V současnosti ovšem nejsou dostupné vědecké publikace, které by se přímo zabývaly problematikou přidávání humátů do krmných dávek dojnic v souvislosti s účinkem na složení, fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti mléka. Z tohoto důvodu byla tímto směrem zaměřena tato diplomová práce.

4 Materiály a metody

4.1 Materiály

4.1.1 Kravské mléko

Vliv přídatku humátů do KD hovězího mléčného dobytka na kvalitu mléka byl charakterizován u celkem 10 dojnic následujících plemen: 5 krav čistokrevného skotu českého strakatého (C100), 2 kříženky skotu českého strakatého se skotem ayrshirským (C79A21 a C87A13) a 3 kříženky skotu českého strakatého se skotem holštýnským červeným (C83R17 a C87R13). K pokusu byla vybrána zvířata s pořadím laktace 1, 2, 3 a 6. Podrobná identifikace jednotlivých dojnic je uvedena v tab. 1. Podmínky pokusu byly zvoleny v souladu s Kontrolou podmíněnosti – Dobrymi životními podmínkami zvířat (MZE ČR, 2017).

Tabulka 1: Identifikace zkoumaných vzorků podle pokusných dojnic

Druh krmné dávky (KD)	Kód vzorku	Plemeno	Pořadí laktace
KD standardní (skupina C - kontrolní)	123803	C100	3
	141992	C100	2
	133709	C83R17	3
	142025	C83R17	2
	142060	C100	1
KD s humáty (skupina E - experimentální)	105562	C100	6
	121347	C79A21	3
	129788	C100	3
	138936	C87A13	2
	142062	C87R13	1

KD všech krav sestávala z 22 kg siláže, 12 kg senáže, 5 kg mláta, 4 kg jádra, 2 kg sena a minerálních látek. Krmení probíhalo 2× denně, v 5:30 a 15:00. Skupině E pak byla standardní KD obohacena o humáty ve formě práškového produktu HUMAFIT od firmy ReConsulting a.s. (CZ). Suplement byl podáván ručně každému pokusnému zvířeti v množství 12 g/d během ranního krmení. K vodě měly dojnice přístup *ad libitum*.

Odběr vzorků syrového kravského mléka byl prováděn pracovníky firmy ReConsulting a.s. (CZ). Mléko bylo vzorkováno v průběhu 2 m. Celkem bylo provedeno 7 odběrů v týdenních intervalech, přičemž jejich harmonogram je uveden v tab. 2. Mezi 6. a 7.

vzorkováním byl prodloužen časový interval z důvodu vynechání přídavku HL dle pokynů dodavatele. Od každé dojnice bylo vždy odebráno 500 ml syrového mléka, jež bylo směsí z ranního (5:00) a odpoledního (17:00) dojení v poměru 1:1. Vzorky byly zakonzervovány tabletami Microtabs II (Advanced Instruments, Inc., USA) a do provedení veškerých analýz uchovány při 4 °C (chladnička ST 3 B60, POL-EKO-APARATURA sp.j., PL). Analytické rozborů pak byly provedeny vždy den následující po vzorkování.

Tabulka 2: Harmonogram odběru vzorků syrového kravského mléka

Pořadí odběru	Datum
1	09. 12. 2013
2	16. 12. 2013
3	23. 12. 2013
4	30. 12. 2013
5	06. 01. 2014
6	13. 01. 2014
7	03. 02. 2014

4.1.2 Huminové látky

Jako zdroj humátů byl použit přípravek HUMAFIT od firmy ReConsulting a.s. (CZ). Tento práškový produkt byl vyroben ze Sachalinského Leonarditu a jeho složení je uvedeno v tab. 3.

Tabulka 3: Složení přípravku HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ)

Složka	Obsah [% hm.]
hrubá vláknina	48,36
humát draselný, Mg, Fe, Zn, Mb, Cu	51,64

4.1.3 Použité chemikálie

V diplomové práci byly použity běžné chemikálie pro základní mlékařské rozborů. Všechny použité chemikálie měly čistotu p. a. Seznam speciálních chemikálií je uveden níže:

Syřidlo Laktosin

Milcom, CZ

Tablety Microtabs II

Advanced Instruments, Inc., USA

4.2 Použité přístroje

V diplomové práci bylo použito běžné přístrojové vybavení analytické laboratoře. Seznam speciálních přístrojů je uveden níže:

MilkoScan FT 120

FOSS, DK

4.3 Analytické metody

4.3.1 Stanovení obsahu vybraných složek a fyzikálně-chemických vlastností kravského mléka infračervenou spektroskopií

Stanovení obsahu vybraných mléčných složek (hrubých bílkovin, kaseinu, volných mastných kyselin, kyseliny citronové a močoviny) a fyzikálně-chemických vlastností (bod mrznutí) kravského mléka bylo uskutečněno pomocí techniky infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací na přístroji MilkoScanTM FT 120 (FOSS, DK) metodou Improved Milk dle ČSN 57 0536 (1999). Příslušné kalibrace jsou uvedeny v Tabulce 4. Měření bylo provedeno pro každý vzorek 2×.

Tabulka 4: Referenční metody kalibrace vybraných parametrů programu Improved Milk (FOSS, DK)

Parametr	Referenční metoda
Hrubé bílkoviny (HB)	Kjeldahlova metoda
Kasein (CN)	Kjeldahlova metoda
Kyselina citronová	Boehringer-Mannheimova metoda
Močovina	Boehringer-Mannheimova metoda
Volné mastné kyseliny (FFA)	Titrace za užití pH elektrody
Bod mrznutí	Kryoskopie

4.3.2 Stanovení obsahu čistých bílkovin v kravském mléce

Stanovení obsahu čistých bílkovin (ČB) bylo provedeno Kjeldahlovou metodou dle ČSN EN ISO 8968-1 (2014) a ČSN EN ISO 8968-5 (2002). Pro každý analyt byla provedena 2 paralelní měření. Příprava vzorků na analýzu byla následující:

Do 150ml kádinky bylo s analytickou přesností (analytické váhy, ER-200A, A&D, JP) odváženo 5 ml vzorku, který byl následně vysrážen přidávkem 5 ml 25% roztoku kyseliny trichloroctové (TCA, Lach-Ner, CZ). Směs byla promíchána tyčinkou a po 15 min byla sraženina kvantitativně přefiltrována přes filtrační papír o střední hustotě (Munktell Filltrak, porozita 390, SWE) smočený promývacím roztokem (12,5 % hm. TCA, Lach-Ner, CZ). Filtrát musel být čirý. Získaná sraženina byla 3× promyta 10 ml promývacího roztoku a poté i s filtračním papírem (Munktell Filltrak, porozita 390, SWE) vložena do mineralizační trubice a zanalyzována. Celkový obsah ČB byl vypočten dle vzorců (1) a (2).

$$\% \text{ dusíku} = \frac{(2,8014 \times b \times c) - (N_{fp} \times m_{fp})}{m_v} \quad (1),$$

kde:

b = spotřeba odměrného titračního roztoku H_2SO_4 [ml],

c = koncentrace odměrného titračního roztoku H_2SO_4 (mol.l^{-1}),

N_{fp} = průměrný obsah N ve filtračním papíru (% hm.),

m_{fp} = hmotnost filtračního papíru (g),

m_v = hmotnost vzorku (g).

$$\% \check{C}B = \% \text{ dusíku} \times 6,38 \quad (2),$$

4.3.3 Stanovení obsahu syrovátkových bílkovin a nebílkovinných dusíkatých látek v kravském mléce

Obsah syrovátkových bílkovin (WP) a nebílkovinného dusíku (NPN) byl stanoven dle ČSN 57 0536 (1999), ČSN EN ISO 8968-1 (2014) a ČSN EN ISO 8968-5 (2002) výpočtem ze vzorců (3) a (4).

$$\% WP = \% \check{C}B - \% CN \quad (3),$$

$$\% NPN = \% HB - \% \check{C}B \quad (4),$$

kde:

WP = obsah syrovátkových bílkovin [% hm.],

$\check{C}B$ = obsah čistých bílkovin [% hm.],

CN = obsah kaseinu [% hm.],

NPN = obsah nebílkovinného dusíku [% hm.],

HB = obsah hrubých bílkovin [% hm.].

4.3.4 Stanovení obsahu popelovin v kravském mléce

Pro stanovení obsahu popelovin byla použita metoda dle ČSN 57 0530 (1974) a Cvaka a kol. (1992). Obsah popelovin byl stanoven vážkově jako zbytek hmoty zkoumaného vzorku po jeho spálení (muflová pec LM 212.11, MLW Veb Elektro bad Frankenhhausen, DE) při teplotě 525 ± 25 °C do bíla. 5 až 10 g mléka bylo s analytickou přesností (analytické váhy, ER-200A, A&D, JP) naváženo do předem vyžíhaného (1 h, 525 °C; muflová pec LM 212.11,

MLW Veb Elektro bad Frankenhause, DE) porcelánového kelímku vychladlého v exsikátoru (min. 45 min). Takto připravený analyt byl ošetřen odpařením vody ve vroucí vodní lázni na elektrickém vařiči (elektrický sporák, EHH 6240 ISK, Elektrolux, RO) a následným dosušením v sušárně (KBC G 100/250, Premeo, PL) při 102 ± 2 °C po dobu 2 h. Po vychladnutí v exsikátoru (min. 45 min) byly vysušené vzorky následně spalovány nad kahanem, po zuhelnatění vyžihány v muflové peci (LM 212.11, MLW Veb Elektro bad Frankenhause, DE) při teplotě 525 ± 25 °C do bíla a vychlazeny v exsikátoru (min. 45 min). Do kelímků s vychladlým popelem bylo poté přidáno 10 ml horké destilované vody a obsah byl zfiltrován. Filtrát obsahující zejména těžké chloridy byl uschován. Filtr byl opět vložen do porcelánového kelímku, vysušen (KBC G 100/250, Premeo, PL), spálen a poté do běla vyžihán při teplotě 525 ± 25 °C ve spalovací muflové peci (LM 212.11, MLW Veb Elektro bad Frankenhause, DE). Po vychladnutí v exsikátoru (min. 45 min) byl do kelímku kvantitativně převeden uschovaný filtrát, který byl následně odpařen (elektrický sporák, EHH 6240 ISK, Elektrolux, RO) a vysušen (KBC G 100/250, Premeo, PL) při 102 ± 2 °C po dobu 2 h. Na závěr byl vychladlý (exsikátor, min. 45 min) vzorek při teplotě 525 ± 25 °C (muflová pec LM 212.11, MLW Veb Elektro bad Frankenhause, DE) vyžihán do konstantní hmotnosti. Stanovení bylo provedeno pro každý analyt 2×. Obsah popelovin byl vypočten dle vzorce (5). (Cvak et al., 1992)

$$\% \text{ popele} = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (5),$$

kde:

m_0 = navážka vzorku (g),

m_1 = hmotnost vyžihaného popele (g).

4.3.5 Stanovení syřitelnosti kravského mléka

Principem stanovení syřitelnosti kravského mléka je změření času nezbytného ke koagulaci 1 ml syrového mléka při teplotě 35 °C po přidání syřidla o známé aktivitě. Do 250ml odměrné baňky bylo odměřeno 100 ml syrového kravského mléka. Vzorek byl ve vodní lázni (MEDINGEN W12, PDGroup, DE) vytemperován na 35 °C a poté k němu byl napipetován 1 ml důkladně promíchaného roztoku syřidla Laktosin (Milcom, CZ). V témže okamžiku byly spuštěny stopky. První 2 min po promíchání mléka se syřidlem byla směs

udržována při teplotě 35 °C v klidu. Poté bylo s baňkou neustále otáčeno v šikmé poloze tak, aby analyt utvářel film stékající po jejích stěnách. Stopky byly zastaveny v okamžiku, kdy došlo na stěnách baňky k viditelnému oddělování bílkovin. Pro každý vzorek byla provedena 2 paralelní stanovení. Doba srážení ještě dobrého mléka je 5 - 7 min.

Samotnému měření syřitelnosti předcházelo určení koagulační aktivity (MCA) použitého syřidla Laktosin (Milcom, CZ), kdy jako standard bylo využito tekuté syřidlo živočišného původu Laktosin (Milcom, CZ) o síle 1:10 000. Stanovení MCA syřidla bylo provedeno 2×. Jeho MCA byla vypočtena dle vzorce (6) a měla hodnotu 1:1 000 (Cvak et al., 1992).

$$MCA_{vz} = \frac{t_{st} \times MCA_{st} \times m_{st}}{t_{vz} \times m_{vz}} \quad (6),$$

kde:

MCA_{vz} = koagulační aktivita neznámého syřidla [SU],

MCA_{st} = deklarovaná koagulační aktivita syřidla standardu [SU],

t_{vz} = doba kompletního vysrážení mléka neznámým syřidlem [min],

t_{st} = doba kompletního vysrážení mléka standardním syřidlem [min],

m_{vz} = navážka neznámého syřidla v odpipetovaném podílu [g],

m_{st} = navážka standardního syřidla v odpipetovaném podílu [g].

4.3.6 Stanovení termostability kravského mléka

K určení tepelné stability syrového kravského mléka byl využit dvojitý alkoholový test, který spočívá ve smíchání vzorku s roztokem etanolu v poměru 1:1. Byly použity roztoky etanolu o koncentraci 68 a 75 % obj. Ve zkumavce byl smíchán vždy 1 ml mléka s 1 ml roztoku etanolu. Poté bylo sledováno, zda se na stěnách zkumavky sráží bílkovinné vločky, a na základě této skutečnosti byla stanovena tepelná stabilita vzorku. Analyt, jenž měl nízkou tepelnou stabilitu, se přidavkem roztoků etanolu vysrážel (Cvak et al., 1992). Stanovení bylo provedeno pro každý vzorek 2×.

4.4 Statistická analýza

Ke statistické analýze získaných souborů dat byl využit software MS Office Excel 2013 (Microsoft[®], USA), v němž byly vypočítány aritmetické průměry (A_p) společně se směrodatnými odchylkami (SD), rozpětími a rozptyly. Ze získaných souborů dat byly nejprve vyloučeny odlehle výsledky pomocí Grubbsova testu na hladině pravděpodobnosti $P(\alpha) = 0,05$. Pro zjištění statisticky významných rozdílů mezi 2 výběry dat pocházejícími ze 2 různých skupin vzorků byl použit nepárový t -test, respektive F -test. Takto byly otestovány rozdíly rozptylů obou výběrů, a to na stanovené hladině významnosti $P(\alpha) = 0,05$, popřípadě $P(\alpha) = 0,01$.

- Nulovou hypotézou (H_0) bylo tvrzení $\mu_x = \mu_y$, tj. mezi jednotlivými vzorky není statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti $P(\alpha) = 0,05$.
- Alternativní hypotézou (H_A) bylo naopak tvrzení $\mu_x \neq \mu_y$, tj. mezi jednotlivými vzorky je statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti $P(\alpha) = 0,05$.

Pro porovnání vzorků mezi sebou byl za μ_x a μ_y pokaždé dosazen jeden vzorek. Tímto způsobem byly provedeny všechny kombinace vzájemně mezi sebou. Pro rozhodnutí o platnosti hypotézy (H_0), anebo hypotézy (H_A), byla použita p -hodnota.

- Nulová hypotéza (H_0) byla přijata, pokud $p > \alpha$.
 H_0 : Doplnění KD krav o humáty nebude mít vliv na kvalitu mléka.
- Alternativní hypotéza (H_A) byla přijata, pokud $p \leq \alpha$.
 H_A : Doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ovlivní kvalitu mléka.

5 Výsledky

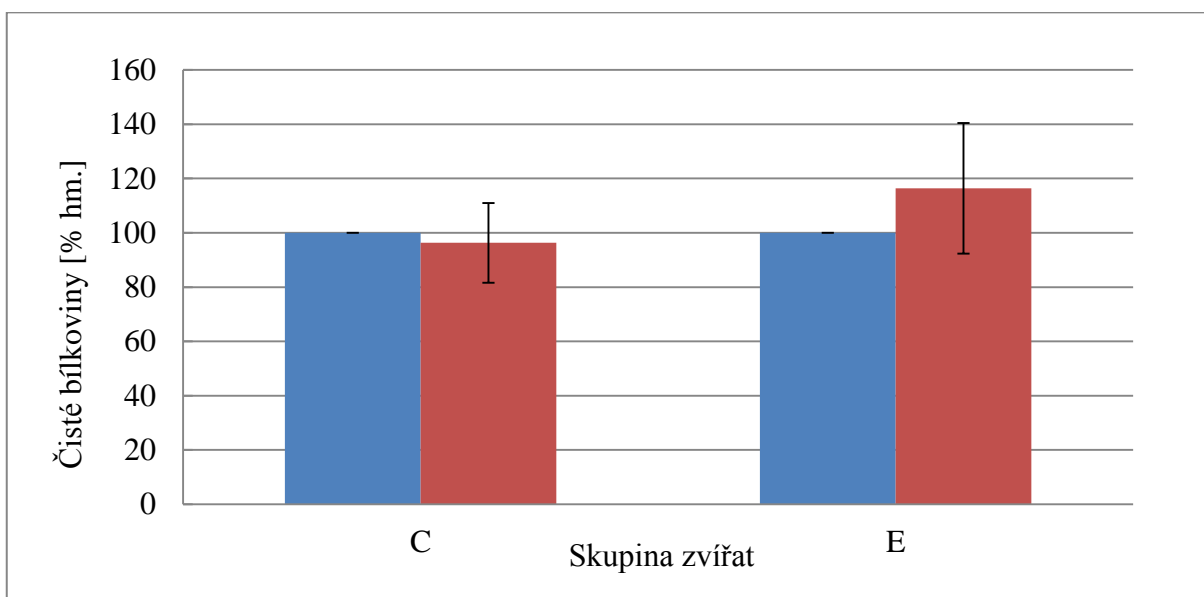
Vliv přidavku HL ve formě přípravku HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) na kvalitu kravského mléka byl zkoumán u E stáda tvořeného 5 dojnícemi po dobu 3 měsíců. Hodnocenými parametry bylo složení (obsah čistých a syrovátkových bílkovin, nebílkovinných dusíkatých látek, popelovin, volných mastných kyselin, kyseliny citronové a močoviny), fyzikálně-chemické (bod mrznutí) a technologické (syřitelnost, termostabilita) vlastnosti. Výsledky byly porovnávány s C skupinou tvořenou stejným počtem pokusných zvířat, jimž byla podávána shodná KD bez suplementace.

5.1 Účinek přidavku humátů v KD krav na obsah čistých bílkovin v mléce

Průměrný obsah ČB v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven Kjeldahlovou metodou dle ČSN EN ISO 8968-1 (2014) a ČSN EN ISO 8968-5 (2002) (viz kap. 4.3.2) a výsledky jsou uvedeny v tab. 5 a na obr. 1. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 6.

Tabulka 5: Vliv přidavku HL na obsah ČB kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	ČB [% hm.]	Poměr obsahu ČB [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	3,17	100,00	-
2	3,19	100,78	0,78
3	3,25	102,38	2,38
4	3,24	102,08	2,08
5	3,09	97,46	-2,54
6	3,09	97,60	-2,40
7	3,05	96,32	-3,68
Skupina E			
1	3,09	100,00	-
2	3,07	99,35	-0,65
3	3,21	103,82	3,82
4	3,26	105,37	5,37
5	3,33	107,84	7,84
6	3,48	112,52	12,52
7	3,60	116,43	16,43



Obrázek 1: Vliv přidavku HL na změnu obsahu ČB kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 6: Statistická analýza vlivu přidavku HL na obsah ČB kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$

Statistický test	<i>F</i> -test	<i>t</i> -test
Skupina C	0,13	$p > 0,05$ (-) ²
Skupina E	< 0,01	$p < 0,05$ (+) ¹

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

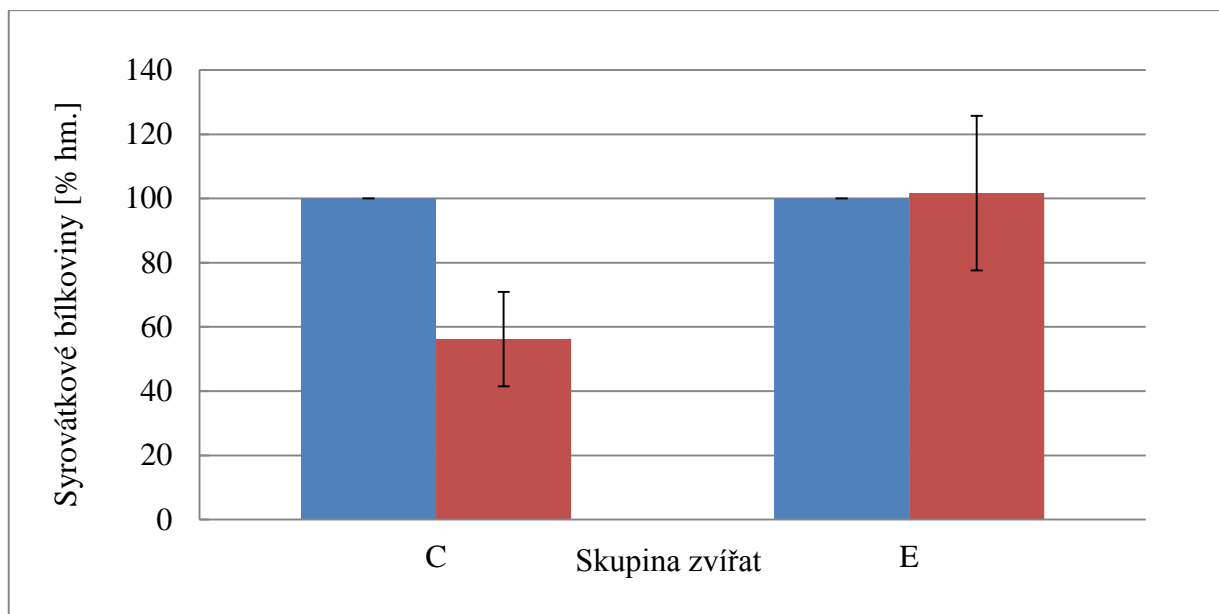
Na základě výsledků uvedených v tab. 5 a 6 a na obr. 1 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah ČB v jejich mléce. Zatímco u C skupiny množství této složky stoupalo do 3. odběru, v němž bylo dosaženo lokálního maxima, a poté nastal jeho postupný pokles, v E skupině obsah ČB narůstal s každým dalším odběrem. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny E pozorován nárůst (+16,4 %) a u skupiny C naopak pokles (-3,7 %). Na základě toho byla H_0 zamítnuta a přijata H_A , tedy že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p \leq 0,05$) ovlivnilo množství ČB v jejich mléce.

5.2 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah syrovátkových bílkovin v mléce

Průměrný obsah WP v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven Kjeldahlovou metodou dle ČSN 57 0536 (1999), ČSN EN ISO 8968-1 (2014) a ČSN EN ISO 8968-5 (2002) (viz kap. 4.3.3) a výsledky jsou uvedeny v tab. 7 a na obr. 2. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 8.

Tabulka 7: Vliv přídatku HL na obsah WP kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	WP [% hm.]	Poměr obsahu WP [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,49	100,00	-
2	0,62	125,88	25,88
3	0,59	121,34	21,34
4	0,46	93,26	-6,74
5	0,36	73,16	-26,84
6	0,41	83,86	-16,14
7	0,28	56,60	-43,40
Skupina E			
1	0,62	100,00	-
2	0,65	104,84	4,84
3	0,59	95,47	-4,53
4	0,67	107,39	7,39
5	0,67	107,46	7,46
6	0,77	124,49	24,49
7	0,63	102,23	2,23



Obrázek 2: Vliv přídatku HL na změnu obsahu WP kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 8: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah WP kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	<i>F</i> -test	<i>t</i> -test
Skupina C	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$
Skupina E	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

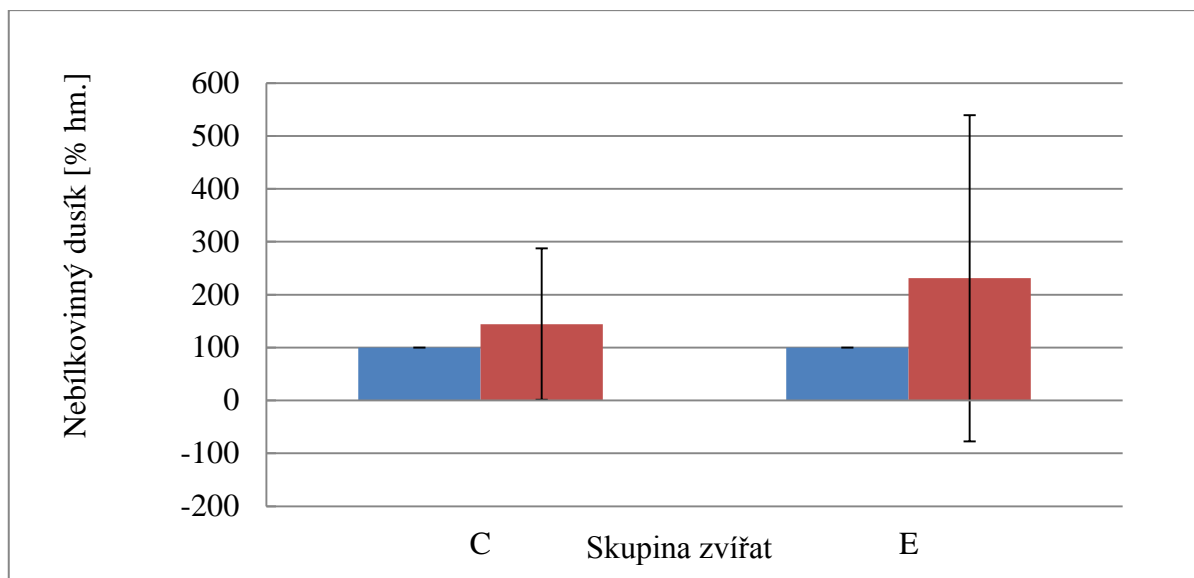
Na základě výsledků uvedených v tab. 7 a 8 a na obr. 2 lze říci, že suplementace KD dojníc přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah WP v jejich mléce. Zatímco u C skupiny množství této složky stoupalo jen ve 2. a 3. odběru, v němž bylo dosaženo lokálního maxima, poté nastal jeho postupný pokles. V E skupině obsah WP kolísavě pozvolna narůstal (maximální nárůst, +24,5 %, byl zaznamenán při 6. odběru). Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován pokles (-43,3 %) a u skupiny E naopak nárůst (+2,3 %). Neboť statisticky významné ($p \leq 0,05$) změny v množství WP byly získány u obou pokusných stád, nelze je přičítat pouze suplementaci HL. Na základě toho byla H_0 přijata a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo obsah WP v jejich mléce.

5.3 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah nebílkovinných dusíkatých látek v mléce

Průměrný obsah NPN byl stanoven dle ČSN 57 0536 (1999), ČSN EN ISO 8968-1 (2014) a ČSN EN ISO 8968-5 (2002) (viz kap. 4.3.3) a výsledky jsou uvedeny v tab. 9 a na obr. 3. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 10.

Tabulka 9: Vliv přídatku HL na obsah NPN kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	NPN [% hm.]	Poměr obsahu NPN [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,31	100,00	-
2	0,25	80,06	-19,94
3	0,28	88,85	-11,15
4	0,30	97,75	-2,25
5	0,42	135,34	35,34
6	0,41	132,20	32,20
7	0,45	144,09	44,09
Skupina E			
1	0,12	100,00	-
2	0,19	157,48	57,48
3	0,14	120,07	20,07
4	0,15	125,98	25,98
5	0,17	141,46	41,46
6	0,21	172,62	72,62
7	0,28	230,99	130,99



Obrázek 3: Vliv přidavku HL na změnu obsahu NPN kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 1: Statistická analýza vlivu přidavku HL na obsah NPN kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	<i>F-test</i>	<i>t-test</i>
Skupina C	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$
Skupina E	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

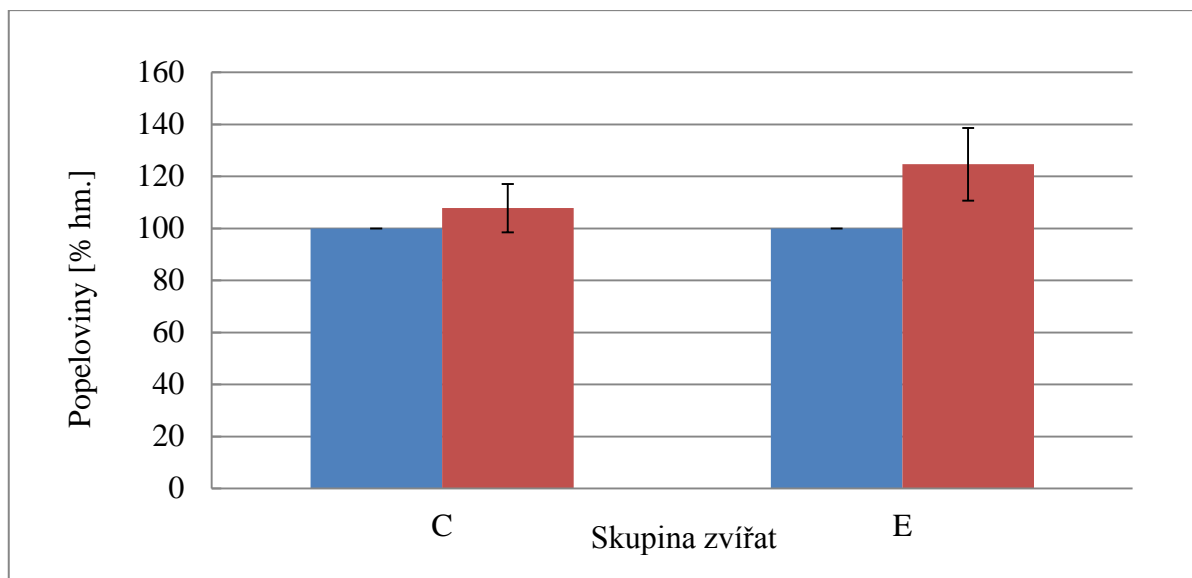
Na základě výsledků uvedených v tab. 9 a 10 a na obr. 3 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah NPN v jejich mléce. U E skupiny množství této složky kontinuálně stouvalo od 2. odběru, v C skupině obsah NPN kolísavě taktéž narůstal. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován nárůst (+44,1 %) a u skupiny E taktéž (+131,0 %). Neboť statisticky významné ($p \leq 0,05$) změny v množství WP byly získány u obou pokusných stád, nelze je přičítat pouze suplementaci HL. Na základě toho byla H_0 přijata a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo množství NPN v jejich mléce.

5.4 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah popelovin v mléce

Průměrný obsah popelovin v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven metodou dle ČSN 57 0530 (1974) a Cvaka a kol. (1992) (viz kap. 4.3.4) a výsledky jsou uvedeny v tab. 11 a na obr. 4. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 12.

Tabulka 2: Vliv přídatku HL na obsah popelovin kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	Popeloviny [% hm.]	Poměr obsahu popelovin [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,70	100,00	-
2	0,72	102,70	2,70
3	0,82	116,84	16,84
4	0,79	113,23	13,23
5	0,77	110,54	10,54
6	0,76	109,12	9,12
7	0,75	107,44	7,44
Skupina E			
1	0,64	100,00	-
2	0,70	109,44	9,44
3	0,75	117,78	17,78
4	0,74	115,58	15,58
5	0,76	118,13	18,13
6	0,76	118,06	18,06
7	0,79	123,95	23,95



Obrázek 4: Vliv přídatku HL na změnu obsahu popelovin kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 3: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah popelovin kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	<i>F-test</i>	<i>t-test</i>
Skupina C	0,19	$p > 0,05$ (-) ²
Skupina E	< 0,01	$p < 0,05$ (+) ¹

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

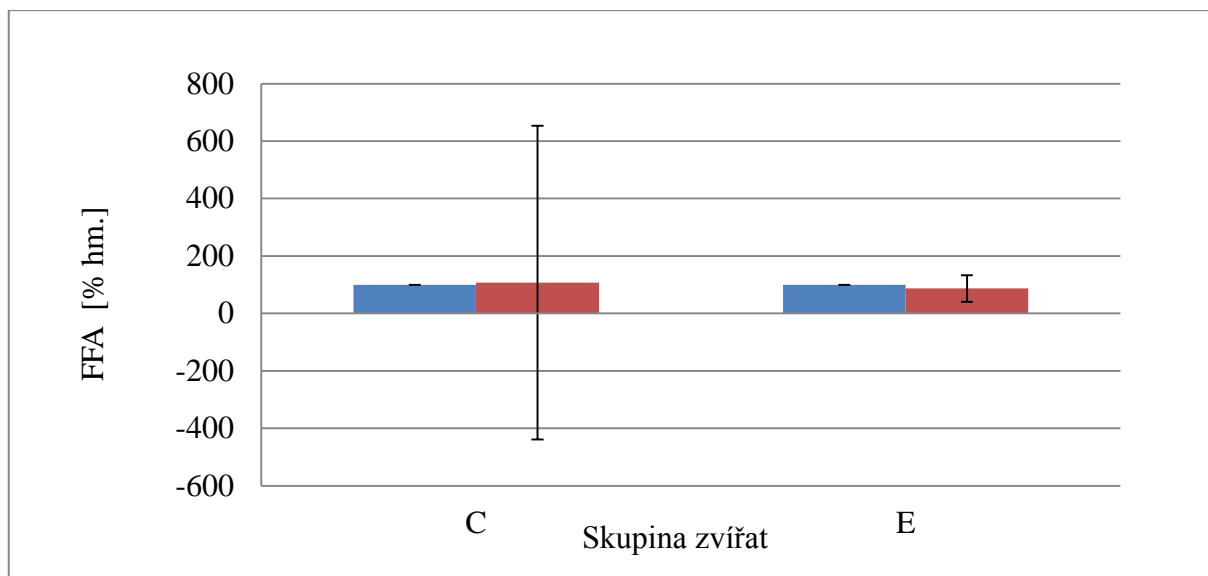
Na základě výsledků uvedených v tab. 11 a 12 a na obr. 4 lze říci, že suplementace KD dojníc přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah popelovin v jejich mléce. Zatímco u C skupiny množství této složky kolísavě stoupalo do 4. odběru, v němž bylo dosaženo lokálního maxima, a poté nastal jeho postupný pokles, v E skupině obsah popelovin narůstal také kolísavě pomcelou dobu odběrů. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován nárůst (+7,4 %) a u skupiny E nárůst (+24,0 %). Na základě toho byla H_0 zamítnuta a přijata H_A , tedy že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p \leq 0,05$) ovlivnilo obsah popelovin v jejich mléce.

5.5 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah volných mastných kyselin v mléce

Průměrný obsah FFA v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven metodou infračervené spektroskopie na přístroji MilkoScanTM FT 120 (FOSS, DK) dle ČSN 57 0536 (1999) (viz kap. 4.3.1) a výsledky jsou uvedeny v tab. 13 a na obr. 5. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 14.

Tabulka 4: Vliv přídatku HL na obsah FFA kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	FFA [mmol.l ⁻¹]	Poměr obsahu FFA [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	1,36	100,00	-
2	2,84	208,68	108,7
3	2,27	166,84	66,8
4	3,45	253,60	153,6
5	2,39	175,44	75,4
6	1,88	138,01	38,0
7	1,46	106,99	7,0
Skupina E			
1	2,54	100,00	-
2	3,07	130,84	30,8
3	1,73	57,00	-43,0
4	3,72	146,92	46,9
5	2,29	92,91	-7,1
6	2,03	83,62	-16,4
7	2,21	93,68	-6,3



Obrázek 5: Vliv přídatku HL na změnu obsahu FFA kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 5: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah FFA kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	F-test	t-test
Skupina C	0,66	$p > 0,05 (-)^2$
Skupina E	0,25	$p > 0,05 (-)^2$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

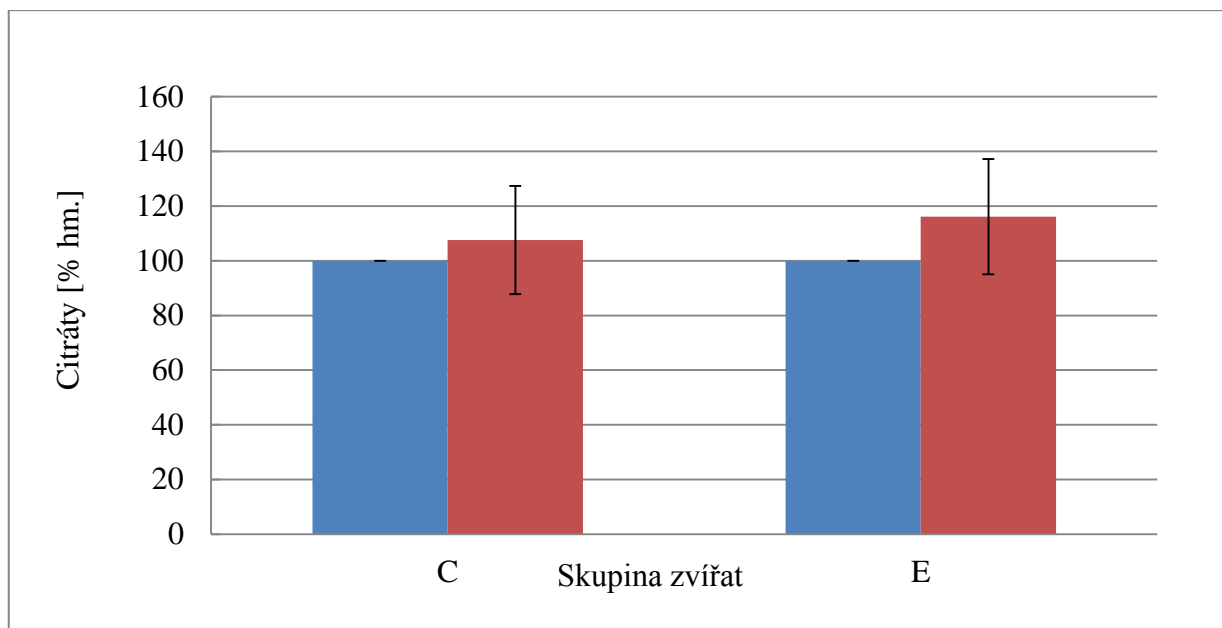
Na základě výsledků uvedených v tab. 13 a 14 a na obr. 5 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah FFA v jejich mléce. Zatímco u C skupiny množství této složky se vzrůstajícím trendem kolísalo po celou dobu odběrů, v E skupině obsah FFA s výjimkou vzorkování 2 a 4 nepřesáhl počáteční hodnotu (nejnižší množství FFA, $1,7 \text{ mmol.l}^{-1}$, pak bylo zaznamenáno v odběru 3). Při porovnání výchozího a konečného stavu byl u skupiny C pozorován nárůst (+7,0 %) a u skupiny E naopak pokles (-6,3 %). Protože však oba rozdíly nebyly na zvolené hladině pravděpodobnosti statisticky významné ($p > 0,05$), byla přijata H_0 a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo obsah FFA v jejich mléce.

5.6 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah citrátů v mléce

Průměrný obsah citrátů v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven metodou infračervené spektroskopie na přístroji MilkoScanTM FT 120 (FOSS, DK) dle ČSN 57 0536 (1999) (viz kap. 4.3.1) a výsledky jsou uvedeny v tab. 15 a na obr. 6. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 16.

Tabulka 6: Vliv přídatku HL na obsah citrátů kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	Citráty [% hm.]	Poměr obsahu citrátů [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,14	100,00	-
2	0,14	102,21	2,21
3	0,14	103,50	3,50
4	0,14	103,43	3,43
5	0,14	103,36	3,36
6	0,15	105,50	5,50
7	0,15	107,57	7,57
Skupina E			
1	0,15	100,00	-
2	0,16	105,40	5,40
3	0,16	103,40	3,40
4	0,14	95,13	-4,87
5	0,17	110,07	10,07
6	0,17	111,89	11,89
7	0,17	116,13	16,13



Obrázek 6: Vliv přidavku HL na změnu obsahu citrátů kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 7: Statistická analýza vlivu přidavku HL na obsah citrátů kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	F-test	t-test
Skupina C	0,02	$p < 0,05 (+)^1$
Skupina E	$< 0,01$	$p < 0,05 (+)^1$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

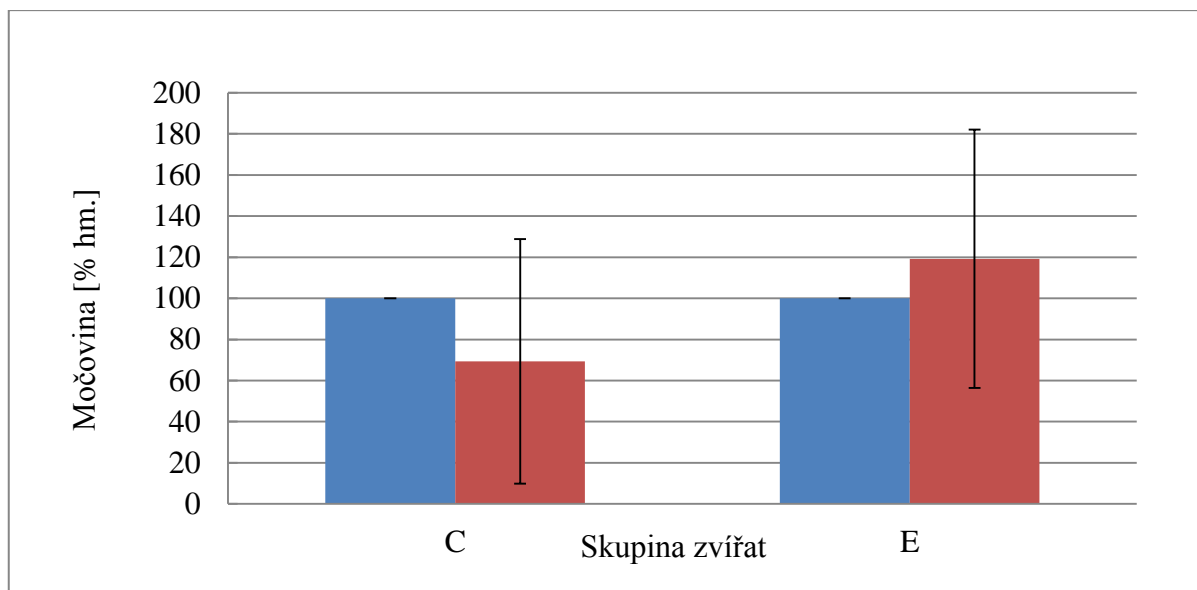
Na základě výsledků uvedených v tab. 15 a 16 a na obr. 6 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah citrátů v jejich mléce. Zatímco u E skupiny množství této složky kolísavě stoupalo po celou dobu odběrů (s výjimkou vzorkování 4) a od 5. odběru mnohem rychleji, v C skupině obsah citrátů narůstal od 6. odběru rychleji. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován nárůst +7,6 % a u skupiny E +16,1 %. Neboť statisticky významné ($p \leq 0,05$) změny v množství citrátů byly získány u obou pokusných stád, nelze je přičítat pouze suplementaci HL. Na základě toho byla H_0 přijata a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo množství NPN v jejich mléce.

5.7 Účinek přídatku humátů v KD krav na obsah močoviny v mléce

Průměrný obsah močoviny v mléce krav z C a E skupiny byl stanoven metodou infračervené spektroskopie na přístroji MilkoScanTM FT 120 (FOSS, DK) dle ČSN 57 0536 (1999) (viz kap. 4.3.1) a výsledky jsou uvedeny v tab. 17 a na obr. 7. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 18.

Tabulka 8: Vliv přídatku HL na obsah močoviny v kravském mléce. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	Močovina [% hm.]	Poměr obsahu močoviny [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,01	100,00	-
2	0,02	150,40	50,40
3	0,02	156,20	56,20
4	0,01	113,40	13,40
5	0,01	117,00	17,00
6	0,01	68,60	-31,40
7	0,01	69,40	-30,60
Skupina E			
1	0,01	100,00	-
2	0,01	78,30	-21,70
3	0,02	167,10	67,10
4	0,02	157,20	57,20
5	0,01	132,60	32,60
6	0,01	69,90	-30,10
7	0,01	119,20	19,20



Obrázek 7: Vliv přidavku HL na změnu obsahu močoviny v kravském mléce. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 9: Statistická analýza vlivu přidavku HL na obsah močoviny kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	F-test	t-test
Skupina C	0,78	$p > 0,05 (-)^2$
Skupina E	0,40	$p > 0,05 (-)^2$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

Na základě výsledků uvedených v tab. 17 a 18 a na obr. 7 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila obsah močoviny v jejich mléce. Zatímco u C skupiny množství této složky jednorázově stoupl při vzorkování 2 a pak postupně klesalo, v E skupině obsah močoviny dosáhl maximální hodnoty při odběru 3 a poté taktéž postupně klesal, avšak s kolísavým trendem. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován pokles (-30,6 %) a u skupiny E naopak nárůst (+19,2 %). Protože však oba rozdíly nebyly na zvolené hladině pravděpodobnosti statisticky významné ($p > 0,05$), byla přijata H_0 a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo obsah močoviny v jejich mléce.

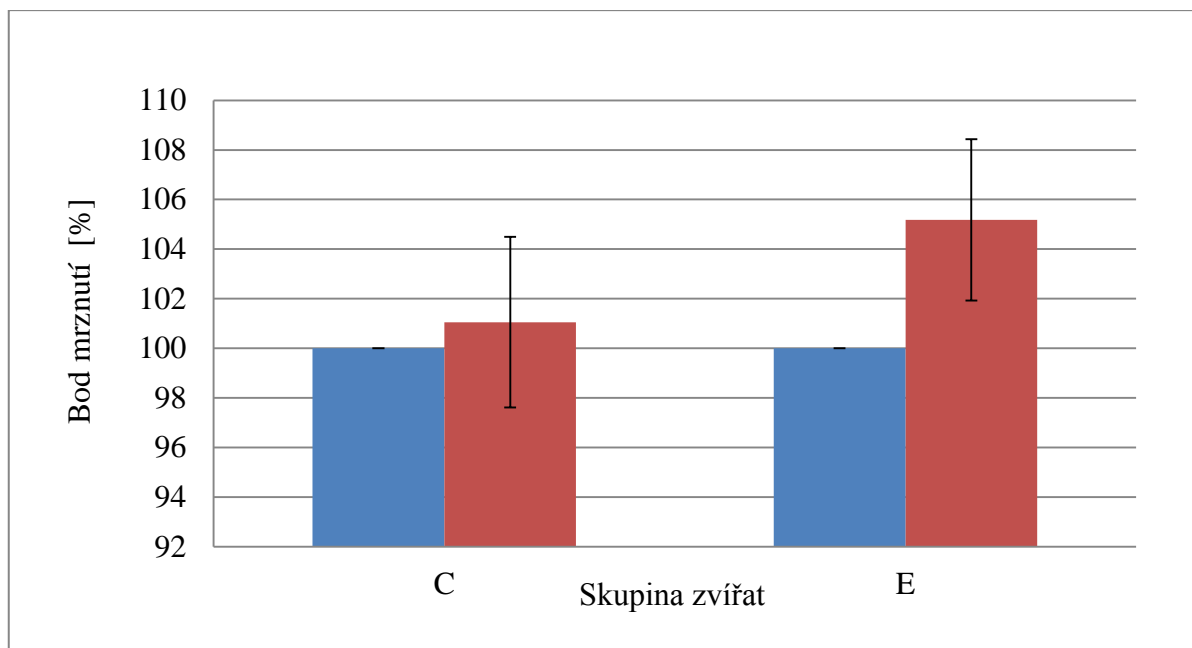
5.8 Účinek přídatku humátů v KD krav na fyzikálně-chemické a technologické parametry mléka

5.8.1 Bod mrznutí

Průměrný bod mrznutí mléka krav z C a E skupiny byl stanoven metodou infračervené spektroskopie na přístroji MilkoScan™ FT 120 (FOSS, DK) dle ČSN 57 0536 (1999) (viz kap. 4.3.1). Výsledky jsou uvedeny v tab. 19 a na obr. 8. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 20.

Tabulka 19: Vliv přídatku HL na bod mrznutí kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	Bod mrznutí [-°C]	Poměr bodu mrznutí [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	0,57	100,00	-
2	0,54	94,42	-5,58
3	0,56	97,70	-2,30
4	0,57	99,28	-0,72
5	0,56	98,11	-1,89
6	0,58	101,09	1,09
7	0,58	101,05	1,05
Skupina E			
1	0,56	100,00	-
2	0,54	97,18	-2,82
3	0,57	101,02	1,02
4	0,57	101,63	1,63
5	0,59	105,32	5,32
6	0,58	103,30	3,30
7	0,59	105,18	5,18



Obrázek 8: Vliv přídatku HL na bod mrznutí kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 10: Statistická analýza vlivu přídatku HL na bod mrznutí kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	<i>F</i> -test	<i>t</i> -test
Skupina C	0,80	$p > 0,05$ (-) ²
Skupina E	0,03	$p < 0,05$ (+) ¹

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

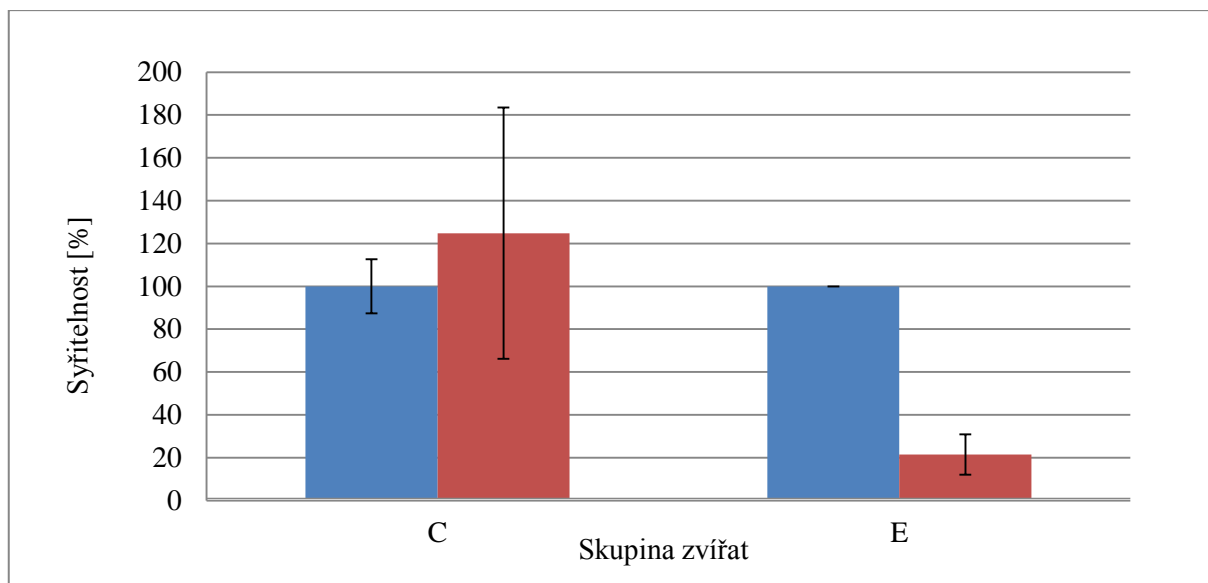
Na základě výsledků uvedených v tab. 19 a 20 a na obr. 8 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila bod mrznutí mléka. U obou skupin jeho hodnota v odběru 2 klesla a ve zbytku experimentu kolísavě rostla. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován pozvolný pokles u odběrů 2 až 5, poté hodnoty začaly mírně narůstat (+1,1 %). U skupiny E hodnoty močoviny narůstaly již od 3. odběru (+5,2 %). Na základě toho byla H_0 zamítnuta a přijata H_A , tedy že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p \leq 0,05$) ovlivnilo bod mrznutí jejich mléka.

5.8.2 Syřitelnost

Syřitelnost mléka byla stanovena dle postupu uvedeného v kap. 4.3.5. Výsledky syřitelnosti mléka krav z C a E skupiny jsou uvedeny v tab. 21 a na obr. 9. Statistické vyhodnocení vzorků je obsaženo v tab. 22.

Tabulka 11: Vliv přídatku HL na syřitelnost kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení

Odběr	Syřitelnost [min]	Poměr syřitelnosti [%]	Změna [%]
Skupina C			
1	02:48	100,00	-
2	03:18	112,08	12,1
3	03:07	123,49	23,5
4	03:05	122,82	22,8
5	03:05	122,82	22,8
6	03:07	123,49	23,5
7	03:10	124,83	24,8
Skupina E			
1	04:35	100,00	-
2	03:07	67,34	-32,7
3	02:27	57,30	-42,7
4	03:93	99,37	-0,6
5	03:78	95,78	-4,2
6	01:13	28,86	-71,1
7	00:85	21,52	-78,5



Obrázek 9: Vliv přídavku HL na syřitelnost kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou SD

Tabulka 12: Statistická analýza vlivu přídavku HL na syřitelnost kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_a = 0,05$

Statistický test	F-test	t-test
Skupina C	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$
Skupina E	< 0,01	$p < 0,05 (+)^1$

¹statisticky významný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

²statisticky nevýznamný rozdíl na zvolené hladině pravděpodobnosti

Na základě výsledků uvedených v tab. 21 a 22 a na obr. 9 lze říci, že suplementace KD dojnic přípravkem HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ) ovlivnila syřitelnost jejich mléka. U obou stád pokusných zvířat tento parametr kolísavě klesal, ačkoli v odběru 4 a 5 byl zaznamenán jeho nárůst. Při porovnání výchozího a konečného stavu byl pak u skupiny C pozorován nárůst (+24,8 %) a u skupiny E pokles (-78,5 %). Neboť statisticky významné ($p \leq 0,05$) změny v syřitelnosti však byly získány u obou pokusných stád, nelze je přičítat pouze suplementaci HL. Na základě toho byla H_0 přijata a uzavřeno, že doplnění KD krav o humáty statisticky průkazně ($p > 0,05$) neovlivnilo syřitelnost jejich mléka, která byla obecně dobrá.

5.8.3 Termostabilita

Tepelná stabilita kravského mléka dojníc z C a E skupiny byla stanovena dvojitým alkoholovým testem (viz kap. 4.3.6) a výsledky jsou uvedeny v tab. 23.

Tabulka 23: Vliv přídatku HL na tepelnou stabilitu kravského mléka

Skupina	Dojnice	Etanol [68 % obj.]	Etanol [75 % obj.]
C	123803	koagulace	koagulace
	141992	-	-
	133709	koagulace	koagulace
	142025	koagulace	koagulace
	142060	koagulace	koagulace
E	105562	koagulace	koagulace
	121347	koagulace	koagulace
	129788	koagulace	koagulace
	138936	koagulace	koagulace
	142062	koagulace	koagulace

Na základě výsledků uvedených v tab. 23 lze říci, že termostabilita mléka všech pokusných zvířat, s výjimkou krávy 141992, byla špatná, neboť vzorky koagulovaly přídatkem obou koncentrací etanolu. Z tohoto důvodu byla H_0 přijata a uzavřeno, že doplnění KD dojníc o humáty neovlivnilo tepelnou stabilitu jejich mléka.

6 Diskuze

Cílem diplomové práce bylo stanovení vlivu přídatku humátů do KD dojníc na obsah vybraných složek (ČB, WP, NPN, popelovin, FFA, citrátů a močoviny), fyzikálně-chemických (bod mrznutí) a technologických (syřitelnost a tepelná stabilita) vlastností kravského mléka. Do experimentu, který trval 3 kalendářní měsíce, bylo zapojeno celkem 10 zvířat 3 plemen (čistokrevný skot český strakatý, skot český strakatý křížený se skotem ayrshirským a skot český strakatý křížený se skotem holštýnským červeným) s pořadím laktace 1, 2, 3 a 6. Krávy byly náhodně rozděleny do 2 skupin, C a E. C stádo bylo krmeno standardně, E stádo dostávalo navíc 12 g.d⁻¹ HL ve formě přípravku HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ). Po celou dobu pokusu splňovaly analyzované vzorky (7 odběrů) všech zúčastněných dojníc legislativní požadavky dané Vyhláškou č. 397/2016 Sb.

Nejprve byl hodnocen účinek suplementace humáty na obsah dusíkatých látek v kravském mléce. Bylo zjištěno, že oproti výchozímu stavu (skupina C 3,2 % hm., skupina E 3,1 % hm.) množství ČB u E stáda statisticky významně ($p \leq 0,05$) vzrostlo na celkem 3,6 % hm., oproti statisticky nevýznamnému ($p > 0,05$) poklesu na 3,1 % hm., u zvířat ze stáda C. To lze patrně vysvětlit pozitivními účinky HL na organismus a metabolismus krav. Bylo totiž prokázáno, že humáty jsou schopné tvořit ochranný film na sliznici trávicího traktu, chránit ho tak proti toxinům a patogenním mikroorganismům a naopak podporovat symbiotické mikroorganismy v bachoru a probiotika ve střevech, díky čemuž by mělo být zabezpečeno lepší využití živin z krmiv. Jako měniče iontů a chelatační činidla také mohou zvyšovat vstřebávání dusíku (Agazzi et al., Islam et al., 2005; Mosley, 1996).

V případě ostatních stanovovaných dusíkatých látek (WP, NPN, močovina) pak změny v jejich obsazích v průběhu experimentu buď nebyly statisticky významné ($p > 0,05$, močovina), nebo se jejich výchozí a konečné množství statisticky významně ($p \leq 0,05$) lišilo u obou skupin pokusných dojníc, a tak nelze zaznamenané změny označit za výsledek přídatku HL. Tyto rozdíly je možno přisuzovat spíše dalším vlivům jako je různé stádium laktace, plemeno a individualita zvířete, jeho zdravotní stav a ošetrovatelská péče (Gajdůšek, 2003; Mudřík et Hučko, 2005; Stádník et al., 2009). Výsledky stanovení ostatních dusíkatých látek tedy prokázaly, že suplementace KD mléčného dobytka humáty může pozitivně působit na obsah ČB a CN v jejich mléce, aniž by navyšovala množství NPN a zejména močoviny, jež slouží jako ukazatel dobrého zdravotního stavu krav a zatížení jejich organismu nadbytečným příjmem dusíku (Islam et al., 2005; Mosley, 1996; Opletal et Šimerda, 2015; Walstra et al., 2006).

Dále byl charakterizován vliv aplikace HL na obsah popelovin kravského mléka. Při porovnání výchozího (skupina C 0,7 % hm., skupina E 0,6 % hm.) a konečného stavu byl pozorován u obou stád nárůst množství popelovin na 0,8 % hm., přičemž v případě skupiny C bylo toto navýšení statisticky významné ($p \leq 0,05$). Získané výsledky lze pravděpodobně opět vysvětlit pozitivním působením přídatku humátů do KD zvířat, neboť tyto sloučeniny jsou schopny zvyšovat vstřebávání dusíku, fosforu, mědi a železa v organismu díky svým ionexovým a chelatačním vlastnostem (Agazzi et al., Islam et al., 2005; Mosley, 1996).

Hodnocen byl též účinek suplementace KD krav HL na obsah FFA. Při porovnání výchozího (stádo C 1,4 mmol.l⁻¹, stádo E 2,5 mmol.l⁻¹) a konečného stavu byl pozorován u skupiny C statisticky nevýznamný ($p > 0,05$) nárůst množství FFA (1,5 mmol.l⁻¹), zatímco v případě skupiny E naopak statisticky nevýznamný ($p > 0,05$) pokles (2,2 mmol.l⁻¹). Ačkoli pozitivní vliv aplikace humátů na snížení obsahu FFA v mléce E stáda jednoznačně prokázán nebyl ($p > 0,05$), a proto byla přijata H_0 , zaznamenaný pokles v množství tohoto parametru by mohl být způsoben antioxidačními a antimikrobiálními vlastnostmi HL (Agazzi et al., 2007; Fulvic acid, 2017; Mosley, 1996; Opletal et Šimerda, 2009).

Při stanovení obsahu citrátů bylo zjištěno, že tento parametr u obou pokusných skupin v průběhu experimentu sice statisticky významně ($p \leq 0,05$) narůstal (z 0,14 % hm. u C a 0,15 % hm. u E na konečných 0,15 % hm. u C a 0,17 % hm. u E), avšak jeho množství nepřekročilo průměrný obsah typický pro kravské mléko (0,18 % hm.). Vyšší konečný obsah citrátů v E stádě pak odpovídal vyššímu průměrnému množství popelovin v mléce těchto zvířat. Vzhledem ke stejnému pozorovanému trendu v obou skupinách ho však nelze přisuzovat pouze účinku přídatku HL, ale spíše dalším vlivům jako je různé stádium laktace, plemeno a individualita zvířete, jeho zdravotní stav a ošetrovatelská péče (Gajdůšek, 2003; Mudřík et Hučko, 2005; Stádník et al., 2009; Walstra et al., 2006).

Z fyzikálně-chemických vlastností byl charakterizován účinek suplementace humáty na bod mrznutí kravského mléka. V průběhu pokusu byl opět pozorován postupný kolísavý nárůst tohoto parametru z původních -0,57 °C (C) a -0,56 °C (E) na -0,58 °C (C) a -0,59 °C (E), přičemž ve skupině E bylo snížení bodu mrznutí statisticky významné ($p \leq 0,05$). Parametr tak v průběhu celého experimentu odpovídal u obou stád standardnímu syrovému kravskému mléku (-0,54 až -0,59 °C). Nižší konečný bod mrznutí mléka E skupiny by mohl být pravděpodobně způsoben vyšším obsahem ČB a popelovin ($p \leq 0,05$) a tedy aplikací HL do KD (Islam et al., 2005; Mosley, 1996; Walstra et al., 2006).

Jako poslední byl zkoumán vliv přídatku humátů do KD dojníc na technologické vlastnosti jejich mléka, resp. na jeho syřitelnost a termostabilitu. Při porovnání s výchozím

stavem (stádo C 1,5 min, stádo E 2,5 min) syřitelnost vzorků postupně kolísavě klesala (s výjimkou odběru 4 a 5) na 0,9 min (C) a 0,5 min (E). Lze tedy říci, že hodnota tohoto parametru po celou dobu pokusu odpovídala dobře syřitelné surovině (≤ 5 až 7 min). Zaznamenaný pokles byl u obou skupin statisticky významný ($p \leq 0,05$), takže pozitivní účinek suplementace HL prokázán nebyl. Lepší syřitelnost mléka skupiny E by však mohla být pravděpodobně způsobena vyšším obsahem ČB, zejména CN, popelovin a citrátů ($p \leq 0,05$), potažmo Ca, a tedy přidavkem humátů do KD (Agazzi et al., 2007; Cvak et al., 1992; Islam et al., 2005; Mosley, 1996).

Tepelná stabilita všech analytů, kromě mléka od dojnice 141992 z C skupiny, byla naopak nízká a vzorky přidavkem obou koncentrací etanolu koagulovaly. Tyto výsledky mohou být pravděpodobně vysvětleny konzervací syrového mléka přípravkem s obsahem bronopolu, neboť konzervační činidla mohou rovněž ovlivňovat výstupy rozborů, případně celkově špatnou termostabilitou analyzovaného mléka, jež může být způsobena mimo jiné i výživou zvířat (Cvak et al., 1992; Gajdůšek, 2003).

7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo posoudit účinek aplikace humátů do KD dojnic na kvalitu kravského mléka. Hypotézou bylo, že suplementace HL bude ovlivňovat složení, fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti této suroviny. Stanovovanými parametry byly ČB, WP, NPN, popeloviny, FFA, citráty a močovina (vybrané hlavní a vedlejší složky), bod mrznutí, syřitelnost a termostabilita.

Při stanovení vybraných majoritních a minoritních složek bylo pozorováno, že mléko stáda C mělo oproti výchozímu stavu nižší obsah ČB ($p > 0,05$), WP ($p \leq 0,05$) a močoviny ($p > 0,05$) a naopak vyšší množství NPN ($p \leq 0,05$), popelovin ($p > 0,05$), FFA ($p > 0,05$) a citrátů ($p \leq 0,05$). Oproti tomu u skupiny E byl zaznamenán v porovnání s počátkem experimentu vyšší obsah ČB ($p \leq 0,05$), WP ($p \leq 0,05$), NPN ($p \leq 0,05$), popelovin ($p \leq 0,05$), citrátů ($p \leq 0,05$) a močoviny ($p > 0,05$) a naopak nižší množství FFA ($p > 0,05$). Na základě uvedených výsledků lze tedy uzavřít, že přídavek HL měl pozitivní vliv na obsah ČB a popelovin ($p \leq 0,05$). Potenciálně mohl též navyšovat množství WP, NPN a citrátů a snižovat obsah FFA, avšak na základě porovnání hodnot těchto parametrů mezi C a E stádem nelze vyloučit ani další faktory jako např. různé stádium laktace, plemeno a individualitu zvířete, jeho zdravotní stav a ošetrovatelskou péči.

Charakterizací vybraných fyzikálně-chemických, resp. bodu mrznutí, a technologických vlastností (syřitelnost a tepelná stabilita) bylo zjištěno, že bod mrznutí odpovídal během celé pokusné periody standardnímu syrovému kravskému mléku (-0,54 až -0,59 °C). Přesto však byl u E skupiny pozorován jeho statisticky významný ($p \leq 0,05$) pokles odpovídající statisticky významnému ($p \leq 0,05$) nárůstu ČB a popelovin a tedy pravděpodobně pozitivnímu účinku aplikace humátů. V případě syřitelnosti mléka, jež byla po celou dobu experimentu dobrá (≤ 5 až 7 min), a jeho termostability, jež byla naopak konstantně špatná, vliv suplementace HL prokázán nebyl.

Závěrem lze tedy konstatovat, že hypotéza práce byla potvrzena a HL ovlivnily kvalitu syrového kravského mléka, resp. jeho složení, fyzikálně-chemické a technologické parametry. Na základě získaných výsledků je možno říci, že by tyto sloučeniny mohly být s výhodou použity jako krmivový doplněk pro dojnice mléčného hovězího skotu, jež pozitivně ovlivní složení jejich mléka, zejména obsah proteinů a minerálních látek, což by mohlo být výhodné pro sýrařství.

8 Seznam literatury

Agazzi, A., Cigalino, G., Mancin, G., Savoini, G., Dell'Orto, V. 2007. Effects of dietary humates on growth and an aspect of cell-mediated immune response in newborn kids. *Small Ruminant research*. 72 (2 - 3). 242 - 245.

Bai, H. X., Chang, Q. F., Shi, B. M., Shan, A. S. 2013. Effects of fulvic acid on growth performance and meat quality in growing-finishing pigs. *Livestock Science*. 158.(1- 3) p. 118 - 123.

Büsing, K., Elhensheri, M., Entzian, K., Meyer, U., Zeyner, A. 2014. Microscopic examination of the intestinal wall and selected organs of minipigs orally supplemented with humic acids. *Research in Veterinary Science*. 96 (2). p. 308-310.

Cvak Z., Peterková L., Černá E. 1992. Chemické a fyzikálně-chemické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků. VÚPP Středisko potravinářských informací, Praha.

Červený, Č. 2004. Mléko jako potravina. *Farmář*. 10 (2) s. 43 - 46, ISSN: 2110-9789.

Českomoravská společnost chovatelů. 2017. Výsledky kontroly užitkovosti v České republice. Kontrolní rok 2016 - 2017.

ČSN 57 0530. Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků. 1974. Úřad pro normalizaci a měření. Praha. 108 s.

ČSN 57 0536. Stanovení složení mléka infračerveným absorpčním analyzátozem. 1999. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha. 12 s.

ČSN EN ISO 8968-1. Mléko a mléčné výrobky - Stanovení obsahu dusíku - Část 1: Metoda podle Kjeldahla a výpočet hrubého proteinu. 2014. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha. 18 s.

ČSN EN ISO 8968-5. Mléko - stanovení obsahu dusíku - Část 5: Stanovení obsahu bílkovinného dusíku. 2002. Český normalizační institut. Praha. 11 s.

Del Valle, T. A., de Jesus, E. F., de Paiva, P. G., Betiero, V. P., Zanferari, F., Acedo, T. S., Tamassia, L. F. M., Rennó, F. P. 2015. Effect of organic sources of minerals on fat-corrected milk yield of dairy cows in confinement. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 44 (3). p. 103 - 108.

Frelich, J 2011. Chov hospodářských zvířat I. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 129 s. ISBN 978-80-7394-298-4.

Fulvic Acid Research & Case Histories - Richest Source Of Fulvic Acid. Fulvic Acid [online]. © 2017, Fulvic Acid. [cit. 2017-10-27]. Dostupné z <<http://www.fulvicacidbydrjo.ca/research-case-studies/>>.

Gajdůšek, S. 2003. Laktologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno. s. 84. ISBN 80-7157-657-3.

Harris, S. L., Auldist, Martin J., Clark, D. A.; Jansen, E. B. L. 1998. Effects of white clover content in the diet on herbage intake, milk production and milk composition of New Zealand dairy cows housed indoors [cit. 2017-12-03] *Journal of Dairy Researches*, 65 (3). p. 389-400.

Chang, Q., Lu, Z., He, M., Gao, R., Bai, H., Shi, B., Shan, A. 2014. Effects of dietary supplementation of fulvic acid on lipid metabolism of finishing pigs [cit. 2017-11-15]. *Journal of Animal Science*. 92 (11) p. 4921-6.

Chirase, N. K., Greene, L. W., McCollum, F.T., Auvermann, B.W., Cole, N.A. 2000. Effect of Bovipro on performance and serum metabolites concentrations of beef steers. Western Section. *American Society of Animal Science Proceedings*. 51, p. 415 - 418.

Islam, K. M. S., Schuhmacher, A., Gropp, J. M. 2005. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4 (3). 126-134.

Kocabağlı N., Alp M., Acar N., Kahraman R. 2002. The effect of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield [cit. 2017-11-03]. *Poultry Science*. 81 (2) p. 227.

Kontrola podmíněnosti. 2017. Praha: Ministerstvo zemědělství. [cit. 09. 12. 2017]. ISBN 978-80-7434-357-5.

Matloup, O. H., Abd El Tawaba, A. M., Hassanb, A. A., Hadhouda, F. I., Khattaba, M. S. A., Khalelb, M. S., Sallamc, S. M. A., Kholif, A. E. 2017. Performance of lactating Friesian cows fed a diet supplemented with coriander oil: Feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood chemistry, and milk production [cit. 2017-09-13]. *Animal Feed Science and Technology*. 226, p. 88 - 97.

McCance, Widdowson's. 2008. *The Composition of Foods*, Royal Society of Chemistry, Cambridge a Food Standard Agency. ISBN 978-0-85404-428-3.

McMurphy, C., Duff G. C., Sanders, S. R., Cuneo, S. P., Chirase, N. K. 2011. Effects of supplementing humates on rumen fermentation in Holstein steers [cit. 2017-11-15]. *South African Journal of Animal Science*. 41 (2).

Metzger, L. *Humic & Fulvic acids*. 2009 [online]. New AG International [cit. 2017-12-26]. Dostupné z <<http://www.humintech.com/pdf/humicfulvicacids.pdf>>.

Mosley, R. 1996. Field trials of dairy cattle. Non-published research. Enviromate, Inc. August 1996.

Mudřík, Z., Hučko, B. 2001. Vliv výživy a krmení dojníc na kvalitu mléka. Česká zemědělská univerzita, Praha [cit. 07. 01. 2018].

Neto, S. G., Oliveira, R. L., Sá de Lima, F. H., de Medeiros, A. N., Bezerra, L. R., Viégas, J., do Nascimento, N. G., de Freitas Neto, M. D. 2015. Milk production, intake, digestion, blood parameters, and ingestive behavior of cows supplemented with by-products from the biodiesel industry. *Tropical Animal Health and Production*. 47 (1). 191 - 200.

Opletal, L. 2004. Využití krmných aditiv s ohledem na bezpečnost krmivového a potravinového řetězce. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha - Uhřetěves.

Opletal, L., Šimerda, B. 2009. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. 3. Metabolity rostlin využitelné pro zlepšení kvality potravin živočišného původu. Ministerstvo zemědělství ČR – Vědecký výbor pro výživu zvířat a Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha - Uhřetěves. [cit. 2017-10-03]. Dostupné z <<http://www.vuzv.cz/sites/OpletalMetabolityRostlin.pdf>>.

Opletal, L., Šimerda, B. 2015. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. 6. Látky ovlivňující tvorbu a kvalitu mléka u skotu. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha - Uhřetěves.

Rath N. C., Huff, W.E., Huff G.R. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens [cit. 2017-12-01]. Poultry Science. 85 (3) p. 410 - 414. Dostupné z <<https://academic.oup.com/ps/article/85/3/410/1573039/Effects-of-humic-acid-on-broiler-chickens-1>>.

Stádník, L., Ježková, A., Křížová, M. 2009. Vztah mléčné užitkovosti, zdraví a reprodukce dojnic. Náš chov: časopis pro živočišnou výrobu. 22 (12), s. 25 - 26.

Tedesco, D., Garavaglia, L., Spagnuolo, M. S., Pferschy-Wenzig, E. M., Bauer, R., Franz, C. 2015. In vivo assessment of an industrial waste product as a feed additive in dairy cows: Effects of larch (*Larix decidua* L.) sawdust on blood parameters and milk composition [cit. 2017-10-13] The Veterinary Journal. 206, (3) p. 322 - 326. Dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26526868>>.

Theurer, C. B. 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants [cit. 2017-11-16]. Journal of Animal Science. 63, p. 1649 - 1662. Dostupné z <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.620.7332&rep=rep1&type=pdf>>

Úřední věstník Evropské komise. Doporučení komise ze dne 14. ledna 2011, kterým se stanoví pokyny pro rozlišení mezi krmnými surovinami, doplňkovými látkami, biocidními přípravky a veterinárními léčivými přípravky (2011/25/EU) [online]. [cit. 2017-12-15]. Dostupné z <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011H0025>>.

Úřední věstník Evropské komise. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny

živočišného původu. [online]. [cit. 2017-12-15]. Dostupné z <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32004R0853>>.

Vavřínek, P. 2017. Huminové kyseliny ke zlepšení zdravotního stavu. *Náš chov*, 3. 5. 2017 [cit. 2017-11-27].

Vyhláška č. 397/2016 Sb, o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje [online]. [cit. 2018-0321]. Dostupné z <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397>>.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. 2006. *Dairy Science and Technology*. Taylor & Francis Group. p. 808. ISBN 0-8247-2763-0. [cit. 2017-08-13] Dostupné z <[http://197.14.51.10:81/pmb/AGROALIMENTAIRE/Lait%20et%20derives/Dairy%20Science%20and%20Technology%20\(CRC%202005\).pdf](http://197.14.51.10:81/pmb/AGROALIMENTAIRE/Lait%20et%20derives/Dairy%20Science%20and%20Technology%20(CRC%202005).pdf)>.

Williams, S. R. O., Deighton, M. H. Jacobs, J. L., Wales, W. J., Moate, P. J. 2014. Almond hulls and citrus pulp can be used as supplementary feeds for dairy cows, but neither has any methane mitigation potential. [cit. 2017-07-25] *Proceedings of the 5th Australasian Dairy Science Symposium*. Dostupné z <<http://www.adssymposium.com.au/inewsfiles/2014proceedings/52WilliamsADSS2014.pdf>>

Xu, C. Z., Wang, H. F., Yangm, J. Y., Wang, J. H., Duan, Z. Y., Wang, C., Liu, J. X., Lao, Y. 2014. Effects of feeding lutein on production performance, antioxidative status, and milk quality of high-yielding dairy cows [cit. 2017-08-28]. *Journal of Dairy Science*. 97 (11) p. 7144 - 50.

Ying, Y., Niu, M., Clarke, A. R., Harvatin, K. J. 2017. Short communication: Effect of a citrus extract in lactating dairy cows [cit. 2017-09-03]. *Journal of Dairy Science*. 100 (7) p. 5468 - 5471.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

A_p	aritmetický průměr
C	kontrolní skupina dojnic
CN	casein (kasein)
ČB	čisté bílkoviny
E	experimentální skupina dojnic
FFA	free fatty acids (volné mastné kyseliny)
HB	hrubé bílkoviny
KD	krmná dávka
MCA	milk-clotting activity (koagulační aktivita mléka)
NPN	non-protein nitrogen (nebílkovinné dusíkaté látky)
SD	směrodatná odchylka
TCA	acidum trichloraceticum (kyselina trichloroctová)
WP	whey protein (syrovátkové bílkoviny)

10 Přílohy

10.1 Seznam obrázků

Obrázek 1: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu ČB kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	21
Obrázek 2: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu WP kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	23
Obrázek 3: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu NPN kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	25
Obrázek 4: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu popelovin kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	27
Obrázek 5: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu FFA kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	29
Obrázek 6: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu citrátů kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	31
Obrázek 7: Vliv přídavku humátů na změnu obsahu močoviny v kravském mléce. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	33
Obrázek 8: Vliv přídavku humátů na bod mrznutí kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku	35
Obrázek 9: Vliv přídavku humátů na syřitelnost kravského mléka. ■ 1. odběr, ■ 2. odběr. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p z 2 paralelních měření, chybové úsečky zobrazují příslušnou směrodatnou odchylku.....	37

10.2 Seznam tabulek

Tabulka 1: Identifikace zkoumaných vzorků.....	12
Tabulka 2: Harmonogram odběru vzorků syrového kravského mléka.....	13
Tabulka 3: Složení práškové formy přípravku HUMAFIT (ReConsulting a.s., CZ)	13
Tabulka 4: Referenční metody kalibrace vybraných parametrů programu Improved Milk (FOSS, DK)	15
Tabulka 5: Vliv přídatku HL na obsah ČB kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	20
Tabulka 6: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah ČB kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,01$	21
Tabulka 7: Vliv přídatku humátů na obsah WP kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	22
Tabulka 8: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah WP kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	23
Tabulka 9: Vliv přídatku HL na obsah NPN kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	24
Tabulka 10: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah NPN kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	25
Tabulka 11: Vliv přídatku HL na obsah popelovin kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení.....	26
Tabulka 12: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah popelovin kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	27
Tabulka 13: Vliv přídatku HL na obsah FFA kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	28
Tabulka 14: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah FFA kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	29
Tabulka 15: Vliv přídatku HL na obsah citrátů kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	30
Tabulka 16: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah <i>citrátů</i> kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	31
Tabulka 17: Vliv přídatku HL na obsah močoviny v kravském mléce. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení.....	32

Tabulka 18: Statistická analýza vlivu přídatku HL na obsah močoviny kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	33
Tabulka 19: Vliv přídatku HL na bod mrznutí kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	34
Tabulka 20: Statistická analýza vlivu přídatku HL na bod mrznutí kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	35
Tabulka 21: Vliv přídatku HL na syřitelnost kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě A_p ze 2 paralelních stanovení	36
Tabulka 22: Statistická analýza vlivu přídatku HL na syřitelnost kravského mléka. $\alpha = 0,05$; $p_\alpha = 0,05$	37
Tabulka 23: Vliv přídatku HL na tepelnou stabilitu kravského mléka	38