

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat

**Studium různých faktorů působících na vybrané kvalitativní
ukazatele kozího mléka**

Disertační práce

Doktorand: Ing. Klára Novotná

Školitel: doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.

Konzultant: doc. Ing. Milena Fantová, CSc.

Praha 2019

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou disertační práci na téma „**Studium různých faktorů působících na vybrané kvalitativní ukazatele koziho mléka**“ vypracoval samostatně a použila jsem pramenů, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Praze dne 8. srpna 2019

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala doc. Ing. Luděkovi Stádníkovi, Ph.D. a doc. Ing. Mileně Fantové, CSc. za vedení disertační práce. Také bych ráda poděkovala kolegům z České zemědělské univerzity v Praze, Výzkumného ústavu živočišné výroby v.v.i. v Praze Uhřetěvesi, z Milcomu a.s., Mikrobiologického ústavu AV ČR v.v.i. a EcoFuel laboratories s.r.o., kteří se účastnili výroby aditiv, zpracování vzorků a výsledků. Jmenovitě Ing. Lence Nohejlové, Ing. Markétě Borkové, Ph.D., Ing. Janě Rychtářové, Ph.D., Ing. Aleně Svitákové, Ph.D. a Ing. Jiřímu Kopeckému, CSc.

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Literární přehled.....	8
2.1. Mléčná produkce malých přežvýkavců	8
2.2. Význam kozího mléka pro spotřebitele	9
2.3. Vemeno koz.....	10
2.4. Složení kozího mléka.....	10
2.4.1. Sacharidy	11
2.4.2. Bílkoviny	11
2.4.3. Mléčný tuk	12
2.4.4. Mastné kyseliny obsažené v kozím mléce.....	13
2.4.4.1. Nasycené mastné kyseliny	13
2.4.4.2. Nenasycené mastné kyseliny.....	14
2.4.5. Vitamíny obsažené v mléce	15
2.4.6. Minerální látky obsažené v mléce.....	15
2.4.7. Somatické buňky	16
2.5. Ovlivnění složení a množství mléka výživou	17
2.6. Řasy	18
2.6.1. Využití řas ve výživě lidí	19
2.6.2. Využití řas ve výživě zvířat	20
2.6.3. <i>Chlorella vulgaris</i>	22
2.6.4. <i>Japonochytrium</i> sp.	23
2.7. Lněné semínko.....	24
2.8. Funkční potraviny.....	24
3. Hypotéza a cíle práce.....	26
4. Metodika.....	27
4.1. Metodický okruh I.	30

4.2. Metodický okruh II.....	31
4.3. Metodický okruh III.....	32
4.4. Metodický okruh IV.....	33
4.5. Metodický okruh V.....	35
5. Publikované práce.....	36
6. Výsledky a souhrnná diskuse.....	72
7. Celkové shrnutí.....	81
8. Publikační aktivity autora.....	83
9. Použité zkratky.....	87
10. Použitá literatura.....	88

1. Úvod

Mléko malých přežvýkavců je v lidské stravě velice důležité, přesto stále výrazně převyšuje spotřeba kravského mléka. V posledních letech se výrazně rozšiřují chovy ovcí a koz, a to nejen v rozvojových zemích, ale i ve vyspělých zemích, kvůli zvyšující se poptávce po kvalitních mléčných produktech (Haenlein, 2007). Jedním z důvodů zvýšeného zájmu o mléčné produkty a mléko malých přežvýkavců jsou především publikované poznatky o jejich příznivých dietetických i léčebných účincích. Škála výrobků z kozího a ovčího mléka je velmi široká, od naturálního mléka, přes sušené mléko, měkké a tvrdé sýry, zrající sýry, jogurty, zakysané výrobky, až po máslo (Callec, 2002).

Uvádí se, že mléko malých přežvýkavců je vhodnější pro lidi trpící alergiemi, podvýživou, různými gastrointestinálními poruchami a velký význam má u lidí trpících intolerancí na laktózu kravského mléka (Raynal – Ljutovac et al., 2008). I přes pozitivní účinky kozího mléka na lidské zdraví, je naší snahou pozměnit jeho složení, aby obsahovalo ještě více prospěšných látek, například omega-3 mastných kyselin (MK), které působí blahodárně na lidský organismus a došlo tak k navýšení poptávky u spotřebitelů. Výživa je jedním z hlavních faktorů, jak lze ovlivnit složení mléka. Zdraví prospěšné MK se vyskytují především v rybím tuku (Shingfield et al., 2006), dále ve lněném semínku, lněném oleji, pšeničných klíčcích, čerstvém ovoci a zelenině, česneku, olivovém oleji, vlašských ořešcích, sójových bobech, sójovém oleji a řepkovém oleji (Chichlowski et al., 2005; Jones et al., 2005, Nudda et al., 2005). V dnešní době se neustále hledají nové zdroje polynenasycených mastných kyselin, proto se čím dál častěji využívají různé druhy řas a mikrořas.

V průběhu pokusu byla testována zelená mikrořasa *Chlorella vulgaris*, kultivovaná heterotrofně i autotrofně (Mikrobiologický ústav AV ČR v.v.i.) a mořská mikrořasa *Japonochytrium* sp. kultivovaná v laboratorních podmínkách (EcoFuel laboratories s.r.o.). Dále byl na základě odborné literatury do experimentu zahrnut další přídatek vysokým obsahem omega-3 polynenasycených mastných kyselin. Byl zkoumán vliv přídatku extrudovaného lněného semínka a lněného oleje do krmné dávky koz (1. zemědělská a.s., Chorušice, ČR) na množství omega-3 MK v kozím mléku a jogurtovém nápoji z něj vyrobeném.

Na kvalitě mléka a také mléčných produktů se ovšem podílí i další faktory, jako je například mikrobiální znečištění vemene, zdravotní stav vemene a jeho samotné utváření.

Důležitým standardem pro detekci mastitidy je určení bakteriologického stavu, ale v chovech se tyto analýzy provádějí ojediněle, protože jsou časově náročné a nákladné. V této disertační práci jsou také sledovány souvislosti mezi lineárním popisem tvarových charakteristik vemene a kvalitou mléka a jeho mikrobiálním znečištěním.

2. Literární přehled

2.1. Mléčná produkce malých přežvýkavců

Produkce kozího a ovčího mléka je dynamické a rostoucí odvětví, které má zásadní význam pro stovky milionů lidí po celém světě a je důležitou součástí ekonomiky v mnoha zemích (Silianikove et al., 2010). Kravské mléko sice dominuje celosvětové mléčné produkci, avšak kozí mléko zaujímá třetí a ovčí mléko čtvrté místo. Ve vyspělých zemích, je mléko koz a ovcí považováno za zdravější alternativu ke kravskému mléku s výraznými organoleptickými vlastnostmi, v rozvojových zemích je nezbytným nástrojem k překonání sociálních a hospodářských problémů jako je chudoba a podvýživa (Lérias et al., 2014). Odhadem více než 80 % světové populace koz se nachází v Asii a subsaharské Africe (Morand-Fehr et al., 2004; 2007). Nový Zéland, Austrálie, Jižní Amerika a Afrika patří k největším producentům ovčího mléka (Heanlein, 2007).

Chov koz má v České republice dlouholetou tradici, v roce 1945 se zde chovalo 1 484 497 koz, poté došlo s nástupem tržního hospodářství k výraznému poklesu, v roce 1980 se stav snížil na 46 635 kusů. Nejnižší stavy koz byly roku 2005, a to pouhých 12 623 kusů. V dnešní době vzrůstá obliba ekologického zemědělství a produkce ekologických výrobků a biopotravin, to ovlivnilo i chov koz. Podle Českého statistického úřadu se v roce 2013 chovalo v České republice 24 042 koz, v dalších letech jejich množství stále rostlo, v roce 2017 se chovalo dokonce 28 174 koz a nejnovější záznamy ukazují, že v roce 2018 se chovalo již 30 316 kusů.

Na většině farem jsou kozy chovány v menších stádech. Jejich chov je zaměřen na výrobu mléčných výrobků a především sýrů, jejichž cena se pohybuje v posledních letech od 240 do 275 Kč za kg. Produkce kozího mléka je oproti kravskému nižší, avšak v posledních letech je zaznamenán celosvětový nárůst jeho produkce i spotřeby. V České republice se pohybuje roční tržní produkce kozího mléka okolo 1600 tis. litrů a jeho spotřeba na jednoho obyvatele je 0,3 l za rok. Velká část kozích farem hospodaří v režimu ekologického zemědělství, což navyšuje hodnotu výrobků z kozího mléka.

2.2. Význam kozího mléka pro spotřebitele

Škála výrobků z mléka malých přežvýkavců je velmi široká, od naturálního mléka, přes sušené mléko, měkké a tvrdé sýry, zrající sýry, jogurty, jogurtové nápoje, zmrzliny, zakysané výrobky, podmáslí, máslo, kondenzovaných nebo sušených výrobků a sladkostí (Callec, 2002; Ribeiro et Ribeiro, 2010). Kozí mléko se prodává tzv. naturální, nebo různě upravené (obohacené o vitamíny, minerální látky, s navýšeným obsahem omega-3MK atd.), kdy lze hovořit o tzv. funkční potravíně. Také se zvyšuje poptávka po výrobcích ze syrovátky kozího mléka, jako jsou syrovátkové nápoje, žvýkácí tablety, syrovátkové proteinové koncentráty. Další využití nachází kozí mléko v kosmetickém průmyslu, kde se využívá při výrobě krémů, mýdel, šampónů na vlasy apod. (Ribeiro et Ribeiro, 2010). Kvalitní výrobky mohou být vyrobeny pouze z kvalitního mléka, které vydrží potřebnou technologii zpracování při vzniku daného výrobku. Kozí mléko je svým složením podobnější mateřskému mléku, na rozdíl od mléka kravského obsahuje méně α_{s1} -kaseinu a více β -kaseinu než kravské mléko (Silianikove et al, 2010). Také množství vitamínu A, niacinu a přebytku thiaminu, riboflavinu a kyseliny pantotenové v kozím mléce je vhodné pro dětskou výživu. Spotřeba kozího mléka a výrobků z kozího mléka je spojována s blahodárnými účinky na zdraví spotřebitele. Kozí mléko má významný nutriční i ekonomický význam v rozvinutých i rozvojových zemích. V porovnání s kravským mlékem má jedinečné biologické vlastnosti, například vysokou pufrací kapacitu, lepší stravitelnost a zásaditost, je to nosič fytoosterolů a různých druhů probiotických bakterií (Park et al., 2007). Kozí mléko má spoustu pozitivních účinků na zdraví spotřebitele, je vhodné například jako náhrada pro lidi trpící alergií na kravské mléko. Uvádí se, že až okolo 40 – 100 % lidí alergických na bílkoviny kravského mléka toleruje bílkoviny kozího mléka (Park, 1994). Specifické zastoupení mastných kyselin v kozím mléce má pozitivní vliv na kardiovaskulární a gastrointestinální onemocnění, dále byly prokázány pozitivní účinky u lidí trpících epilepsií, cystickou fibrózou, žlučovými kameny a malasorbčním syndromem (Haenlein, 2004). Kozí mléko působí také pozitivně na nervovou soustavu. Jeho pravidelná konzumace vede ke snížení nervozity, stresu a úzkostných stavů, dochází ke zlepšení celkové kondice, imunitního systému, onemocnění kůže a artrózy (Fantová et al., 2012).

2.3. Vemeno koz

Vemeno koz má kuželovitý tvar, především u starších zvířat je hluboko ventrálně protažené. Skládá se ze dvou polovin, které jsou zakončené kuželovitými struky. U bílých plemen koz je vemeno růžové, u barevných plemen bývá hnědě pigmentované a pokryté jemnými chlupy. Každá polovina vemene koz i ovcí obsahuje jednu mléčnou žlázu s jedním mlékojemem, který úzkým strukovým kanálkem vyúsťuje na vrcholu struku. Mlékojem ovce je velmi malý, nezřetelně rozdělený na žlázový a strukový oddíl. U kozy je mlékojem prostornější a vyúsťuje do něj 6 - 9 širokých mlékovodů (Tančin et al., 2001).

Pro produkci mléka pro spotřebitele i pro přirozený odchov kůzlat je základním předpokladem funkční a správně utvářené vemeno. Anatomická stavba vemene přímo souvisí s množstvím a kvalitou mléka, vhodností pro strojní dojení, rezistenci vůči onemocněním mléčné žlázy, dojitelností či schopností kůzlat najít a uchopit struk (Milerski et Schmidová, 2016; Adam et al., 2017). Pro chovatele skotu jsou velmi důležité vnější vlastnosti vemene, jako je velikost, tvar, zavěšení vemene, velikost, tvar a vzdálenost struků. Všechny tyto vlastnosti mají vliv na produkci mléka a jeho kvalitu. Podle Milerski et Schmidová (2016) jsou zvířata s velkými cisternami obecně lepšími producenty mléka a také lépe snášejí větší intervaly mezi dojeními. V rámci šlechtitelských programů dojených plemen hospodářských zvířat jsou často používány systémy lineárního popisu vybraných charakteristik vemen (Urban et al., 1997). Ovšem selekce zaměřená pouze na produkci mléka může být spojena se zhoršováním tvarových charakteristik vemen (Mačuhová et al., 2008). Což může vést ke zhoršení zdravotního stavu vemen a k mikrobiálnímu znečištění mléka.

2.4. Složení koziho mléka

Mléko je polydisperzní systém, kde voda zajišťuje disperzní prostředí, rozptýlené částice představují disperzní fáze. Ty mohou být molekulární (laktóza, chloridy, fosforečnany, citráty), koloidní (proteiny), nebo emulzní (mléčný tuk). Jako specifické složky mléka označujeme lehce stravitelný mléčný tuk, laktózu, kaseiny, laktoglobuliny a laktalbuminy (Kindsedt, 2005).

Kozi mléko obsahuje v průměru 89 % vody, 11 % sušiny, 3,5 % tuku, 3,4 % bílkovin, 4,5 % laktózy a 0,8 % popelovin (Teubner, 1998). Složením je velmi podobné mléku kravskému, je v něm obsaženo nepatrně více tuků, sirných aminokyselin, vápníku, fosforu,

draslíku, hořčíku, manganu, vitamínu A, B₂ a niacinu, mastných kyselin (MK) s krátkým řetězcem, ale obsahuje méně celkových bílkovin, vitamínu E, B₆, B₁₂, kyseliny listové, karotenu, železa, hořčíku, zinku a selenu (Park et al., 2007). Mléko koz má téměř bílou barvu, kvůli omezené schopnosti vstřebávat a vylučovat do mléka β – karoten. Mléko koz je nutričně velice hodnotné, lehce stravitelné a zdravé (Přidalová et al., 2009).

2.4.1. Sacharidy

Sacharidy v mléce jsou vyjádřeny zastoupením laktózy, mohou ale zahrnovat i další sacharidy. Laktóza patří mezi nejstabilnější složku mléka (Frandsen et al., 2009). Obsah laktózy v kozím mléce je o 0,2 - 0,5 % nižší než v mléce kravském, průměrný obsah laktózy v kozím a ovčím mléce je 4,1 až 4,8 % (Park et al., 2007; Fantová et al., 2012). Avšak její obsah se v průběhu laktace mění, v mlezivovém období a na konci laktace je obsah laktózy nižší než v jejím průběhu (Park et al., 2007). Laktóza se získává především ze syrovátky, je velmi důležitá při výrobě sýrů, kde slouží jako zdroj energie pro startovací kulturu (Swasigood, 1995; Kindsedt, 2005). Důležitým prekurzorem laktózy u přežvýkavců je kyselina propionová vznikající při fermentačních procesech v bacheru (Frandsen et al., 2009). Dále se v mléce vyskytuje v menší míře D-glukóza a další oligosacharidy, glykopeptidy a glykoproteiny, které jsou velmi cenné pro růst střevní mikroflóry mláďate (Park et al., 2007).

2.4.2. Bílkoviny

Mléčné bílkoviny jsou jednou ze základních složek výživy zvířat i lidí, protože obsahují všechny základní aminokyseliny ve správném poměru (Cozma et al., 2011). Mléko všech přežvýkavců se řadí mezi kaseinová mléka. Celkový obsah bílkovin v kozím mléce se téměř neliší od mléka kravského, ale liší se zastoupením jednotlivých proteinů, kravské obsahuje například více alergenního α - kaseinu (Restani et al., 1997; Ruiters et al., 2007). Rozdílné zastoupení bílkovin v kravském, kozím a ovčím mléce je důvodem, že 60 – 70 % konzumentů, kteří jsou alergičtí na kravské mléko, nejsou alergičtí na mléko kozí a ovčí (Raynal – Ljutovac, 2008). S obsahem syrovátkových bílkovin je často spojována dobrá stravitelnost a využitelnost mléka malých přežvýkavců. Syrovátkové proteiny se v mléce nachází v rozsahu 0,6 – 0,7 % a jsou výhodné jak z hlediska výživy, tak z fyziologických a funkčních vlastností mléka (Bernacka, 2011).

Genetický polymorfismus kaseinů v mléce je velmi důležitý, protože kaseiny mají zásadní vliv na složení a technologické vlastnosti mléka (Swasigood, 1995; Gajdůšek, 2003).

Pro mléčné bílkoviny jsou typické základní fyzikální vlastnosti všech proteinů, jako je agregace, koagulace, denaturace, fluorescence. Bílkoviny kozího mléka jsou dobře stravitelné, v trávicím ústrojí se srážejí v drobných vločkách, což napomáhá účinku trávicích enzymů. Jemnost sraženiny je ovšem nevýhodná při výrobě sýrů a jogurtů (Zajkovskij, 1953; Feagan, 1979; Gajdůšek, 2003).

2.4.3. Mléčný tuk

Mléčný tuk patří mezi nejdůležitější složky mléka z hlediska fyzikálních a senzorických vlastností, výživového a také ekonomického. Je to jedna z nejvýznamnějších živin, jež lidský organismus potřebuje pro zdravý vývoj. V kozím mléce se množství tuku pohybuje v průměru okolo 3,8 % u ovčího mléka dokonce okolo 7,2 % (Chilliard et al., 2003; Park et al., 2007). Mléčný tuk je složený z 98 % z triacylglycerolu (TAG), dále z glycerolu, fosfolipidů, cholesterolu a volných mastných kyselin (VMK). Nejvýznamnějšími lipidy v mléce jsou fosfolipidy. Hlavními zástupci fosfolipidů jsou fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin, sfingomyelin. Další mléčné tuky jsou steroly, jako je cholesterol, ergosterol, tokoferol (Smolenski et al., 2007). Podle Szmatoła et al. (2013) se kozí mléko vyznačuje celkově nižší hladinou cholesterolu (16,90 – 18,09 mg/100 g), než mléko kravské (25,60 – 31,40 mg/100 g), ovčí mléko obsahuje také nižší množství cholesterolu než kravské mléko (v průměru 27 mg/100 g). Tuk se vyskytuje v mléce ve formě tukových kuliček. Velikost tukových kuliček v kozím a ovčím mléce je mnohem menší, než v kravském, což způsobuje lepší trávení a metabolismus tuků kozího a ovčího mléka. Menší velikost tukových kuliček v kozím a ovčím mléce způsobuje jemnější texturu mléčných výrobků (Silianikove et al., 2010; Szmatoła et al., 2013). Kravské mléko tvoří mnohem snadněji a rychleji smetanu díky přítomnosti aglutininu, který způsobuje shlukování tukových kuliček, v kozím mléce aglutinin se nevyskytuje (Park et al., 2007).

Specifická chuť kozího mléka souvisí s vyšším obsahem mastných kyselin (MK) s krátkým řetězcem, především kyseliny kaprinové, kapronové a kaprylové (C6 – C10). Celkový obsah mastných kyselin v kravském mléku je 8 %, v ovčím 12 % a kozím 16 % (Chilliard et al., 2003).

Mléčný tuk se syntetizuje zejména z kyseliny octové a kyseliny máselné, tyto kyseliny mají rozhodující vliv na množství vytvořeného mléčného tuku a tučnosti mléka. Složení mléčného tuku a především zastoupení jednotlivých MK v mléce přežvýkavců je velmi variabilní, může se měnit v závislosti na krmném režimu, zkrmování krmných aditiv, zdravotním stavu, podmínkách ustájení apod. (Swasigood, 1995; Park et al., 2007).

Podle množství tuku v mléce lze určit kvalitu výživy dojnice, zdraví dojnice, hygienu a správnost dojení a uchovávání mléka (Smolenski et al., 2007). Na tučnosti mléka se podílí i některé hormony. Vyšší aktivita štítné žlázy ovlivňuje tvorbu a využití kyseliny octové a máselné. Při nedostatku hormonů štítné žlázy, dochází k snížení dojivosti a především tučnosti mléka (Collier et al., 2012).

2.4.4. Mastné kyseliny obsažené v kozím mléce

Mastné kyseliny (MK) jsou základní stavební složkou lipidů a z hlediska výživy jsou jejich nejvýznamnější složkou. Profil a zastoupení mastných kyselin ovlivňuje technologické, nutriční ale i sensorické vlastnosti mléka. Dále ovlivňují oxidační stabilitu mléka, teplotu tání a krystalizaci (Samková et al., 2009). Pouhých pět MK zaujímá více než 75 % z celkových MK v mléce, a to kyselina kaprinová (C10:0), myristová (C14:0), palmitová (C16:0), stearová (C18:0) a olejová (C18:1). Metabolicky cenné mastné kyseliny jsou významně více zastoupené v kozím a ovčím mléce (Alonso et al., 1999; Goudjil et al., 2004).

2.4.4.1. Nasycené mastné kyseliny

Nasycené MK (saturated fatty acid, SFA) jsou běžnou složkou přírodních lipidů, v mléčném tuku obecně tvoří 53 – 72 % ze všech MK (Chilliard et al., 2003). Specifická chuť ovčího a především kozího mléka souvisí s vyšším obsahem mastných kyselin s krátkým řetězcem, především kyseliny kaprinové, kapronové a kaprylové (C6, C8, C10). Jejich obsah se v kozím mléce pohybuje v rozmezí 15 až 18 %, zatímco v mléce kravském pouze mezi 5 až 9 % (Goudjil et al., 2004). Tyto nasycené mastné kyseliny s nízkým nebo středně dlouhým počtem uhlíků v molekule jsou z nutričního hlediska velmi prospěšné. Na rozdíl od negativních účinků vyšších nasycených mastných kyselin, mají mnoho pozitivních účinků a využívají se při léčbě chorob srdečních, střevního systému, cystické fibrózy a také při problémech se žlučníkem (Jandal, 1996; Sanz Sampelayo et al., 2007).

2.4.4.2. Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené MK se rozlišují na mononenasyčené (MUFA) a polynenasycené (PUFA). Obsah MUFA se v mléce pohybuje v rozmezí 2,5 % - 5 % z celkového množství mastných kyselin v závislosti na druhu a ročním období (Park et al., 2007). Polynenasycené mastné kyseliny nejsou u přežvýkavců syntetizovány v tkáních, proto je jejich koncentrace v mléce závislá na množství absorbovaném ve střevě (Chilliard et al., 2003). Pro zdraví konzumenta hrají velice důležitou roli omega-3 MK, jako je EPA (eikosapentaenová kyselina) a DHA (dokosahexaenová kyselina), které jsou nedílnou součástí lidských buněk, kde se podílí na stavbě buněčné membrány (Park et al., 2007). Bylo zjištěno, že omega-3 MK snižují krevní tlak a výskyt srdečního onemocnění, bojují proti ateroskleróze, kardiovaskulárním onemocněním, regulují hladinu cholesterolu v krvi, ovlivňují metabolismus vápníku a tím omezují srážlivost krevních destiček (Heanlein, 2004; Park et al., 2007). Zatímco omega-3 MK bývají obsaženy v potravinách ve stopovém množství, mastné kyseliny skupiny omega-6 jsou obsaženy v průměrné stravě v dostatečném množství, takže jejich doplňky nejsou obvykle nutné. I přes to, mají příznivé účinky, například esenciální kyselina gama linolenová (GLA) má protizánětlivé vlastnosti. Ovlivňuje zdraví kůže, vlasů, nehtů a všeobecně pomáhá navození hormonální a emocionální rovnováhy (Park et al., 2007).

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) je jednotné označení pro řadu polohových a geometrických izomerů kyseliny linolové s konjugovanými dvojnými vazbami. Udává se, že CLA působí pozitivně na zdraví člověka díky jejím antidiabetickým, antikarcinogenním, antiaterogenním či imunomodulačním účinkům. Bohatým zdrojem CLA je pro konzumenty mléko a maso přežvýkavců (Tsiplakou et al., 2007). Hlavním isomerem CLA je kyselina rumenová (*cis*-9, *trans*-11 izomer), což představuje až 90 % z celkového množství CLA. Dalším isomerem CLA je *trans*-10, *cis*-12, tento isomer snižuje tučnost mléka a krevních lipidů. CLA vzniká u přežvýkavců při biohydrogenaci v batoru z kyseliny vakcenové (C18:1 n-11). Po vstřebání do tenkého střeva se stává substrátem pro Δ 9-desaturasu, díky které se změní v *cis*-9, *trans*-11 CLA (Savoini et al., 2010).

Omega-3 a omega-6 mastné kyseliny na sebe vzájemně působí, pro dobré zdraví má zásadní význam jejich rovnováha (Komprda, 2003). Doporučený poměr SFA, MUFA a PUFA je $< 1 : 1,4 : > 0,6$ a poměr PUFA omega-6 : omega-3 by měl být maximálně 5 : 1 (Samková et al., 2009). Zastoupení MK v mléce není konstantní, závisí především na obsahu a složení krmné dávky (Szmatola et al., 2013).

Další velmi významná úloha tuku v mléce je transport vitamínů rozpustných v tucích (vitamíny A, D, E, K). Mléčný tuk kozího mléka má na rozdíl od kravského bílou barvu, která je způsobena prakticky nulovým obsahem karotenoidů. Karoteny plní v organismu funkci provitaminů A (Collier et al., 2012).

2.4.5. Vitamíny obsažené v mléce

Mléko je mimo jiné zdrojem vitamínů, což jsou esenciální, nízkomolekulární látky nezbytné pro spousty biochemických reakcí v lidském organismu, mají funkci katalyzátorů, podílejí se na metabolismu bílkovin, cukrů i tuků. Kozí i ovčí mléko obsahuje vitaminy lipofilní i hydrofilní, jejichž obsah může značně kolísat, proto je jeho vitamínová hodnota variabilní stejně jako u kravského mléka (Drbohlav et Vodičková, 2001). V mléce je obsažen především vitamín A, B₂ a karotenoidy, v menší míře další vitamíny rozpustné v tucích - D, E, K. Kozí mléko má vyšší obsah vitamínu A než mléko kravské, a díky tomuto je velmi vhodné pro výživu kojenců (Fantová et al., 2012). Vitamíny A, D, E nejsou v bachoru syntetizovány, jejich obsah v mléce je přímo ovlivněn krmnou dávkou (Zajkovskij, 1953; Kindsedt et al, 2005). V ovčím mléce je na rozdíl od kravského a kozího nejvyšší obsah vitamínů B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₁₂, C a D. Množství vitamínů B₂, B₆, B₁₂, D je dokonce dvojnásobné. Vitamín B₁₂ je produkován mikroorganismy trávicího traktu přežvýkavců, jeho denní dávka je obsažena v pouhých 2 dcl ovčího mléka (Teubner, 1998). Oproti kravskému mléku má kozí mléko nedostatek kyseliny listové a vitamínu B₁₂, to může vést k tzv. anémii z kozího mléka, protože tyto vitamíny jsou nezbytné pro syntézu hemoglobinu (Park et al., 2007).

2.4.6. Minerální látky obsažené v mléce

Mléko obsahuje asi třicet různých minerálů, ale jen málo z nich jsou přítomny ve větším množství než stopovém. Celkový obsah minerálních látek se v kozím mléce vyskytuje v rozmezí 0,70 – 0,85 % a v ovčím mléce je množství minerálních látek ještě vyšší (Silianikove et al., 2010). Dva nejhojnější minerály v mléce jsou vápník (Ca) a fosfor (P). U obsahu Ca a P je také důležité, v jaké formě se v mléce vyskytují. Téměř 68 % Ca se v mléce vyskytuje v koloidní formě, 11 % ve formě iontové. U fosforu je průměrně 1/3 v rozpustné formě a zbylé 2/3 ve formě anorganických solí. Průměrný obsah vápníku je 134 mg/100 g mléka, u fosforu je to hodnota kolem 121 mg/100 g (Park et al., 2007). Kozí mléko obsahuje

vyšší podíl Ca, P, K, Mg, Cl než mléko kravské. Obsah Na, S, Fe a Cu je však v kozím mléce nižší (Park et al., 2007, Bernacka, 2011). Vyšší obsah jódu v kozím mléce je přínosem pro lidský metabolismus stejně jako obsah zinku (Fantová et al., 2012). Ovčí mléko oproti kravskému obsahuje výrazně více Ca, P a Mg, obsah Fe, Zn, I a Se jsou zhruba srovnatelné, ovšem obsah K a Mn je nižší než v mléce kravském (Velíšek et Hajšlová, 2009). Další důležité minerály, sodík, chlór, draslík, hořčík, síra, měď, kobalt, nikl, železo, jód a zinek. Tyto minerály na rozdíl od vápníku a fosforu existují v mléce jako volné ionty (Kindsedt, 2005). Obsah minerálních látek v mléce kolísá v závislosti na plemeni, způsobu krmení, zdravotním stavu či fázi laktace (Park et al., 2007).

2.4.7. Somatické buňky

Počet somatických buněk (PSB) se používá jako indikátor zdravotního stavu zvířete, zdraví vemene a kvality mléka (Boutinaud et Jammes 2002; Sharma et al., 2011). Vylučování mléka u koz je apokrinní, zatímco u krav je merokrinní, to z části vysvětluje vyšší množství somatických buněk (SB) v kozím mléce bez jakéhokoliv vztahu k mastitidě (Olechnowicz et Jaśkowski, 2004). Cytoplazmatické částice, vylučované při apokrinní sekreci, jsou podobné SB, avšak neobsahují jádra ani DNA (Souza et al., 2012). Mezi somatické buňky vyskytující se v mléce patří buňky krve, epiteliální a cytoplazmatické. Nejvyšší podíl SB v kozím mléce tvoří leukocyty (až 66 %) a nejnižší lymfocyty (až 3,1 %). Zastoupení těchto buněk je však velice variabilní, může se měnit v závislosti na plemeni, pořadí a fázi laktace nebo zdravotním stavu (Bergonier et al., 2003). Počet somatických buněk v kozím mléce je vyšší než počet somatických buněk v kravském a ovčím mléku., tandardní počet somatických buněk v kozím mléku je 1×10^6 buněk/ml (Olechnowicz et Jaśkowski, 2004).

Počet SB v kozím mléce je ovlivněn infekčními a neinfekčními faktory, neinfekční faktory se dělí dále na vnitřní a vnější. Mezi vnitřní neinfekční faktory se řadí četnost dojení, čas mezi dojeními, stádium a pořadí laktace a plemeno. Mezi vnější neinfekční faktory patří způsob dojení, krmivo, stres, sezóna, produkční systém, metody měření, konzervace a chlazení vzorků mléka (Cedeen et al., 2008; Granada et al., 2014; Csanádi et al., 2015; Kuchčík et al., 2015). Infekční zdroje mohou pocházet především z prostředí, vemene a hygieny dojení (Marth et Steele, 2001; Granada et al., 2014). Proto zachování normální fyziologické funkce mléčné žlázy je důležité pro produkci kvalitního mléka a zdravého potomstva (Contreras et al., 2007).

2.5. Ovlivnění složení a množství mléka výživou

Na složení mléka má vliv mnoho faktorů, jako je druhová i plemenná příslušnost zvířete, genetické založení jedince, zdraví, věk, stádium laktace, technologie chovu, výživa zvířete a jiné (Kindsedt, 2005; Smolenski et al., 2007; Dai et al., 2011).

Jak již bylo zmíněno, mléko přežvýkavců je jedinečným zdrojem živin a po tisíciletí nedílnou součástí lidské stravy, i přesto může být výhodné složení mléka měnit. Ke změnám určitých složek může docházet například z ekonomických důvodů, producenti se snaží maximalizovat příjem využitím výživových strategií, které mění poměr proteinu a tuku v mléce (Kennelly et al., 2005). Obsah proteinů je poměrně stabilní parametr, je ovšem silně ovlivněný plemennou příslušností, zdravotním stavem, výživou a stádiem laktace dojnice (Feagan, 1979). Lipidy ovlivňují technologickou a nutriční kvalitu mléka, ovlivňují výtěžek sýrů, jejich pevnost, barvu i chuť (Delacroix - Buchet et Lamberet, 2000). Pokud je dieta chudá na tuky, tak se snižuje i obsah tuku v mléce (Sanz Sampelayo et al., 2007). Dietologové a výživoví poradci se snaží pozměnit složení mléka, aby podporovalo zdraví konzumentů. Prosazují zvýšení složek se speciálními funkčními vlastnostmi, jako jsou omega-3 MK, konjugovaná linolová kyselina (CLA), nebo biologicky aktivní peptidy (Williams, 2000; Kennelly et al., 2005). Mastné kyseliny skupiny omega-3 se vyskytují především v mase ryb (Cant et al., 1997; Donovan et al., 2000; Shingfield et al., 2006), lněném semínku, lněném oleji, pšeničných klíčcích, čerstvém ovoci a zelenině, česneku, olivovém oleji, vlašských ořechů, sójových bobech, sójovém oleji, řepkovém oleji (Chichlowski et al., 2005; Jones et al., 2005; Nudda et al., 2005) a mořských řasách (Rasoul - Amini et al., 2009).

Dieta je hlavním faktorem ovlivňujícím složení MK, vyšší obsah zdraví prospěšných MK se vyskytoval u ovcí a krav pasoucích se na pastvině a u těch, kterým k základní krmné dávce byly přidávány doplňky stravy ve formě nenasycených olejů. Doplňkem rostlinných olejů a semen, jako je např. sója, slunečnice, podzemnice olejná či lněné semínko, lze získat mléko s vyšším obsahem vakuové kyseliny (VA) a CLA (Dhiman et al., 2000). Vyšší obsah CLA a VA v kravském mléčném tuku byl získán v experimentech, kde se používal jako doplněk stravy olivový olej (Secchiari et al., 2003) a olej z řepky olejky (Chouinard et al., 2001). Stejně tak Mir et al. (1999) uvádí ve své práci výrazný nárůst obsahu CLA v kozím mléce po přidávání řepkového oleje. Po přidavku volného lněného a slunečnicového oleje došlo také k navýšení VA a CLA v kozím mléce (Chilliard et al., 2003). Szmatola et al.

(2013) porovnávali rozdíly v zastoupení MK v kozím mléce při zkrmování zelené píce, pastvy, siláže a česnekového oleje. Ve své práci došli k závěru, že při pastevním způsobu chovu se navyšuje obsah některých mastných kyselin (C 18:1, C18:2 a izomerů CLA) a má pozitivní vliv na podíl omega-6/omega-3 MK. Při krmení vyšších dávek koncentrovaného krmiva (65%) byl prokázán vyšší obsah kyseliny máselné, kapronové a stearové, kdežto po přidání oleje z řepky došlo k navýšení VA. Přídavek česnekového oleje se projevil snížením neesterifikovaných MK včetně C14:0, C15:0, a C16:0 a naopak zvýšení CLA. Vliv zkrmování lněného semínka na profil MK testovali ve své práci Nudda et al. (2005). Zde bylo prokázáno, že přídavek extrudovaného lněného semínka ovlivnil zastoupení jednotlivých MK, zatímco celkový nádoj a množství mléčného tuku (celkový průměr 3,5 %) ovlivněno nebylo. Zahnutí extrudovaného lněného semínka do krmné dávky nemělo vliv na koncentraci MK C6:0 až C12:0, ale množství C14:0, C16:0, VA, CLA se zvýšila po přidavku extrudovaného lněného semínka. V dnešní době se neustále hledají nové zdroje zdraví prospěšných látek, proto se čím dál častěji jako přídatky ke stravě využívají různé druhy mikrořas.

2.6. Řasy

Řasy (*Algae*) jsou velmi různorodá skupina organismů (vodní, fotosyntetizující jednobuněčné i mnohobuněčné organismy) obývající širokou škálu ekosystémů od Antarktidy po pouště. Jsou velmi rozmanité a představují vysoce specializovanou skupinu organismů. Podle současného taxonomického pojetí spadají řasy do několika říší, jedná se o seskupením nepříbuzných skupin organismů, z nichž jsou některé blízké rostlinám (Guschina et Harwood, 2006).

Je všeobecně známo, že schopnost řas přizpůsobit se podmínkám prostředí se odráží ve variabilitě lipidů, stejně jako jejich schopnost syntetizovat řadu neobvyklých sloučenin (Guschina et Harwood, 2006). Řasy jsou známy po staletí, ale jejich větší komerční produkce začala teprve před několika desetiletími. První známky o využívání řas se datují před 2000 let, nicméně biotechnologie kultivace řas se začala rozvíjet teprve v polovině minulého století (Spolaore et al., 2006). Předpokládá se, že existuje více než 30 tisíc druhů, ale pouze malá část byla prozkoumaná, nebo uměle kultivovaná (Christaki et al., 2011). Kultivace řas je snadná a finančně nenáročná, řasy se vyznačují vysokým růstovým potenciálem a nízkými požadavky na kultivační prostředí (Petkov et Garcia, 2007). Každý druh mikrořas vyžaduje specifické podmínky pro svůj růst. Mezi nejdůležitější parametry regulující růst řas jsou kvalita živin a světla, hodnota pH, proudění, obsah solí v kultivačním médiu a teplota

kultivace. Pro produkci mikrořas se využívají různé kultivační metody, od kontrolovaných uzavřených laboratorních metod po venkovní otevřené metody (Barsanti et Gualtieri, 2006; Petkov et Garcia, 2007).

Řasy obsahují široké spektrum nutričních složek, jako jsou proteiny, sacharidy, lipidy, volné mastné kyseliny, vitamíny, pigmenty, minerální látky a další bioaktivní složky. Jednobuněčné zelené řasy (*Chlorophyta*, *Chlorophyceae*) mají výborné nutriční hodnoty, proto jsou vhodné využívat jako potravinové doplňky (Pulz et Gross, 2004; Morris et al., 2008), pozitivně ovlivňují zdraví lidí a zvířat (Spolarore et al., 2006). Vysoký obsah bílkovin je jedním z důvodů k používání řas jako jejich netradičního zdroje, obsahují téměř stejné aminokyseliny jako jiné proteinové potraviny (Cornet, 1998). Z esenciálních aminokyselin obsahují například leucin, isoleucin, valin (Becker, 2004). Sacharidy se v řasách vyskytují především ve formě škrobu, glukózy, cukrů a dalších polysacharidů, jejich celková stravitelnost je vysoká, proto se můžou řasy používat bez omezení v potravinách nebo krmivech (Becker, 2007). Mikroskopické řasy se označují jako mikrořasy (*Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp.).

2.6.1. Využití řas ve výživě lidí

Ve výživě člověka se využívají především řasy *Chlorella* sp., *Spirulina* sp. *Nostoc* sp., *Dunaliella* sp. Více než 75 % produkce mikrořas je zpracována ve formě tablet, kapslí a prášků, zbytek se využívá jako masti, krémy apod. (Pulz et Gross, 2004).

Řasy představují pro konzumenty výhodný zdroj polynenasycených mastných kyselin. Průměrný obsah tuků v řasách se pohybuje od 1 do 40 %, za určitých podmínek může obsahovat až 85 % sušiny. Mastné kyseliny obsažené v řasách mají většinou délku řetězce C12-C22. Pro zelené řasy je charakteristické, že obsahují více nenasycených MK s dvojnou vazbou na pozici omega-3, kdežto sinice obsahují více nenasycených MK s dvojnou vazbou na pozici omega-6 (Richmond, 2004). Mastné kyseliny patřící do skupiny omega-3 působí pozitivně v prevenci, nebo ve zmírnění projevů některých chorob konzumentů, jako jsou například kardiovaskulární choroby, autoimunitní onemocnění, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, rakovina prsu, tlustého střeva a prostaty, mírná hypertenze, revmatoidní artritida, cukrovka 2. typu, nemoci ledvin, oblast mentálního zdraví (Simopoulos, 1999; Connor, 2000; Riediger et al., 2009).

2.6.2. Využití řas ve výživě zvířat

Jak již bylo zmíněno, kvalita výživy zvířat přímo odráží jejich růst, vývoj, zdravotní stav, plodnost i produkci, tím pádem má výživa přímý vliv na ekonomiku celého chovu. Je prokázáno, že i menší množství mikroskopických řas (*Chlorella*, *Spirulina*, *Schyzochytrium*) pozitivně působí na fyziologii zvířat a ovlivňuje jejich metabolismus (Pulz et Gross, 2004).

Využití řas u monogastrických zvířat

Studii na využití přídatku řas do krmné dávky u monogastrických zvířat je poměrně mnoho. Například ve studii Marriott et al. (2002) bylo zjištěno, že přídatek řasy *Schyzochytrium* sp. (0,125 a 0,250 kg/kus/den) neměl žádný vliv na průměrný denní přírůstek prasat, ani na konverzi krmiva. Ovšem ve svalovině pokusných prasat bylo prokázáno vyšší množství kyseliny DHA a jejích esterů. Ve studii Abril et al. (2003) zkoumali toxicitu *Schyzochytria* sp., při podání 5 x vyšším než jsou komerční dávky (598 g/kus/120 dnů). Studie prokázala, že tato řasa nezpůsobila žádné statisticky významné účinky ve vztahu k léčbě klinických pozorování, tělesné hmotnosti, konverze krmiva, úmrtnosti, hematologických hodnot, hmotností orgánů, nebo histopatologii. Změny související s podáváním *Schyzochytria* sp. prokázaly pouze zvýšení hmotnosti u prasat a to především kvůli zvýšení množství tuku. Ovšem Grinstead et al. (2000), kteří pozorovali vliv přídatku řasy *Spiruliny platensis* (1, 2, 5 a 20 g/kg⁻¹ ve formě pelet) došli k závěru, že po přidání této řasy ke krmné dávce selat došlo pouze k minimálnímu zlepšení růstových schopností selat, avšak byla zde prokázána lepší konverze krmiva. Přídatek 0,5 g/den mořské řasy *Spirulina platensis* do krmné dávky králíků snížil koncentraci cholesterolu v krvi a naopak zvýšil hladinu HDL cholesterolu (Colla et al. 2008). Přídatek sladkovodní řasy *Chlorelly vulgaris* do krmné dávky (2,5 g, 5g, 7,5 g sušené řasy na 1 kg krmné směsi) nosnic měl pozitivní vliv na zvýšení počtu vajec a zlepšení jejich kvality na začátku snáškového období (Halle et al., 2009). Také bylo prokázáno, že přídatek řasy *Spirulina platensis* (1,5 %, 2 % a 2,5 % z krmné dávky, KD) nosnicím ovlivňuje barvu žloutku. Přídatek řas do krmiva je ohledně výsledné barvy žloutků stejně efektivní jako jiná syntetická barviva (Zahroojian et al., 2011).

Využití řas u polygastrických zvířat

Obohacení mléka výživou o zdraví prospěšné látky, například omega-3 MK, je u přežvýkavců upřednostňováno před úpravami mléka po nadojení (Franklin et al., 1999). Mléčný tuk krav obsahuje více než 400 MK. Dříve se k navýšení omega-3 MK využíval přídavek rybího tuku do krmné dávky. Ryby získávají omega-3 MK pozřením řas, nebo ryb živíci se řasami, sami totiž tyto kyseliny nedokážou syntetizovat. Ovšem nové technologie výroby umožňují využívat jako přídavek ke krmné dávce přímo řasy. Přídavek bachorově chráněné biomasy řas ani oleje z řas (v 1 kapsule bylo 29g kyseliny DHA, skupinám byla podávána 0,5, nebo 1 kapsule/den) nemá vliv na příjem krmiva, navýšení mléčných složek, ani na dojivost. Ovšem v mléce bylo zaznamenáno vyšší množství obsahu kyseliny DHA a *trans*-18:1 a *trans*-11 18:1 mastných kyselin. Vyšší obsah DHA vykazoval přídavek bachorově chráněné biomasy řas než olej z řas (Stamey et al., 2012).

Bylo prokázáno, že přidáním mořských řas (Algamac-3050, Aquafauna Bio-Marine, Hawthorne, CA) do krmné dávky přežvýkavců mělo vliv na snížení nasycených mastných kyselin a zvýšení obsahu CLA a dalších polynenasycených mastných kyselin v jejich mléce. Při zkrmování přídavku řas byl zaznamenán vyšší denní nádoj a zároveň vyšší obsah tuku a bílkovin v mléce (Vahmani, 2013).

Přídavek řas *Spirulina pacifica*, *Spirulina platensis*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis* do krmné dávky měl pozitivní vliv na buněčnou výživu a na centrální nervový systém, který ovlivňuje veškeré metabolické procesy v těle. Dochází například k zvýšení aktivity štítné žlázy, tím se pozitivně ovlivňuje tvorba a využití kyseliny octové a máselné, které mají rozhodující vliv na množství vytvořeného tuku (Kiriatic, 2008).

Vliv přidávání řas působí i na mechanické a krystalizační vlastnosti mléčného tuku. Třítýdenní obohacování krmné dávky dojnic mělo za následek zvýšení pevnosti mléčného tuku, pozměněnou krystalizaci a změny v mikrostruktuře (Singh et al., 2004). Změny ve složení mastných kyselin v mléce se pravděpodobně vztahují ke změně zastoupení bakterií v bachoru malých přežvýkavců, a to v důsledku změn spojených se změnou biohydrogenace nenasycených MK přijímaných v dietě obohacené na polynenasycené MK.

V této studii byl porovnáván přídavek slunečnicového oleje v množství 25 g a poté v kombinaci s mořskou řasou v množství 8, 16, nebo 24 g/kg sušiny krmné dávky ovcí. Určité skupiny detekovaných bakterií (například kmeny *Lachnospiraceae* a *Quinella*) vykazovaly změny v jejich relativní četnosti v souladu s jejich potenciální úlohou při biohydrogenaci

v bachoru (Toral et al., 2012). Or-Rashid et al. (2008) ve své studii pozorovali vliv zkrmování červených řas (*Cryptocodinium cohnii*) na změny mastných kyselin v bachorové tekutině skotu. Došlo ke snížení nasycených MK (kyselina stearová, C18:0) a naopak ke zvýšení některých nenasycených MK. Mezi kyseliny u kterých došlo k nárůstu, patří kyselina olejová (C18:1) a také C18:1 *trans*-10, což naznačuje, že došlo ke změně zastoupení mikroorganismů v bachoru. S rostoucím množstvím přídatku řas se zvyšovalo i množství kyseliny vakcenové (C18:1 *trans*-11), také došlo k navýšení CLA. Lze tedy říci, že doplněk řas může být využit pro zvýšení koncentrace *trans* 18:1 izomerů MK, které slouží jako prekurzory pro biosyntézu CLA v tkáních přežvýkavců.

Franklin et al. (1999) testovali přídavek mořské řasy *Schyzochytrium* sp. (910 g/den) ke krmné dávce mléčného skotu, kde byla zjištěna vyšší koncentrace omega-3 MK, zejména CLA a DHA. V této studii byl porovnáván vliv přídatku bachorově chráněné řasy (potažená xylózou) a nechráněné řasy. Procentuální množství mléčného tuku bylo u obou pokusných skupin nižší než u kontrolní skupiny bez přídatku řas, přídavek řas snížil příjem krmiva. Koncentrace CLA, DHA a kyseliny vakcenové bylo vyšší u obou pokusných skupin, které byly krmeny řasou, avšak koncentrace DHA byly vyšší u krav, které dostávaly řasu chráněnou před bachorovou biohydrogenací.

Pokusy se zkrmováním řasy *Schyzochytrium* sp. (0; 23,5; 47; 94 g v průběhu 6 týdnů) ovcím prokázaly výrazné zvýšení omega-3 (C20:5, C 22:5, C 22:6) i omega-6 polynenasycených mastných kyselin (C 22:5) v mléce, a to v poměru 2,5 (omega-6) : 4,5 (omega-3). Obdobné složení měli i sýr feta a jogurt vyrobené z takto obohaceného mléka (Papadoulos et al., 2002).

Mléko a mléčné výrobky obohacené o zdraví prospěšné polynenasycené mastné kyseliny (především omega-3 MK) lze označit za funkční potraviny, které mají kromě výživové hodnoty i příznivý účinek na zdraví konzumenta, jeho duševní a/nebo fyzický stav. Což by mohlo chovatelům poskytnout lepší vyšší výnosy z prodeje mléka a mléčných výrobků obohacených o omega-3 MK.

2.6.3. *Chlorella vulgaris*

Sladkovodní zelená mikrořasa *Chlorella vulgaris* je jednou z nejlépe prozkoumaných mikrořas, je součástí říše *Plantae* a patří do čeledi *Chlorellaceae* z třídy *Trebouxiophyceae*. Představuje výhodný zdroj cenných nutričních látek. Zhruba 60 % tvoří bílkoviny, které se svým složením podobají více bílkovinám živočišným než rostlinným. Obsahují všechny esenciální aminokyseliny ve vyváženém poměru. Nejvíce zastoupený sacharid v *Chlorelle* je

škrob, který tvoří asi 10 % suché hmoty řas. Množství tuků se v řase pohybuje okolo 10 - 15 %, skládá se převážně z esenciálních nenasycených mastných kyselin, především kyseliny linolové a α -linolenové (Petkov et Garcia, 2007). Také jsou zprávy o mono a digalactosyl diacylglycerolech obsažených v *Chlorelle*, jenž mají protinádorové účinky (Piepper et al., 2012). Mimo nutričního využití se některé druhy *Chlorelly* využívají k čištění odpadních a průmyslových vod, protože buněčná stěna *Chlorelly* má komplexotvorné vlastnosti, tím ze znečištěných vod odstraňuje těžké kovy (Piepper et al., 2012). Z hlediska rychlosti růstu a biologické hodnoty patří *Chlorella* k nejzajímavějším sladkovodním řasám, které byly doposud zkoumány. Nespornou výhodou jejího pěstování, je až 10 x lepší využití dodávané energie oproti kulturním rostlinám a díky tomu vysoké výnosy. Tvar buněk *Chlorelly* je nejčastěji kulovitý a ke zdvojnásobení její hmoty může dojít již za 3 - 6 hodin (Doucha, 1998).

2.6.4. *Japonochytrium* sp.

Japonochytrium sp., mořská mikrořasa, která neobsahuje zelené barvivo. Nemá jednoznačné taxonomické zařazení. Řadí se mezi tzv. *Protista* a jsou definována jako jednobuněčné organismy, které nemají diferencované tkáně. Jedná se o seskupení asi 64 000 různých jednobuněčných životních forem, které postrádají společný evoluční původ (Cavalier-Smith, 2003). Jedna z říší patřících mezi *Protista* je říše *Chromista*, kam patří oddělení *Labyrinthuly*, známé jako vodní hlenky. Vodní hlenky se vyskytují primárně v mořských biotopech. Zástupci, kteří jsou řazeni do tohoto oddělení, bývali dříve zařazováni mezi houby, prvoky, hlenky, oomycety, rostliny i řasy (Kalina et Váňa, 2010). Do řádu *Labyrinthulomycetales* patří čeleď *Thraustochytriaceae*, rod *Japonochytrium*. Dále se do této čeledi řadí rody *Thraustochytrium*, *Aplanochytrium*, *Ulkenia*, a *Schyzochytrium*. Řád *Thraustochytriales*, jehož buňky jsou většinou kulovité, jsou skupiny mořských organismů produkujících vysoký podíl lipidů s vysokým obsahem polynenasycených mastných kyselin, zejména omega-3 MK (Kalina et Váňa, 2010). Některé z těchto druhů produkují významné množství dokosaheptaenové kyseliny (DHA), která je naprosto zásadní MK pro lidský organismus, hraje důležitou roli při vzniku, vývoji a fungování mozku a sítnice (Franklin et al., 1999; Toral et al., 2012).

2.7. Lněné semínko

Lněné semínko (*Linum usitatissimum L.*), známé jako len setý, je jednou z nejdůležitějších olejnin pro průmyslové i potravinářské účely, výrobu krmiv a produkci vlákniny. Téměř každá část rostliny je vhodná ke komerčnímu zpracování. Lněné semínko obsahuje skupiny látek, které se vyznačují specifickou biologickou aktivitou a specifickými funkčními vlastnostmi, je to vysoké množství oleje bohatého na omega-3 MK, rozpustná vláknina ve formě hleny, dobře stravitelné bílkoviny a lignany, které mají fytoestrogenní vlastnosti (Singh et al., 2011; Martinchik et al., 2012). Z omega-3 MK obsahuje lněné semínko především esenciální kyselinu alfa-linolenovou (ALA), která působí pozitivně proti kardiovaskulárním onemocněním, snižuje krevní tlak a triglyceridy v krvi. Dále je kyselina ALA považována jako prekurzor eikosapentaenové a dokosahexaenové kyseliny (Martinchik et al., 2012; Cloutier, 2016). Lněné semínko obsahuje 35-45% oleje a olej z lněného semínka obsahuje 9-10% SFA, okolo 20% MUFA a více než 70% PUFA (Martinchik et al., 2012). Množství oleje ve lněném semínku se může lišit v závislosti na podmínkách a způsobu pěstování. Podle Cloutier (2016) obsahuje lněné semínko až 50 % oleje. Obsah bílkovin ve lněném semínku se pohybuje okolo 20-30%, tyto bílkoviny se vyznačují vysokým koeficientem stravitelnosti (89,6%) a biologickou hodnotou (77,4%). Len setý obsahuje vysoký podíl vlákniny, až 28 % (Martinchik et al., 2012). Přídavek lnu setého a jeho produktů, je vzhledem k obsahu zdraví prospěšných PUFA, nízkých nákladů na pěstování a snadné zkrmování zvířatům často využíván.

2.8. Funkční potraviny

Funkční potraviny jsou jakékoliv potraviny, jejichž složení bylo člověkem upravováno a formováno tak, aby představovalo zdravotní přínos pro konzumenta (Kalač, 2003). Evropská komise definuje funkční potraviny jako potraviny, které příznivě ovlivňují jednu nebo více funkcí v těle za adekvátního nutričního efektu a to způsobem, který je významný pro zlepšení zdravotního stavu a pohody a/nebo pro snížení rizika onemocnění. Je součástí běžného potravinářského výrobku a není to pilulka, kapsle nebo jiná forma potravního doplňku. Funkční potraviny tedy tvoří přechodnou skupinu potravin mezi konvenčními potravinami a léky. Nejde tedy o léky, jejich cílem není chorobu léčit, ale příznivě ovlivňovat přechodný stav mezi zdravím a nemocí. Základním posláním je jejich preventivní působení na

organismus konzumenta (Crowe et Francis, 2013). Jedná se o potravinu vyrobenou z přirozeně se vyskytujících se složek a její konzumace ovlivňuje některé reakce v organismu, například posiluje přirozené obranné mechanismy v těle, působí preventivně proti nemocem, zpomaluje proces stárnutí apod. (Kalač, 2003). Podle Americké dietetické asociace jsou všechny potraviny klasifikovány jako funkční potraviny na určité fyziologické úrovni, protože konzumentům poskytují živiny, energii a další potřebné látky. Funkční potraviny mají potencionálně příznivý vliv na zdraví, pokud jsou konzumovány pravidelně jako součást pestré stravy (Hasler et Brown, 2009). Podle Crowe et Francis (2013) se funkční potraviny dělí do tří obecných kategorií:

- 1) Konvenční potraviny obsahující přírodní bioaktivní látky. Většina zeleniny, ovoce, obilovin, mléčných výrobků, ryb a masa obsahují bioaktivní látky poskytující výhody nad rámec základní výživy (např. vitamíny s antioxidačními účinky v pomerančovém džusu nebo prebiotika a probiotika v jogurtu, jogurtovém nápoji apod.).
- 2) Pozměněné potraviny, které po obohacení obsahují bioaktivní látky. Jedná se např. o obohacení másla, nebo margarínů omega-3 mastnými kyselinami.
- 3) Přísady do potravin, které jsou syntetizovány, jako jsou nestravitelné sacharidy, které poskytují prebiotické výhody.

Nemocí související se špatnou stravou, jako jsou kardiovaskulární choroby, obezita, cukrovka a rakovina neustále přibývá, v tomto ohledu hrají funkční potraviny důležitou roli při prevenci nebo snížení rizika těchto chorob. Vzhledem k zdravotnímu poselství funkčních potravin, trhy s těmito produkty neustále rostou (Özen et al., 2014). V mléce mezi tzv. funkční složky patří například kyselina eikosapentaenová (EPA), dokosahexaenová (DHA) nebo konjugovaná kyseliny linolová (CLA). Možnost zvýšení obsahu mastných kyselin v mléce se v posledních letech výrazně zlepšila především díky lepšímu prostudování vzájemných vztahů mezi fermentací v bacheru, metabolismem lipidů a syntézou mléčného tuku (Lock et Bauman, 2004).

3. Hypotéza a cíle práce

Hypotéza:

Předpokládáme, že zkrmování přídatku s vysokým obsahem omega-3 a omega-6 mastných kyselin (mikrořasa *Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp., extrudované lněné semínko a lněný olej) dojde k navýšení denní dojivosti malých přežvýkavců a pozitivní změně kvalitativních ukazatelů, především profilu mastných kyselin mléka, popř. mléčných produktů.

Dále předpokládáme, že tvar a utváření vemene koz má přímý vliv na ukazatele mléčné produkce.

Cíle práce:

Cílem práce je zhodnotit a porovnat vliv přídatku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. ke krmné dávce koz, na denní nádoj, množství mléčných složek a profil mastných kyselin v kozím mléce.

Cílem práce je vyhodnotit vliv přídatku extrudovaného lněného semínka a lněného oleje ke krmné dávce koz, na profil mastných kyselin v kozím mléku a jogurtovém nápoji.

Cílem práce je vyhodnotit vliv tvarových charakteristik vemen na kvalitu kozího mléka.

4. Metodika

V průběhu zpracování této práce byl u koz plemene bílá krátkosrstá koza, sledován vliv vybraných přídavek (mikrořasa *Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp., lněného oleje, extrudovaného lněného semínka) a vliv tvarových charakteristik vemen na vybrané kvalitativní a kvantitativní ukazatele mléčné produkce koz. Celý pokus probíhal po dobu čtyř let na Kozí farmě Pěnčín s.r.o., patřící mezi největší ekologické chovy koz a ovcí v České republice.

Pokusné skupiny koz byly ustájené po celou dobu pokusu ve stáji s hlubokou podestýlkou. Kozy byly krmeny standardní krmnou dávkou (SKD), která se skládala z čerstvě posečeného lučního porostu v množství cca 2kg/kus/den, sena *ad libitum*, a jadrné směsi, která byla dávkována při ranním dojení v dojárně v celkovém množství 300g/kus/den. Přístup k vodě a minerálnímu lizu byl pro všechny kozy neomezený. Pokusné skupiny koz byly krmeny stejnou, výše popsanou, krmnou dávkou s vybranými přídávky (mikrořasa *Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp., lněný olej a extrudované lněné semínko).

Chlorella vulgaris je jednou z nejlépe prozkoumaných mikrořas a představuje cenný zdroj nutričních látek. Na obsah MK v řasách má vliv mnoho faktorů, jako je druh řasy, způsob kultivace, sklizení, sušení a zpracování. Kultivace řas je poměrně snadná, řasy se vyznačují vysokým růstovým potenciálem a nízkými požadavky na kultivační prostředí. V tomto pokusu byla sledována řasa *Chlorella vulgaris* kultivovaná autotrofně a heterotrofně. Jako autotrofní kultivaci označujeme kultivaci mikrořas, při které se kultura pěstuje pod přírodním nebo umělým osvětlením a jako zdroj uhlíku se používá oxid uhličitý. Do této kategorie lze zařadit laboratorní kultivaci pod umělým osvětlením s přiváděným CO₂, dále venkovní otevřené kultivace nebo kultivace ve fotobioreaktorech. Heterotrofní kultivace je využívána při kultivaci v tzv. fermentorech bez přítomnosti světla. Jako zdroj uhlíku bývá nejčastěji využívána glukosa nebo kyselina octová.

Jako další byla do pokusu vybrána mikrořasa *Japonochytrium* sp., která je izolována z listů mangrovníků z mořského dna, neobsahuje zelené barvivo, nemá jednoznačné taxonomické zařazení. Řadí se mezi tzv. *Protista*, ta jsou definována jako jednobuněčné organismy, které nemají diferencované tkáně. Jelikož se jedná o nový produkční kmen, je tato mikrořasa zatím kultivována v laboratorních podmínkách a testuje se nejvhodnější způsob její kultivace. Mezi nejdůležitější parametry regulující růst řas jsou kvalita živin a světla, hodnota pH, proudění, obsah solí v kultivačním médiu a teplota kultivace.

Lněný olej (LO) a extrudované lněné semínko (ELS) byly vyrobeny v zemědělském podniku 1. zemědělská a.s., (Chorušice, ČR), zde se lněné semínko pěstuje na půdě o rozsahu 50 – 100 ha. Lněný olej byl lisován za studena a extrudované lněné semínko bylo vyrobeno pomocí extrudéru (Farmet a.s., Česká Skalice, ČR) při teplotě okolo 140-150 °C, při vysokém tlaku. Pro doplnění všech údajů byla při každém krmném pokusu analyzována krmná dávka a vybrané přídavky ke krmné dávce. Bylo vyhodnoceno základní složení a profil mastných kyselin a skupiny mastných kyselin v krmivu a vybraných přídavcích (tabulka č. 1).

Odběry individuálních vzorků koziho mléka probíhaly v pravidelných intervalech v průběhu krmného pokusu. První zařazení přídavky ke krmné dávce byl vždy uskutečněn den po počátečním odběru vzorků z důvodu kontroly vlivu dalších faktorů na homogenitu výsledků ve vytvořených skupinách. Individuální vzorky mléka byly odebrány při ranním dojení v množství 200 ml (a 400 ml v případě odběrů, kdy se vyráběly i mléčné produkty), vzorky byly ihned popsány a vychlazeny na 4 – 6 °C, bez přidání konzervantů a převezeny na analýzu a další zpracování do laboratoře. Nedílnou součástí pokusu bylo hodnocení denní dojivosti, dojivost byla stanovena s přesností 0,01 l.

Na základě průběžných výsledků a záznamů z kontroly užitkovosti koz byl dále vyhodnocen vliv tvarových charakteristik vemen na množství nadojeného mléka a počet somatických buněk v celém stádě, čítajícího cca 500 koz.

Tabulka č. 1: Průměrné chemické složení a zastoupení vybraných mastných kyselin ve standardní krmné dávce (% z celkového množství mastných kyselin).

	Luční porost	Seno	Jadrná směs	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Japonochytrium sp.</i>	Extrudované lněné semínko	Lněný olej
Chemické složení							
sušina, g.kg ⁻¹	968,41	931,14	876,34	949,38	968,51	-	-
protein, g.kg ⁻¹	159,79	80,94	88,59	96,12	94,41	-	-
tuk, g.kg ⁻¹	18,72	10,14	29,38	13,67	5,4	42,34	-
vláknina, g.kg ⁻¹	219,73	345,41	42,28	17,83	14,09	-	-
popeloviny, g.kg ⁻¹	106,13	46,98	17,34	20,05	24,5	-	-
Vybrané mastné kyseliny							
C 16:0, %	14,775	22,829	11,587	16,17	22,93	6,544	5,733
C 18:0, %	1,992	5,835	1,803	0,92	1,474	3,537	3,782
C 18:1, n-9, %	6,348	21,624	23,38	0,49	14,869	15,627	15,578
C 18:2, n-6, %	15,424	17,935	58,307	28,34	1,682	19,101	16,586
C 18:3, n-6, %	0,175	0,283	0,024	0,00	0,116	-	-
C 18:3, n-3, %	56,051	21,99	2,183	33,66	0,085	53,703	56,873
C 20:2, n-6, %	0,056	0,053	0,046	0,00	0,014	0,070	0,070
C 20:3, n-6, %	0,00	0,098	0,005	0,00	0,174	-	-
C 20:4, n-6, %	0,012	0,00	0,003	0,14	0,209	0,044	0,054
C 20:5, n-3, %	0,343	0,552	0,123	0,00	0,575	0,039	0,023
C 22:6, n-3, %	0,094	0,187	0,091	0,81	41,954	-	-
SUFA, %	23,41	23,72	19,83	19,2	28,842	10,437	9,888
MUFA, %	10,98	11,28	35,12	18,43	15,853	16,606	16,505
PUFA, %	65,61	65	45,056	62,14	55,307	72,956	73,606
omega-3, %	50,07	41,11	2,89	33,66	43,456	53,742	56,895
omega-6, %	15,36	23,84	42,17	28,48	11,634	19,214	16,711

Poznámky: SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasycené mastné kyseliny, PUFA – polynenasycené mastné kyseliny.

Statistické vyhodnocení získaných výsledků bylo provedeno v programu MS Excel 2007 a STATISTICA Verze 9 software (I., III., IV. metodický okruh) a v programu SAS 9.2,2004 (II, V. metodický okruh).

Na základě výše stanovených cílů a vědeckých hypotéz byla práce rozdělena do pěti následujících okruhů. Metodické postupy byly podrobně rozepsány v příložených publikacích (Kapitola 5).

4.1. Metodický okruh I.

Vliv přídatku sušené řasy *Chlorella vulgaris* na profil mastných kyselin v kozím mléce

V tomto pokusu byl zkoumán vliv přídatku 5g a 10g sušené řasy *Chlorelly vulgaris* na profil mastných kyselin. Řasa byla kultivována v laboratoři Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR v Třeboni. Její kultivace probíhala autotrofně ve fotobioreaktorech, poté byla řasa sušena v rozprašovací sušičce při teplotě 60°C po dobu několika sekund.

Vybrané kozy, na druhé a třetí laktaci (n=36), byly rozděleny do tří skupin: kontrolní skupina koz (n=12) byla krmena pouze standardní krmnou dávkou (SKD), 1. pokusná skupina (n=12) ke standardní krmné dávce dostávala přídatek 5g/kus/den sušené *Chlorelly vulgaris* a 2. pokusná skupina (n=12) ke standardní krmné dávce dostávala přídatek 10g/kus/den sušené *Chlorelly vulgaris*. Krmný pokus trval 6 týdnů, individuální vzorky mléka byly odebírány na začátku laktace, před zahájením krmného pokusu a poté až po dokončení podávání *Chlorelly* ke krmné dávce pokusných koz. Individuální vzorky (n=72) byly odebírány při odpoledním dojení v celkovém množství 150 ml do standardních plastových zkumavek a bez přídatku konzervantů byly vzorky zmrazeny na teplotu -18°C do analýzy mastných kyselin. Profil mastných kyselin v kozím tuku byl stanoven plynovou chromatografií.

Metodický okruh I. je podrobněji definován detailními metodikami uvedenými v následující publikaci (Kapitola č. 5):

Kouřimská L., Vondráčková E., Fantová M., Nový P., Nohejlová L., **Michnová K.** 2014. Effect of feeding with algae on fatty acid profile of goat's milk. *Scientia Agriculturae Bohemica*.45. 3. 162-169. ISSN: 1211-3174.

4.2. Metodický okruh II.

Vliv přidavku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. na složení a profil mastných kyselin koziho mléka.

Na základě výsledků z předchozích experimentů byly v tomto metodickém okruhu provedeny změny. Do experimentu byla zařazena nová mikrořasa *Japonochytrium* sp. s vyšším obsahem polynenasycených mastných kyselin. Jedná se o mořskou mikrořasu, která původně roste na kořenech mangrovníků, vyznačuje se vysokým množstvím tuku a neobsahuje chlorofyl. Tato mikrořasa byla kultivována v laboratorních podmínkách (EcoFuel laboratories s.r.o., Praha, ČR). Mikrořasa *Chlorella vulgaris* byla kultivována v laboratoři Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR v Třeboni. Její kultivace probíhala heterotrofně v tzv. fermentorech bez přítomnosti světla, jako zdroj uhlíku byla použita glukosa, poté byla řasa sušena v rozprašovací sušičce při teplotě 60°C po dobu několika sekund. Z předchozí studie vyplývá, že sušená řasa v sypkém stavu není vhodná pro zkrmování kvůli velké prašnosti a velkým ztrátám. Proto byly z mikrořas vytvořeny granule, jako pojivo byla použita tzv. arabská guma, pod obchodním názvem NUTRI - BIND Plus Dry (Röther, Praha, ČR). Jedná se o osvědčené pojivo do krmných směsí pro monogastrická i polygastrická zvířata, které zvyšuje pevnost, elasticitu granulí a částečně zabraňuje degradaci řas mikroorganismy v batoru.

Vybrané kozy na druhé laktaci (n=45) byly rozděleny do tří skupin: kontrolní skupina koz (n=15) byla krmena pouze standardní krmnou dávkou, 1. pokusná skupina (n=15) ke standardní krmné dávce dostávala přídavek 10g/kus/den granulované *Chlorella vulgaris* a 2. pokusná skupina (n=15) ke standardní krmné dávce dostávala přídavek 10g/kus/den granulované mikrořasy *Japonochytrium* sp. Krmný pokus trval po dobu 4 týdnů, individuální vzorky mléka (n=180) byly odebírány v pravidelných intervalech. První odběry mléka byly uskutečněny před zahájení a poslední odběr až po ukončení krmného pokusu. Vzorky mléka byly odebírány při ranním dojení do standardních plastových nádob v množství 200 ml, ihned popsány a vychlazeny na 4 – 6 °C, bez přidání konzervantů a převezeny na analýzu a další zpracování do laboratoře Milcom a.s.

Jako součást laboratorní analýzy byly ve vzorcích mléka stanoveny základní mléčné složky na infračerveném analyzátoru s Fourierovou transformací pracujícím ve střední části infračerveného spektra (Milkoscan FT2). Vzorky byly analyzovány gravimetrickými

metodami podle norem institutu ČSN. Mastné kyseliny obsažené v extrahovaném mléčném tuku (podle modifikovaného postupu podle Bligh a Dyer (1959), byly analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

Metodický okruh II. je podrobněji definován detailními metodikami uvedenými v následující publikaci (Kapitola č. 5):

Novotná K., Fantová M., Nohejlová L., Borková M., Stádník L., Ducháček J. 2017. Effect of *Chlorella vulgaris* and *Japonochytrium* sp. Microalgae Supplementation on Composition and Fatty Acid Profile of Goat Milk. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 65, 5, 1585-1593.

4.3. Metodický okruh III.

Vliv přidavku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. na složení a profil mastných kyselin másla vyrobeného z kozího mléka

Krmný pokus a odběr individuálních vzorků mléka probíhal současně s experimentem, uvedeném v metodickém okruhu č. II. Vybrané kozy na druhé laktaci (n=45) byly také rozděleny do tří skupin: kontrolní skupina koz byla krmena pouze standardní krmná dávka, 1. pokusná skupina (n=15) ke standardní krmné dávce dostávala přídavek 10g/kus/den granulované *Chlorella vulgaris*. Změna oproti předchozímu pokusu byla v pokusné skupině č. 2 (n=15), která ke standardní krmné dávce dostávala přídavek pouze 5g/kus/den granulované mikrořasy *Japonochytrium* sp. Krmný pokus trval po dobu 4 týdnů, individuální vzorky mléka (n=180) byly odebírány v pravidelných intervalech. První odběry mléka byly uskutečněny před zahájení a poslední odběr až po ukončení krmného pokusu. Vzorky mléka byly odebírány při ranním dojení do standardních plastových nádob v množství 400 ml, ihned popsány a vychlazeny na 4 – 6 °C, bez přidání konzervantů a převezeny na analýzu a další zpracování do laboratoře Milcom a.s.

Výroba másla z kozího mléka (n=5): Nejprve byla za pomoci laboratorní odstředivky vyrobena smetana ze směsného mléka kontrolní i pokusných skupin koz. Vzorky mléka byly odebírány 56. den krmného pokusu. Smetana byla pasterizována po dobu 5 minut při 90°C,

poté byly ze směsných vzorků smetany vířením při 8°C po dobu 4 hodin vyrobeny tři vzorky másla (1. máslo z mléka kontrolní skupiny koz, 2. máslo z mléka pokusné skupiny koz s přídavkem 10 g *Chlorelly vulgaris* a 3. máslo z mléka pokusné skupiny koz s přídavkem 5 g *Japonochytrium* sp.). Dále byly vyrobeny směsi kozí smetany ze třetí pokusné skupiny (s přídavkem 5 g *Japonochytrium* sp.) a kravské smetany (původ: Bohušovická mlékárna). Z této směsné smetany byla vyrobena dvě másla v poměru 50:50 kozí/kravské (tuk w/w) a 25:75 kozí/kravské (tuk w/w). Základní mléčné složky, především množství tuku, bylo stanoveno na infračerveném analyzátoru s Fourierovou transformací pracujícím ve střední části infračerveného spektra (Milkoscan FT2). Vzorky byly analyzovány gravimetrickými metodami podle norem institutu ČSN. Mastné kyseliny obsažené v extrahovaném mléčném tuku kozího a kravského mléka a vyrobených másel, byly analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

Metodický okruh III. je podrobněji definován detailními metodikami uvedenými v následující publikaci (Kapitola č. 5):

Borková M., **Michnová K.**, Hyršlová I., Fantová M., Elich O. 2015. Changes in fatty acid profile of goat butter from goats fed algae. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. 13, 82-89.

4.4. Metodický okruh IV.

Vliv přídavku extrudovaného lněného semínka a lněného oleje na profil mastných kyselin v kozím jogurtovém nápoji

Na základě předchozích studií byla do krmného pokusu místo mikrořas vybrány novépřídavkybohaté na omega-3 MK –lněný olej a extrudované lněné semínko (1. zemědělská a.s., Chorušice, ČR). Cílem této studie bylo zjistit vliv přídavku lněného oleje a lněného extrudovaného semínka do krmné dávky na složení profilu mastných kyselin v kozím mléce a jogurtových nápojů obsahujících probiotika a prebiotika.

Vybrané kozy (n=36) na třetí laktaci byly rozděleny do tří skupin: kontrolní skupina koz (n=12) byla krmena pouze standardní krmnou dávkou, 1. pokusná skupina (n=12) ke standardní krmné dávce dostávala přídavek 55ml/kus/den lněného oleje (LO) a 2. pokusná skupina (n=12) dostávala přídavek 120g/kus/den extrudovaného lněného semínka (ELS). Krmný pokus trval po dobu 3 týdnů. První vzorky mléka byly odebírány den před zahájením krmného pokusu, další vzorky byly odebírány v pravidelných intervalech v průběhu krmného pokusu. Vzorky mléka (n=144) byly odebírány při ranním dojení do standardních plastových nádob v množství 200 ml, ihned popsány a vychlazeny na 4 – 6 °C, bez přidání konzervantů a převezeny na analýzu a další zpracování do laboratoře Milcom a.s. Individuální vzorky mléka odebrané při čtvrtém odběru (n=36, 400 ml) byly použity na výrobu jogurtových nápojů.

Jogurtové nápoje byly vyrobeny přidáním 4g prebiotik Orafiti P95 na bázi čekankového inulinu (BENEO-Orafiti, Belgie) do 196 g kozího mléka a pasterizovány při 84°C po dobu 10 minut. Při fermentaci byla využita jogurtová kultura CCDM 528 (*Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbruckii* subsp. *bulgaricus*, Laktoflora®) a probiotický kmen *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (Bb1, Chr. Hansen). Fermentace probíhala při 30°C po dobu 16-18 hod.

Základní mléčné složky byly stanoveny na infračerveném analyzátoru s Fourierovou transformací pracujícím ve střední části infračerveného spektra (Milkoscan FT2). Vzorky byly analyzovány gravimetrickými metodami podle norem institutu ČSN. Mastné kyseliny obsažené v mléčném tuku kozího mléka a jogurtových nápojů, byly analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

Metodický okruh IV. je podrobněji definován detailními metodikami uvedenými v následující publikaci (Kapitola č. 5):

Borková, M, Šulc, M, **Novotná K**, Smolová, J, Hyršlová, I, Fantová, M, Elich, O. 2018. The influence of feed supplementation with linseed oil and linseed extrudate on fatty acid profile in goat yoghurt drinks. *Mljekarstvo* 68, 1, 30-36.

4.5. Metodický okruh V.

Vliv tvarových charakteristik na mléčnou užitkovost a počet somatických buněk v kozím mléku

S ohledem na zdravotní stav koz a jejich vemen, byl pokus popsán v metodickém okruhu V. zaměřen na vliv tvarových charakteristik na mléčnou užitkovost a počet somatických buněk v kozím mléku. Samotné měření bylo prováděno před ranním dojením, když byla zvířata (487 koz) zafixována v dojárně. Postup pro lineární popis vemen dojných koz vychází z metodiky pro dojené ovce Milerski et Schmidova (2016) a zahrnuje hodnocení celkem 7 charakteristik vemene. Hloubka vemene, šířka vemene a délka struků byly exaktně měřeny s přesností na 1 cm pomocí pravítka s rozsahem měření 30 cm. Další charakteristiky, souměrnost vemene, postavení struků, rozpolcení vemene, zadní upnutí vemene, bylo prováděno podle subjektivního hodnocení podle pětibodové stupnice. Všechna měření prováděl 1 posuzovatel. Soubor s lineárním popisem vemen (n=2727) byl propojen se souborem mléčných užitkovostí koz - počtem somatických buněk (data z oficiálních databází vedených ČMSCH, a.s.). Zvířata, která neměla záznam o užitkovosti, byla z další analýzy vyloučena (n=144). Data byla vyhodnocena smíšeným modelem (PROC MIXED, SAS 9.2, 2004) s opakovatelností, kde opakováním bylo zvíře. Jako efekty byly zohledněny rok odběru mléka, měsíc odběru mléka a vlastnost lineárního popisu.

Metodický okruh V. je podrobněji definován detailními metodikami uvedenými v následující publikaci (Kapitola č. 5):

Novotná K, Svitáková A, Rychtářová J, Fantová M, Nohejlová L. 2018. Methodology of udder description and the effect on somatic cell count in Czech White Shorthaired Goat Breed. *Medycyna Weterynaryjna*. 74, 8, 497 - 500.

5. Publikované práce

- 1) Kouřimská L., Vondráčková E., Fantová M., Nový P., Nohejlová L., **Michnová K.** 2014. Effect of feeding with algae on fatty acid profile of goat's milk. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 45, 3, 162-169. ISSN: 1211-3174.
- 2) **Novotná K.**, Fantová M., Nohejlová L., Borková M., Stádník L., Ducháček J. 2017. Effect of *Chlorella vulgaris* and *Japonochytrium* sp. Microalgae Supplementation on Composition and Fatty Acid Profile of Goat Milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae MendelianaeBrunensis*, 65, 5, 1585-1593.
- 3) Borková M., **Michnová K.**, Hyršlová I., Fantová M., Elich O. 2015. Changes in fatty acid profile of goat butter from goats fed algae. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 13, 82-89.
- 4) Borková M., Šulc M., **Novotná K.**, Smolová J., Hyršlová I., Fantová M., Elich O. 2018. The influence of feed supplementation with linseed oil and linseed extrudate on fatty acid profile in goat yoghurt drinks. *Mljekarstvo*, 68, 1, 30-36.
- 5) **Novotná K.**, Svitáková A., Rychtářová J., Fantová M., Nohejlová L. 2018. Methodology of udder description and the effect on somatic cell count in Czech White Shorthaired Goat Breed. *Medycyna Weterynaryjna*, 74, 8, 497 - 500.

EFFECT OF FEEDING WITH ALGAE ON FATTY ACID PROFILE OF GOAT'S MILK*

L. Kouřimská, E. Vondráčková, M. Fantová, P. Nový, L. Nohejlová, K. Michnová

Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Prague, Czech Republic

The study was conducted to determine whether the inclusion of algae *Chlorella vulgaris* in dairy goats' diets would change the fatty acid profile and increase the proportion of unsaturated fatty acids in goat's milk. White short-haired dairy goats on 2nd and 3rd lactations were fed 5 and 10 g of dried algae supplementation for six weeks. The fatty acids profile of milk was analyzed using gas chromatography (flame ionization detector (FID)). The addition of dried algae caused changes of the profile of fatty acids in the milk. The more algae were added to the diet, the greater the changes in the fatty acids profile of milk were found. A statistically significant effect ($P = 0.0390$) was found between the control group and the group supplemented with 10 g of *Chlorella vulgaris* per goat per day. The greatest effect of dietary treatment was seen in the relative reduction of palmitic acid content and increased oleic, linoleic, and linolenic acids content. Results suggested that the addition of algae also increased the nutritional quality of goat's milk. There was a positive change in the ratio of SFA:MUFA:PUFA in terms of reducing the proportion of saturated fatty acids, as well as a change in the ratio of n-6 and n-3 PUFAs.

white shorthaired goat; nutritional value; saturated fatty acids; unsaturated fatty acids; *Chlorella vulgaris*



doi: xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

Received for publication on July 10, 2013

Accepted for publication on May 7, 2014

INTRODUCTION

The use of goat's milk could help to resolve many human health problems (Reynolds, 2009). For example, it was found that the consumption of goat's milk reduces the amount of total and LDL cholesterol because of triacylglycerols with medium chain fatty acids (FA). Their content in goat's milk is 36% compared to 21% in cow's milk (Heinlein, 2004). Goat's milk is also easier to digest than cow's milk due to its smaller fat globules size and this is one of the reasons why it is better tolerated (Janda, 1996).

Goat's milk fatty acids (FA) profile differs from the cow's milk FA profile, but there are still a low level of polyunsaturated FAs and a relatively high amount of saturated FAs in it. Goat's milk fat contains 53–72% of saturated (SFA), 26–42% of monounsaturated (MUFA), and 2–6% polyunsaturated (PUFA) fatty acids. More than 75% of the total FAs of goat's milk are capric, myristic, palmitic, stearic, and oleic acids. Therefore, we are constantly striving to increase the content of polyunsaturated FAs and looking for new ways of achieving it (Antunac et al., 2001; Park et al., 2007; Samková et al., 2009).

The typical flavour of goat's milk is created by short chain FAs (caproic, caprylic, and capric) together with medium chain FAs. They are used in the treatment of malabsorption syndromes of various origin (Chow, 2000; Alferéz et al., 2001; Cattaneo et al., 2006; Samková et al., 2009). SFAs with longer chains (12–16 carbon atoms per molecule) mostly act in a negative way, because they increase the synthesis of LDL cholesterol after their absorption in the body (Berner, 1993). The most represented SFA in goat's milk is palmitic acid. Goat's milk contains 23.2–34.8% of this FA but its content can be effectively reduced by increasing the proportion of protein in the feeding portion (Park et al., 2007; Czuderna et al., 2010). The stearic acid content in goat's milk is also quite high but this fatty acid is probably very quickly converted by desaturase into oleic acid (Samková et al., 2009). Oleic acid is the most prevailing MUFA in goat's milk with its content being 15.4–27.7%. Some studies indicate that this acid can help reduce weight, because its absence in the diet leads to increased fat deposits in the body (Park et al., 2007; Pauwels, Kostkiewicz, 2010). PUFAs are not too much

* Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Project NAZV QJ1310107. the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA), Project No. 20132035..

represented in goat's milk fat, but they are important in human nutrition and essential for normal growth and development in mammals (Williams, 2000; Papadopoulos et al., 2002; Bourre, 2005). The recommended ratio of SFA, MUFA, and PUFA is $< 1:1.4 > 0.6$. The ratio of n-6: n-3 PUFAs should be maximally 5:1. Although there is relatively large amount of PUFAs in ruminants' feeding portions, their content in milk is relatively low due to their biohydrogenation in the rumen.

Green algae are one possible source of bioactive components. Freshwater alga *Chlorella vulgaris* therefore represents an interesting source of nutritionally valuable substances, including unsaturated fatty acids. Its cultivation is easy and relatively cheap. Algae grow very fast, have high yields, and contain very valuable nutrients, especially proteins, antioxidants, and fatty acids (Table 1). *Chlorella vulgaris* contains about 10% fat. Its major part consists of essential unsaturated fatty acids. The advantage of algae production is in their huge growth potential, their small requirements for growing area, and a residue-free harvest (Petkov, Garcia 2007; Görs et al., 2010; Doucha, Lívanský, 2012).

Algae represent one of the most efficient converters of solar energy to biomass (Masojidek, Prášil, 2010). The use of algae has a great potential not only in the pharmaceutical and food industries (Lee, 2001), but also as an additive to livestock feed (Rasoul-Amini et al., 2009). Such supplementation of ruminants is an effective method for reducing saturated fatty acids and increasing concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) and other PUFAs in the milk of ruminants. Changes in the fatty acid profile probably relate to changes in the population of rumen bacterial flora (Torral et al., 2012).

Although considerable evidence about the health benefit of unsaturated fatty acids has been presented, they are still present in the diets of most European countries at a less than optimal requirement. Milk fat is an easily changeable component which provides the possibility to produce new dairy products from milk with higher content of n-3 and n-6 fatty acids (Kennelly et al., 2005; Park et al., 2007). Omega-3 fatty acids are in fish meat (Cant et al., 1997; Donovan et al., 2000; Shingfield et al., 2006), wheat germ, fresh fruit and vegetables, garlic, olive oil, linseed, linseed oil, walnuts, soybeans, soybean oil, and rapeseed oil (Chichlowski et al., 2005; Jones et al., 2005) and seaweed (Rasoul-Amini et al., 2009). There are several studies focused on increasing the content of PUFAs in cow's milk usually by fish oil supplementation (Cant et al., 1997; Doreau, Chilliard, 1997; Donovan et al., 2000; Keady et al., 2000), by linseed (Nudda et al., 2006) or by marine algae. Milk from cows fed fish oil contained higher concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) and total unsaturated fatty acids (Baer et al., 2001). Dietary

Table 1. Major fatty acids in algae *Chlorella vulgaris*

Fatty acid	% of total FA
C 4:0	0.20
C 6:0	2.77
C 8:0	0.26
C 12:0	0.87
C 14:0	0.69
C 16:0	14.42
C 16:1	4.04
C 18:0	1.57
C 18:1	17.62
C 18:2	11.97
C 18:3 ω-3	15.79
C 20:0	0.14
C 22:6	0.30
C 24:0	0.22

Source: Ötleş, Pire, 2001

marine algae (*Schizochytrium* sp.) also increased concentrations of CLA and docosahexaenoic acid in the milk of dairy cows (Franklin et al., 1999). Or-Rashid et al. (2008) monitored changes in fatty acids in rumen fluid of cattle fed a diet containing red algae *Cryptocodinium cohnii*. The percentage of SFA decreased when the diet was supplemented with algae. On the contrary, there was an increase in rumenic CLA. The enrichment of goat's milk with fish oil was reported by Kitesa et al. (2001), Chilliard et al. (2003), and Cattaneo et al. (2006). According to Papadopoulos et al. (2002), dairy ewe's milk composition was significantly affected by the dietary inclusion of algae *Schizochytrium* sp. The milk was significantly enriched with PUFAs and the ratio of n-6:n-3 was 2.5:4.5. However, the response of dairy goats to freshwater algae supplementation is not very well known.

The addition of algae to the diet of ruminants resulted in the reduction of SFAs and increase of CLA and other PUFAs content in their milk. A higher daily milk yield and higher fat and protein content in milk were registered, too. The addition of algae to the diet had a positive effect on cellular nutrition and the central nervous system (Vahmani, 2013).

The aim of the present study was therefore to determine whether the addition of algae *Chlorella vulgaris* in the goat's diet results in fatty acids changes and improves nutritional and health properties of goat's milk. Attention was paid to reducing the proportion of SFAs and increasing the proportion of nutritionally beneficial unsaturated FAs, mainly n-3 PUFAs. The production of milk with beneficial fatty acids may have a desirable impact on the health of consumers. Autotrophic cultivation of algae for feeding can also significantly contribute to reducing carbon dioxide emissions, because the algae use it as a source of carbon.

Table 2. Silage composition (analysed by AGRO CS a.s. EKOAKVA laboratory Česká Skalice, Czech Republic)

Parameter	Units	In the mass	In dry matter
Original mass	g . kg-1	509.50	100.00
N substances	g . kg-1	46.85	91.95
SNLs	g . kg-1	22.24	43.66
fat	g . kg-1	16.30	32.00
Fiber	g . kg-1	170.58	334.82
Ash matter	g . kg-1	29.39	57.69
BNVL	g . kg-1	248.58	487.92
Starch value		21.17	41.55
MEs/BE	MJ . kg-1	4.61/9.47	
NEL/NEV	MJ . kg-1	2.67/2.52	
Lactic acid	g . kg-1	20.40	
Acetic acid	g . kg-1	3.90	
Butyric acid	g . kg-1	0.00	
pH		4.40	

BNVL - nitrogen-free substances, SNLs - digestible nitrogen substances, MEs/BE - metabolisable energy of feed/ brutto energy of feed, NEL/NEV - netto energy for lactation/ netto energy for fattening

MATERIAL AND METHODS

Chlorella vulgaris Beij., 1996/H 14 (denoted as strain H 14) was selected in the laboratory of the Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Třeboň. The alga is deposited at the Culture Collection of Autotrophic Organisms. Basic growth parameters of the strain are: maximum specific growth rate $\mu_{max} = 0.18 \text{ h}^{-1}$ at culture temperature 35–37°C and pH 6–7.5 (Doucha, Lívanský, 2012).

Algae cultivation took place in the photobioreactor, where the algae with nutrient solution were exposed to sunlight and a CO₂ bubbler. Algae were harvested when their culture reached about 30 g of dry matter per 1 l of nutrient solution. After pre-concentration and washing with water the algae were dried using a spray dryer to 60°C for a few seconds.

Three-year old white shorthaired dairy goats on 2nd and 3rd lactation and at the beginning of the lactation period were selected for the experiment. Goats were fed *ad libitum* hay, silage, and then mashed concentrated feed in organic quality. The concentrate consisted of 50% wheat, 25% oats, and 25% maize and its portion was about 0.3 kg per animal per milking (goats were milked twice a day). Silage composition is shown in Table 2. Selected individuals were divided into three groups per 12 animals marked with blue, green, and red. The blue group was a control group with no addition of algae to the diet. The second group marked in green were the animals supplemented with 5 g of dried algae *Chlorella vulgaris* daily. Animals of the third group, marked red, were fed 10 g algae per head per day during the test. Added algae were ground and given to goats individually during milking in the form of dried powder. Samples for fatty acid profile analysis

were taken at the beginning of the experiment (March 15th) and six weeks later by its end (April 26th). Milk was collected into standard plastic sample tubes, cooled down, and kept frozen at –18°C until analysis.

Milk samples were defrosted in a water bath at 20°C. Fat was extracted by the modified Gerber method (ISO 2446:2008 (IDF 226:2008)). The method was modified using butyrometers for cheese, allowing fat removal from the top of the butyrometer after its centrifugation. Separated milk fat was esterified by 0.25M methanolic KOH according to ISO 15884:2002 (IDF 182:2002). After that, methyl esters of fatty acids were extracted into 10 ml of n-heptane and dried using anhydrous sodium sulphate. The fatty acid profile analysis was performed on Agilent 7890 GC-FID system (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA) using biscyanopropyl polysiloxane Rt®-2560 capillary column (100 m × 0.25 mm × 0.2 µm) (Restek Corp., Bellefonte, USA). The instrumental conditions were: inlet and detector temperatures 250°C, oven temperature program 100°C (4 min), 3°C per min to 240°C (10 min). The results were expressed in relative percentage of each fatty acid, and were calculated using the internal normalization of the chromatographic peak area. The Food Industry FAME Mix (AOAC 996.06 Standard, 2000) on Rt®-3507 (Restek) was used for peak identification.

The obtained data were processed using MS Excel 2007 and STATISTICA Version 9 software. To compare different groups of samples (blue, green, and red), the relative content of each fatty acid was finally calculated (100% = FA content at the beginning of the experiment). The individual groups were then compared using a *t*-test for two independent variables. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Table 3. Fatty acids profile of goats' milk samples (in %) for each experimental group at the beginning of the experiment

Sampling date 15. 3.	Blue group		Green group		Red group	
	x	SD	x	SD	x	SD
C4:0	1.7	0.6	1.5	0.2	1.2	0.2
C6:0	1.9	0.3	2.2	0.3	1.6	0.3
C8:0	2.5	0.4	3.0	0.4	2.3	0.3
C10:0	10.9	3.2	11.5	1.4	9.4	1.6
C12:0	4.7	1.0	5.6	1.0	4.9	1.3
C14:0	12.3	1.6	13.3	1.4	13.7	1.6
C14:1	1.1	0.1	1.2	0.1	1.4	0.2
C16:0	29.3	2.6	32.6	2.6	35.4	2.4
C16:1	1.0	0.1	0.9	0.1	1.1	0.2
C18:0	11.6	1.2	12.8	0.7	12.8	1.7
C18:1	15.5	2.6	12.3	2.3	13.2	2.8
C18:2	2.0	0.5	1.4	0.3	1.6	0.3
C20:0	1.1	0.3	0.6	0.2	0.8	0.4
C18:3	1.5	0.3	2.3	0.3	2.0	0.4

Blue group = control, Green group = 5 g *Chlorella vulgaris*/goat/day, Red group = 10 g *Chlorella vulgaris*/goat/day.

RESULTS

Basic statistical characteristics (arithmetic mean (x) and standard deviation (SD)) of fatty acids content in goat's milk at the beginning and the end of the experiment are given in Tables 3 and 4. The content of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in all samples was below the detection limit of the method used (0.1%). The differences of

total SFA, MUFA, and PUFA at the beginning and at the end of the experiment are presented in Fig. 1.

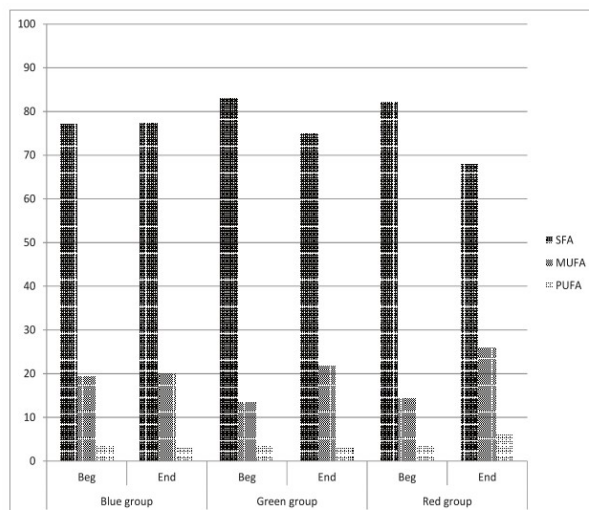
As *Chlorella vulgaris* contains mainly longer chain fatty acids with 16 carbons and more (Table 1), the effect of feed supplementation was focussed on these fatty acids. Fat extraction and fatty acids analysis conditions could probably cause a partial evaporation of highly volatile short chain fatty acids and therefore their changes are not discussed in this paper.

Table 4. Fatty acids profile of goats' milk samples (in %) for each experimental group at the end of the experiment

Sampling date 26. 4.	Blue group		Green group		Red group	
	x	SD	x	SD	x	SD
C4:0	0.9	0.7	1.4	0.2	0.9	0.5
C6:0	0.9	0.8	1.8	0.3	1.5	0.8
C8:0	1.4	0.6	2.2	0.3	1.4	0.5
C10:0	7.4	0.8	8.4	1.0	6.5	1.1
C12:0	4.1	0.5	4.0	0.6	3.6	0.6
C14:0	13.0	1.1	11.9	0.5	11.0	1.4
C14:1	1.4	0.2	1.3	0.2	3.8	0.1
C16:0	34.6	2.5	31.9	0.6	28.4	2.0
C16:1	1.1	0.1	1.0	0.1	0.8	0.3
C18:0	14.3	2.4	12.1	0.7	10.8	0.3
C18:1	17.5	3.2	19.4	2.8	21.2	1.2
C18:2	1.9	0.1	2.4	0.3	2.6	0.3
C20:0	0.7	0.2	1.3	0.2	3.8	0.2
C18:3	1.1	0.3	0.8	0.3	3.6	0.4

Blue group = control, Green group = 5 g *Chlorella vulgaris*/goat/day, Red group = 10 g *Chlorella vulgaris*/goat/day.

Fig. 1. Comparison of SFA, MUFA and PUFA content (in %) in experimental goat groups at the beginning (Beg) and at the end (End) of experiment. Blue group = control, Green group = 5 g *Chlorella vulgaris*/goat/day, Red group = 10 g *Chlorella vulgaris*/goat/day



DISCUSSION

Park et al. (2007) reported that the content of capric, myristic, palmitic, stearic, and oleic acids should exceed 75% in goat's milk, which corresponds to the results obtained (over 80% on the average). The content of palmitic acid in goat's milk should be 23.2–34.8% (Park et al., 2007). There was a 5.32% difference in this fatty acid between the control group samples taken at the beginning and at the end of the experiment which is within the range given above. The green group showed a negligible decrease of 0.71%. The largest decrease in palmitic acid content (from 35.45 to 28.44%) was observed in the red group. This downward trend was also described by Cattaneo et al. (2006) in their study focused on the addition of fish oil diet to goats. They reduced the content of palmitic acid by 3.04%. According to Czadeur et al. (2010), palmitic acid content can be also reduced by increasing the protein content in the feed, which happened by adding algae to the diet, too. *Chlorella vulgaris* is a good source of valuable proteins which make up to 60% of its dry matter content (Doucha, 1998).

The content of oleic acid showed almost identical values in the case of the blue (control) group at the beginning and at the end of the measurement. There was an 8.15% increase in both oleic acid isomers in the green group. The largest increase (by 9.33%) was recorded in the red group, where the value was 11.89% at the beginning and 21.22% at the end of the experiment. A similar tendency was also described by Chilliard et al. (2003). The addition of encapsulated canola seeds to goats feeding portion increased

the oleic acid content by 7.9%. In the control group, the linoleic acid content decreased by 0.16% during the experiment. The green group showed an increase of 1.14%. The red group recorded a 1.06% increase of all C 18:2 isomers. The content of C 18:3 isomers in the control group and the green group with the addition of *Chlorella vulgaris* (5 g per animal per day) decreased by 0.45 and 1.55%, respectively. On the other hand, the red group (10 g per animal per day) showed the 1.61% increase of both these isomers. Chilliard et al. (2003) also described the increase (by 3.1%) of linolenic acid in the case of canola seed supplementation.

Though the rumen microbiota could change the structure of fatty acids from the diet, the differences measured between the beginning and the end of the experiment showed that fatty acid profile of milk was influenced by algae supplementation. The more algae added to the diet, the greater changes in the fatty acids profile of goat's milk were found. The statistical comparison of total fatty acids in each group showed that the difference between blue and green groups (no *Chlorella vulgaris* and 5 g of *Chlorella vulgaris*) was statistically insignificant ($P = 0.3262$), the same as the difference between green and red groups (5 and 10 g of *Chlorella vulgaris*) ($P = 0.1764$). In contrast, a statistically significant difference between the blue group and the control group was found ($P = 0.0390$). The addition of 10 g of algae into the feed thus demonstrated statistically significantly different fatty acid composition of dairy goats' milk.

The ratio of SFA:MUFA:PUFA in the samples analyzed was compared with nutritionally recommended values (< 1:1.4:> 0.6). In the case of the

control group, this ratio was almost identical at the beginning (5.56:1.4:0.25) and at the end of the experiment (5.41:1.4:0.20). The green group with the addition of 5 g of algae per animal per day showed a positive change in this ratio from 8.66:1.4:0.38 to 4.82:1.4:0.21. The red group, with the highest addition of algae (10 g per day), showed the greatest positive change in the ratio of SFA:MUFA:PUFA, from 7.97:1.4:0.34 to 3.68:1.4:0.34. There was a significant (by more than 50%) reduction in the SFA content. However, it should be noted that short chain fatty acids were not taken into account because of their volatility and possible loss during the applied esterification method.

The red group also exhibited a positive shift of n-6:n-3 PUFA ratio, which should be maximally 5:1 in the human diet. This experimental group exhibited the ratio of 3.72:1 at the beginning of the experiment and 2.36:1 at the end of the experiment, while the blue control group started at 3.04:1 and finalized at 4.70:1. The results may, however, be regarded only as orientation values because the total PUFA content was relatively low. If this tendency is proved, the increasing proportion of n-3 PUFA in milk from goats supplemented with algae could bring about a positive effect in the prevention of hypertension, tumour growth and development, coronary disease, and diabetes (Simpoulos, 1999; Hardman, 2002).

Fatty acids play also an important role in cholesterol regulation in blood. Fatty acids with 12 to 16 carbon atoms significantly increase the level of LDL and HDL cholesterol and thus the total cholesterol in the blood plasma (Foster et al., 2009). Novel milk with reduced SFA could therefore decrease LDL cholesterol fraction which significantly lowers total plasma cholesterol (Nokes et al., 1996). Increasing the content of PUFAs could be beneficial not only to humans, but also to neonatal goat kids, especially in organic farming systems where the diet of the new-born animals consists of maternal milk for at least 45 days.

CONCLUSION

Our results showed that dietary composition affected the fatty acid profile of dairy goat's milk. The addition of dried algae *Chlorella vulgaris* to the diet of goats caused changes in both saturated and unsaturated fatty acids in milk. The differences measured between the beginning and the end of the experiment showed that the more algae was added to the diet, the greater changes in the fatty acids profile of goat's milk were found. A statistically significant effect was found between the control group and the group supplemented with 10 g of *Chlorella vulgaris* per goat per day. The greatest effect was seen in the relative reduction of palmitic acid content and increased oleic, linoleic, and linolenic acids content. The addition of algae also increased the nutritional quality of goat's milk, because there was

a positive change in the ratio of SFA:MUFA:PUFA in terms of reducing the proportion of saturated fatty acids, as well as a the tendency in the change of n-6 and n-3 PUFAs ratio.

REFERENCES

- Alferez MJM, Barrionuevo M, Aliaga IL, Sanz-Sampelayo MR, Lisbona F, Robles JC, Campos MS (2001): Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. *Journal of Dairy Research*, 68, 451–461. doi: 10.1017/S0022029901004903.
- Antunac N, Havránek JL, Samaržija D (2001): Effect of breeds on chemical composition of goat milk. *Czech Journal of Animal Science*, 46, 268–274.
- AOAC Official Method 996.06 (2000): Fat (total, saturated, and unsaturated) in foods. *Official methods of analysis of AOAC International*, Revision 1, Chapter 41. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg, 20-24.
- Baer RJ, Ryali J, Schingoethe DJ, Kasperson KM, Donovan DC, Hippen AR, Franklin ST (2001): Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. *Journal of Dairy Science*, 84, 345–353. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74483-9.
- Berner LA (1993): Round table discussion on milkfat, dairy foods, and coronary heart-disease risk. *Journal of Nutrition*, 123, 1175–1184.
- Bourre JM (2005): Where to find omega-3 fatty acids and how feeding animals with diet enriched in omega-3 fatty acids to increase nutritional value of derived products for human: what is actually useful? *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 9, 232–242.
- Cant JP, Fredeen AH, MacIntyre T, Gunn J, Crowe N (1997): Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 77, 125–131. doi: 10.4141/A95-125.
- Cattaneo D, Dell'Orto V, Varisco G, Agazzi A, Savoini G (2006): Enrichment in n-3 fatty acids of goat's colostrum and milk by maternal fish oil supplementation. *Small Ruminant Research*, 64, 22–29.
- Chichlowski MW, Schroeder JW, Park CS, Keller WL, Schimek DE (2005): Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *Journal of Dairy Science*, 88, 3084–3094. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72990-8.
- Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J, Lamberett G (2003): A review of nutritional and physiological factors affecting goat's milk lipid synthesis and lypolysis. *Journal of Dairy Science*, 86, 1751–1770.
- Chow CK (2000): *Fatty acids in foods and their health implications*. Marcel Dekker, New York.
- Czauderna M, Kowalczyk J, Michalski JP (2010): Effect of a protein level in the diet on fatty acid profile in goat milk. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 19, 211–217.

- Donovan DC, Schingoethe DJ, Baer RJ, Ryali J, Hippen AR, Franklin ST (2000): Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 2620–2628. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75155-1.
- Doreau M, Chilliard Y (1997): Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. *Reproduction Nutrition Development*, 37, 113–124. doi: 10.1051/rnd:19970112.
- Doucha J (1998): Program Chlorella in the Czech Republic. Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Třeboň. (in Czech)
- Doucha J, Livanský K (2012): Production of high-density Chlorella culture grown in fermenters. *Journal of Applied Phycology*, 24, 35–43. doi: 10.1007/s10811-010-9643-2.
- Foster R, Williamson CS, Lunn J (2009): Culinary oils and their health effects. *Nutrition Bulletin*, 1, 4–47.
- Franklin ST, Martin KR, Baer RJ, Schingoethe DJ, Hippen AR (1999): Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *Journal of Nutrition*, 129, 2048–2054.
- Görs M, Schumann R, Hepperle D, Karsten U (2010): Quality analysis of commercial Chlorella products used as dietary supplement in human nutrition. *Journal of Applied Phycology*, 22, 265–276. doi: 10.1007/s10811-009-9455-4.
- Haenlein GFW (2004): Goat's milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, 51, 155–163.
- Hardman WE (2002): Omega-3 fatty acids to augment cancer therapy. *Journal of Nutrition*, 132, 3508S–3512S.
- ISO 2446:2008 (IDF 226: 2008). Milk - Determination of fat content. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO 15884:2002 (IDF 182: 2002). Milk fat - Preparation of fatty acid methyl esters. International Organization for Standardization, Geneva.
- Jandal JM (1996): Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 22, 177–185.
- Jones EL, Shingfield KJ, Kohen C, Jones AK, Lupoli B, Grandison AS, Beever DE, Wilyams CM, Calder PC, Yaqoob P (2005): Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. *Journal of Dairy Science*, 88, 2923–2937. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72973-8.
- Keady TWJ, Mayne CS, Fitzpatrick DA (2000): Effects of supplementation of dairy cattle with fish oil on silage intake, milk yield and milk composition. *Journal of Dairy Research*, 67, 137–153. doi: 10.1017/S0022029900004180.
- Kennelly JJ, Bell JA, Keating AF, Doepel L (2005): Nutrition as a tool to alter milk composition. *Advances in Dairy Technology*, 17, 255–275.
- Kitessa SM, Gulati SK, Ashes JR, Fleck E, Scott TW, Nichols PD (2001): Utilisation of fish oil in ruminants – II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Animal Feed Science and Technology*, 89, 201–208.
- Lee YK (2001): Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, 13, 307–315.
- Masojídek J, Prášil O (2010): The development of microalgal biotechnology in the Czech Republic. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 37, 1307–1317.
- Noakes M, Nestel PJ, Clifton PM (1996): Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of humans consuming the products. *American Journal of Clinical Nutrition*, 63, 42–46.
- Nudda A, Battacone G, Usai MG, Fancelli S, Pulina G (2006): Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 89, 277–282. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72092-6.
- Or-Rashid MM, Kramer JKG, Wood MA, McBride BW (2008): Supplemental algal meal alters the ruminal trans-18:1 fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *Journal of Animal Science*, 86, 187–196. doi: 10.2527/jas.2007-0085.
- Ötleş S, Pire R (2001): Fatty acid composition of Chlorella and Spirulina microalgae species. *Journal of AOAC International*, 84, 708–714.
- Papadopoulos G, Goulas C, Apostolaki E, Abril R (2002): Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 69, 357–365. doi: 10.1017/S0022029902005599.
- Park YW, Juárez M, Ramos M, Haenlein GFW (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 88–113. doi: 10.1016/j.smallrumres.2006.09.013.
- Pauwels EKJ, Kostkiewicz M (2010): The Mediterranean diet, part IV: A diet for obesity or food for fat? *Drugs of the Future*, 35, 121–128.
- Petkov G, Garcia G (2007): Which are fatty acids of the green alga Chlorella? *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 281–285. doi: 10.1016/j.bse.2006.10.017.
- Rasoul-Amini S, Ghasemi Y, Morowvat MH, Mohagheghzadeh A (2009): PCR amplification of 18S rRNA, single cell protein production and fatty acid evaluation of some naturally isolated microalgae. *Food Chemistry*, 116, 129–136. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.025.
- Reynolds M (2009): The nutritional benefits of goat's milk. *Dairy Goat Journal*, 87, 23–24.
- Samková E, Pešek M, Špička J, Pelikánová T, Hanuš O (2009): The effect of feeding diets markedly differing in the proportion of grass and maize silages on bovine milk fat composition. *Czech Journal of Animal Science*, 54, 93–100.
- Shingfield KJ, Reynolds CK, Hervás G, Grinari JM, Grandison AS, Beever DE (2006): Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 714–732. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72134-8.

EFFECT OF *CHLORELLA VULGARIS* AND *JAPONOCHYTRIUM* SP. MICROALGAE SUPPLEMENTATION ON COMPOSITION AND FATTY ACID PROFILE OF GOAT MILK

Klára Novotná¹, Milena Fantová¹, Lenka Nohejlová¹, Markéta Borková²,
Luděk Stádník¹, Jaromír Ducháček¹

¹Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 16521, Prague 6 – Suchbátka, Czech Republic

²Diary Research Institute, Ke Dvůru 791/12a, 160 00 Prague 6, Czech Republic

Abstract

NOVOTNÁ KLÁRA, FANTOVÁ MILENA, NOHEJLOVÁ LENKA, BORKOVÁ MARKÉTA, STÁDNÍK LUDĚK, DUCHÁČEK JAROMÍR. 2017. Effect of *Chlorella Vulgaris* and *Japonochytrium* sp. Microalgae Supplementation on Composition and Fatty Acid Profile of Goat Milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65(5): 1585–1593.

The aim of this study was to investigate the effect of two species of the microalgae on the milk yield, the basic composition and the fatty acid profile of goat milk, with focus on n-3 fatty acids. Forty-five White short-haired goats were randomly allocated to three groups; the control group (C) with no supplementation microalgae to the diet. The first experimental group (Ch) was supplemented with *Chlorella vulgaris* and second experimental group (J) has been supplemented with *Japonochytrium* sp. The *Japonochytrium* supplementation negatively affected milk yield, but the amount of milk fat (+0.1%; +0.45%) and solids-not-fat (+0.27%; +0.86%) were higher than in group C and Ch. The amount of polyunsaturated ($5.527\% \pm 0.378$) and saturated ($71.560\% \pm 0.861$) fatty acids was also highest in group J. An increase of C20:4, C20:5 was detected in J and Ch, and the concentration of C22:6 was highest in group J (+0.019%; $P < 0.001$).

Keywords: goat's milk, milk composition, fatty acid, microalgae, *Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp.

INTRODUCTION

Producers of goat milk and dairy products are constantly trying to increase yield and change the ratio of protein and milk fat (Kennelly *et al.*, 2005). In recent years, there has been increased effort to affect the fatty acid (FA) profile of the goat milk and dairy products. Modifications in ruminant diet can multiply concentrations of bioactive compounds (conjugated linoleic acid (CLA) or n-3 and n-6 fatty acids) in milk and dairy products (Chilliard *et al.*, 2003). Such enriched milk could be used for the development of new functional foods and nutritional supplements, and it could improve the health of consumers (Hardman, 2002; Póti *et al.*, 2016). The high intake of n-3 fatty acids can reduce human blood triglycerides and the risk factor of coronary heart disease, minimise the possibility of thrombosis leading to a heart

attack (Hardman, 2002; Li *et al.*, 2003). Linoleic acid (C18:2, n-6) and alpha-linolenic acid (C18:3, n-3) are considered essential to humans because they cannot be synthesised in the human body (Chilliard *et al.*, 2003). Alpha-linolenic acid is the precursor of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) such as eicosapentaenoic acid (C20:5, n-3, EPA) and docosahexaenoic acid (C22:6, n-3, DHA), which are required for many metabolic processes in human body and effectively prevent coronary heart diseases (Hardman, 2002; Póti *et al.*, 2015). CLA has anticarcinogenic and antiatherogenic effects of the anti-obesity properties enhancing, antidiabetic and immune system (Tsiplakou *et al.*, 2008). The most efficient strategies involved supplementing animal feed with different oils. Results of such studies reported that n-3 PUFA enriched supplemental fat decreased in feed consumption, milk yield and

milk fat depression in cows (Or-Rashid *et al.*, 2008), however, in goat reported no effect (Zhang *et al.*, 2006). Nevertheless, data on feeding microalgae additions are limited, mainly in dairy cows and ewes, such as Papadopoulos *et al.* (2002); Boeckart *et al.* (2008); Toral *et al.* (2010). The microalgae cultivating have been developed over the last decades because it is a straightforward and inexpensive method for their cultivation. Microalgae can produce valuable metabolites, such as n-3 fatty acids for nutraceutical and pharmaceutical purposes (Guerin *et al.*, 2003; Hu, 2004). Green freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* belonging to the class *Trebouxiophyceae*, family *Chlorellaceae* contains high concentrations of beneficial fatty acids, and it is a primary source of linoleic acid and alfa-linolenic acid (Petkov et Garcia, 2007). The second tested microalgae *Japonochytrium* sp. is in Kingdom *Thraustochytrid*, saprophytic species occurring in marine and brackish waters on the surface of algae, organic detritus and vascular plants. *Thraustochytrid* produce and accumulate high concentration of lipids in their biomass, especially DHA (Humhal *et al.*, 2016; Jasuja *et al.*, 2010). Microalgae can be included in foods or feeds, because of their easy digestibility (Luy et Rusing, 2007). We supposed that the milk amount and

the composition with emphasis on the fatty acid profile could be improved when goats are fed with the microalgae supplemented the diet. Therefore the aim of this study was to compare the effect of the supplemented two species of microalgae on the milk yield and the basic composition as well as the fatty acid profile of the goat milk, concerning the health of consumers.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

This experiment used 45 White short-haired dairy goats reared on an organic farm in the Czech Republic. The animals were balanced for parity and period of kidding. The control and experimental goats were kept indoors and were fed with 4 kg grass, hay (*ad libitum*) and 300 g grain mix (50% wheat, 25% oats and 25% maize). Goats in the first experimental group (Ch, n = 15) were fed the same ration with the addition of 10 g/head/day dried granulated microalgae *Chlorella vulgaris*, while goats in the second experimental group (J, n = 15) were fed a ration with the addition of 10 g/head/day dried granulated microalgae *Japonochytrium* sp. Goats in

I: Chemical composition and fatty acid profile of standard ration and microalgae supplementation (% of total fatty acids).

	Grasslands	Hay	Concentrate feed	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Japonochytrium</i> sp.
Chemical composition					
Dry matter, g.kg ⁻¹ DM	968.41	931.14	876.34	949.38	968.51
Crude protein, g.kg ⁻¹ DM	159.79	80.94	88.59	96.12	94.41
Crude fat, g.kg ⁻¹ DM	18.72	10.14	29.38	13.67	5.4
Crude fiber, g.kg ⁻¹ DM	219.73	345.41	42.28	17.83	14.09
Crude ash, g.kg ⁻¹ DM	106.13	46.98	17.34	20.05	24.5
Main fatty acids					
C 16:0, %	14.775	22.829	11.587	16.17	22.93
C 18:0, %	1.992	5.835	1.803	0.92	1.474
C 18:1, n-9, %	6.348	21.624	23.38	0.49	14.869
C 18:2, n-6, %	15.424	17.935	58.307	28.34	1.682
C 18:3, n-6, %	0.175	0.283	0.024	0.00	0.116
C 18:3, n-3, %	56.051	21.99	2.183	33.66	0.085
C 20:2, n-6, %	0.056	0.053	0.046	0.00	0.014
C 20:3, n-6, %	0.00	0.098	0.005	0.00	0.174
C 20:4, n-6, %	0.012	0.00	0.003	0.14	0.209
C 20:5, n-3, %	0.343	0.552	0.123	0.00	0.575
C 22:6, n-3, %	0.094	0.187	0.091	0.81	41.954
SFA, %	23.41	23.72	19.83	19.2	28.842
MUFA, %	10.98	11.28	35.12	18.43	15.853
PUFA, %	65.61	65	45.056	62.14	55.307
n-3, %	50.07	41.11	2.89	33.66	43.456
n-6, %	15.36	23.84	42.17	28.48	11.634

Notes: DM – dry matter, SFA – saturated fatty acid, MUFA – monounsaturated fatty acid, PUFA – polyunsaturated fatty acid.

control group (C, n = 15) were fed mentioned ration without supplements. Chemical composition and fatty acid profile of standard ration and microalgae supplementation are shown in Tab. I. Goats were individually fed their diet and their microalgae, the supplements were fed during milking from May to July 2015. Individual milk samples for analysis were taken four times during the experiment during the morning milking every two weeks. The first samples were collected 60 days after kidding before microalgae were fed. The second samples were taken 74, and the third samples were taken 88 days after kidding, during the supplementation with microalgae. The fourth milk samples were taken 102 days after kidding, and it was 14 days after supplementation with microalgae was finished. Milk samples (200 ml per animal) were collected into standard plastic sample tubes, cooled to 5–8 °C, and transported in a thermo-box to the milk laboratory at Czech University of Life Sciences in Prague for analysis.

Determination of basic components in milk

Milk samples were assayed immediately on arrival for solids-not-fat solids (SNF), fat (F), total protein (P) and lactose (L) contents. Daily milk yield (DMY) was determined from both milk sampling of the day. Milk was assayed using the infrared Fourier transform analyser operating in the central part of the infrared spectrum (Milkoscan FT2, FOSS, Hilleroed, Denmark). Milk samples were analysed for milk compositions by gravimetric method (CSN EN ISO 1211 – Reference method) according to the Czech Standards Institution (2011).

Determination of fatty acids in milk

For fatty acids analysis, milk was frozen at –18 °C until analysis. Milk samples were defrosted in a water bath at 20 °C, homogenised and centrifuged at 5000 g per minute for 15 min. The cell pellet was frozen at –70 °C and lyophilized (Lyovac GT2, Hilleroed, Denmark) for 15 hours. Fatty acids in isolated milk fat were re-esterified to their methyl esters. For esterification, approximately 40 mg milk fat, 0.5 ml methanol, and 0.5 ml methanolic-base (0.5 N) were placed in a 25ml centrifuge tube. The solution was agitated and heated for 2 min at 80 °C. Next, 1.5 ml of hexane and 10 ml of saturated sodium chloride solution were added. The tube was agitated again, and the hexane layer was separated and analysed. FAs were determined using a gas-chromatographic method (GC) using an Agilent 7890A apparatus with an SP-2560 Supelco column (100 m × 0.25 mm × 0.2 µ) with helium carrier gas (flow 1.2 ml/ min), with injection and detector temperatures at 280 °C. The column temperature was 140 °C held for 5 min and then increased 4 °C/ min to 240 °C. The identification of FAME was carried out using the analytical standards (Supelco, Christiansburg, Virginia). The proportions of individual FAs were calculated from the ratio of each peak area to the total area of all observed FAs.

Furthermore, the total amount of saturated (SFA), mono (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids including subgroups n-3 and n-6 fatty acids have been determined.

Statistical analysis

Effects of addition microalgae *Chlorella vulgaris* and microalgae *Japonochytrium* sp. in the diets on selected milk production traits were assessed by analysis of variance (ANOVA) using the GLM procedure of the SAS 9.2 software (SAS Institute Inc. 2002–2005). For the calculations, the following model was designed:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \beta_j + e_{ijk}$$

Y_{ij} – measured values of dependent variable (milk yield (kg), milk fat, protein, lactose and solids-not-fat (%), fatty acids (%)), μ – overall mean of dependent variable,

A_i – fixed effect of diet (microalgae addition, 3 levels), $i = \text{Chlorella vulgaris}$ (Ch), $n = 15$; *Japonochytrium* sp. (J), $n = 15$; control group without microalgae (C), $n = 15$, β_j – fixed effect of order of sample (an average of group Ch, J, C), e_{ijk} – random residual effect. The differences between the variables estimated were tested at the levels of significance $P < 0.05$ and $P < 0.01$.

RESULTS

Basic statistical parameters of the model applied to different microalgae supplementation, and the order of sample on the composition of goat milk are shown in Tab. II. Model equations and the group were statistically significant for the daily milk yield, the milk fat and the solids-not-fat ($P < 0.001$). The order of sample was statistically significant only for fat ($P < 0.001$). The effect of sample affected the amount of milk yield ($P < 0.001$), the milk fat ($P < 0.001$), and the solids-not-fat ($P < 0.05$). Nevertheless, other parameters did not show the significant effect of factors differences in all groups (model, group and order of sample). The amount of the milk yield and the composition of goat milk is shown in Tab. III. There was a higher amount of milk yield in the control group than in group Ch (+1.24 kg, $P < 0.001$) and in group J (+0.89 kg, $P < 0.001$). The order of sample affected the milk yield, too. The highest amount of milk was measured in the second specimen ($2.06\% \pm 0.101$) in contrast with the fourth sample when the lowest amount of milk ($1.57\% \pm 0.101$) was measured. This difference was statistically significant ($P < 0.001$). The amount of fat and solids-not-fat was measured the highest in group J and the lowest in group Ch, in both cases. The differences between groups were statistically significant ($P < 0.001$). The order of sample affected the amount of fat and solids-not-fat in milk, too. The lowest amount of milk was measured in the last specimen; however, the amount of fat and protein slightly increased.

II: Basic statistical parameters of model applied to different microalgae supplementation and the order of sample on composition of goat milk.

	MODEL		Group		Order of sample	
	r ²	P	F-test	P	F-test	P
milk yield (kg)	0.402	<0.001	61.93	<0.001	4.95	0.002
fat (%)	0.167	<0.001	10.65	<0.001	6.60	<0.001
protein (%)	0.031	0.255	0.28	0.753	2.02	0.112
lactose (%)	0.014	0.715	0.16	0.854	0.86	0.464
SNF (%)	0.136	<0.001	11.39	<0.001	3.2	0.024

Notes: SNF – solids-not-fat.

III: Effect of microalgae supplementation and order of sample on milk yield and composition of goat milk (LSM ± SD).

effect		Milk yield (kg)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	SNF (%)
		LSM ± SD	LSM ± SD	LSM ± SD	LSM ± SD	LSM ± SD
Group	C	2.59 ± 0.070 ^{A,C}	2.95 ± 0.053 ^A	2.89 ± 0.022	4.37 ± 0.029	10.81 ± 0.093 ^A
	Ch	1.35 ± 0.097 ^{B,A}	2.60 ± 0.073 ^{B,C}	2.86 ± 0.031	4.34 ± 0.040	10.22 ± 0.128 ^{B,C}
	J	1.70 ± 0.105 ^{D,b}	3.05 ± 0.079 ^D	2.88 ± 0.033	4.36 ± 0.043	11.08 ± 0.079 ^D
Order of sample	1	1.88 ± 0.101	2.73 ± 0.076 ^A	2.81 ± 0.032	4.36 ± 0.042	10.49 ± 0.134 ^A
	2	2.06 ± 0.101 ^A	3.13 ± 0.076 ^{B,C}	2.90 ± 0.032	4.37 ± 0.042	11.02 ± 0.134 ^B
	3	2.00 ± 0.101 ^A	2.70 ± 0.076 ^D	2.88 ± 0.032	4.39 ± 0.042	10.56 ± 0.134
	4	1.57 ± 0.101 ^{B,b}	2.90 ± 0.077	2.91 ± 0.032	4.30 ± 0.042	10.74 ± 0.135

Notes: SNF – solids-not-fat. Different letters in the columns are statistical significance of the A-B, C-D...P < 0.001; a-b, c-d...P < 0.05.

Neither the microalgae supplementation nor the order of sample had any effect on the amount of protein and lactose in goat milk.

From the basic statistic model equation (Tab. IV) the microalgae supplementation positively affected the concentrations of lauric (C12:0), myristic (C14:0), palmitoleic (C16:1), oleic (C18:1), linoleic (C18:2), eicosatrienoic (C20:3) and n-6 PUFA, however the order of sample affected C6-16:0, C18:1, C18:2, C20:3, SFA, MUFA on the level of significance P < 0.01. The results of fatty acid analysis of milk samples are presented in Tab. V. The highest amount of SFA was measured in group J (71.560% ± 0.861), it was caused by the increase of caproic (C6:0), caprylic (C8:0), capric (10:0), lauric (12:0), myristic (C14:0) and decreased concentrations of palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0). The order of sample affected the concentration of SFA significantly as well (P < 0.001). The amount of MUFA was lower in group J than in Ch and C (P > 0.05). However, the effect of the order of sample was significant (P < 0.001). The decrease of MUFA between the first and the second sample was -4.509%, it was due to a decrease of C16:1- *trans*, C16:1, C18:1, n-9 in the second sample. Higher concentration of MUFA was measured in the last sample (+3.921%, P < 0.001). PUFA increased in the experimental group J unlike C (+0.189%) and Ch (+0.525%), but the amount of both subgroups n-3 and n-6 was the lowest in group J. The amount of PUFAs, n-3, n-6 fatty acids was not statistically significant for the effect of different microalgae supplementation neither for the order of sample. The differences in concentration of

C18:2 were significant between groups J (+0.311%; P < 0.05) and C and in groups J (+0.444%; P < 0.001) and Ch. The effect of the order of sample was significant for concentrations of eicosatrienoic acid (C20:3, n-6 and C20:3, n-3), their concentrations increased in the last sample. The concentration of DHA was highest in group J, it was statistically significant (+0.019%; P < 0.001). DHA decreased during the experiment, the highest concentration of DHA was in the first sample and the last sample was lowest (-0.017%, P < 0.05).

DISCUSSION

The nutrition is one of the most important factors affecting goat milk composition (Heanlein, 2004). The aim of this study was to investigate the influence of supplementations of freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* and marine microalgae *Japponochytrium* sp. into the goat diet on the milk yield, the basic composition and the fatty acid profile of goat's milk. The chemical composition of microalgae depends especially on their environmental and cultivation conditions. About 30% of world production of algae and microalgae is used as animal feed; it is a non-traditional source of the protein, fatty acids, vitamins, minerals and others bioactive components (Lee, 2001; Petkov et Garcia, 2007; Christaki et al., 2010). *Chlorella vulgaris* is a source of linoleic and alpha-linolenic acid (Petkov et Garcia, 2007) and *Japponochytrium* sp. is an excellent source of DHA (Schmitt et al., 2012; Humhal et al., 2016). It corresponds with our results, *Chlorella vulgaris* contained 33.66% alpha-linolenic

IV. Basic statistical parameters of model applied to effect of microalgae supplementation and order of sample on fatty acid profile of goat milk (% of total fatty acids).

Fatty acids	MODEL		Group		Order of sample	
	r ²	P	F-test	P	F-test	P
C4:0	0.43	0.056	2.28	0.131	2.93	0.062
C6:0	0.61	0.003	1.61	0.227	8.43	0.001
C8:0	0.63	0.002	3.42	0.055	7.94	0.001
C10:0	0.65	0.001	3.53	0.051	8.63	0.001
C12:0	0.83	<0.001	10.88	0.001	21.72	<0.001
C14:0	0.64	0.001	5.19	0.017	7.13	0.002
C16:0	0.69	0.000	0.15	0.863	13.18	<0.001
C16:1; t	0.54	0.009	10.30	0.001	0.31	0.820
C16:1	0.29	0.238	0.25	0.783	2.34	0.107
C18:0	0.70	0.000	2.26	0.133	12.41	0.000
C18:1; t	0.10	0.856	0.52	0.603	0.28	0.836
C18:1, n-9; c	0.89	<0.001	9.72	0.001	41.82	<0.001
C18:1; c	0.22	0.431	2.43	0.116	0.09	0.963
C18:2; t	0.10	0.840	0.20	0.824	0.54	0.660
C18:2, n-6; c	0.64	0.001	8.75	0.002	4.75	0.013
C18:3, n-6	0.26	0.331	0.62	0.548	1.66	0.212
C18:3, n-3	0.23	0.023	0.75	0.485	1.33	0.296
CLA	0.27	0.296	0.24	0.791	2.06	0.141
C20:3, n-6	0.53	0.013	7.19	0.005	1.85	0.175
C20:3, n-3	0.52	0.013	0.62	0.550	6.19	0.004
C20:4, n-6	0.37	0.107	1.38	0.277	2.65	0.080
C22:2	0.21	0.483	0.87	0.438	0.98	0.424
C20:5, n-3	0.14	0.721	0.64	0.538	0.52	0.672
C22:6, n-3	0.59	0.004	7.65	0.004	3.67	0.032
SFA	0.68	0.001	1.00	0.387	11.86	0.000
MUFA	0.80	<0.001	2.80	0.088	21.85	<0.001
PUFA	0.21	0.476	0.78	0.474	1.06	0.392
n-6	0.52	0.015	7.84	0.004	1.25	0.320
n-3	0.22	0.432	0.58	0.570	1.32	0.298

Notes: CLA – conjugated linoleic acid, SFA – saturated fatty acid, MUFA – monounsaturated fatty acid, PUFA – polyunsaturated fatty acid, t – trans, c – cis.

acid and *Japonochytrium* sp. contained 41.954% DHA. The majority of the previous papers are focused on the influence of algae and microalgae on the qualitative indicators of milk of cows and ewes. According Papadopoulos *et al.* (2002) adding seaweed to the diet affected the cellular nutrition and the central nervous system, and that affects all metabolic processes in the body. The use of algae increases the activity of the thyroid gland, which affects the formation and use of acetic acid and butyric acid, which has a major influence on the amount of fat produced. Ewe milk fat and protein contents were significantly increased by supplementation with algae. According to Bichi *et al.* (2013), dietary marine algae have been associated with the milk fat depression in the milk of dairy ewes, on the other hand, marine algae positively affected the fatty acid profile, par example the effect

of addition of algae *Schizochytrium* sp. on fatty acid composition in sheep milk that content of n-3 and n-6 FAs was increased (Papadopoulos *et al.*, 2002). It corresponds with the study of Shingfield *et al.* (2013) that some species of algae have been linked to depression of milk fat in dairy ewes and the Boeckaert *et al.* (2008), they reported that algae supplementation (10 g.kg⁻¹ DM intake) significantly reduced the cow milk fat content. On the other hand, goats seem to be less sensitive to the milk fat depression than sheep (Franklin *et al.*, 2013). The content of the milk fat was the highest in a group with supplementation with *Japonochytrium* sp. However, the group with supplementation with *Chlorella vulgaris* the milk fat depression was proven. According to Póti *et al.* (2015), in dairy cows, the microalgae supplementation hurt rumen fermentation; it reduced fermentation to

V: Effect of microalgae supplementation and order of sample on selected fatty acid profile of goat milk (LSM ± SELSM) (% of total fatty acids).

Fatty acids (%)	Group				Order of sample			
	C	Ch	J	I	2	3	4	
	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
C4:0	2.602 ± 0.063	2.683 ± 0.077	2.399 ± 0.109	2.353 ± 0.091 ^a	2.619 ± 0.091	2.712 ± 0.091 ^b	2.561 ± 0.091	
C6:0	2.520 ± 0.049	2.604 ± 0.061	2.689 ± 0.086	2.485 ± 0.072 ^a	2.821 ± 0.072 ^{a,b}	2.725 ± 0.072 ^c	2.385 ± 0.072 ^{b,d}	
C8:0	2.495 ± 0.067 ^a	2.599 ± 0.082	2.846 ± 0.117 ^b	2.534 ± 0.098 ^{a,b}	2.939 ± 0.098 ^{a,b}	2.782 ± 0.098 ^{b,c}	2.331 ± 0.098 ^{b,d}	
C10:0	8.205 ± 0.246 ^a	8.492 ± 0.302	9.514 ± 0.426 ^b	8.165 ± 0.338 ^{a,c}	9.975 ± 0.338 ^{a,c}	9.131 ± 0.338 ^b	7.677 ± 0.338 ^{b,d}	
C12:0	3.208 ± 0.051 ^a	3.178 ± 0.062 ^c	3.644 ± 0.088 ^{b,d}	3.093 ± 0.074 ^a	3.743 ± 0.074 ^{a,c}	3.496 ± 0.074 ^{b,e}	3.044 ± 0.074 ^{b,f}	
C14:0	9.721 ± 0.075	9.560 ± 0.091 ^a	10.070 ± 0.129 ^b	9.473 ± 0.108 ^{a,b}	10.044 ± 0.108 ^{b,c}	9.100 ± 0.108 ^b	9.618 ± 0.108 ^d	
C16:0	27.586 ± 0.252	27.721 ± 0.308	27.436 ± 0.436	25.827 ± 0.366 ^{a,b}	28.776 ± 0.366 ^b	28.281 ± 0.366 ^b	27.441 ± 0.366 ^b	
C16:1; t	0.407 ± 0.020 ^a	0.463 ± 0.024 ^c	0.273 ± 0.034 ^{a,d}	0.380 ± 0.029	0.361 ± 0.029	0.383 ± 0.029	0.399 ± 0.029	
C16:1	0.541 ± 0.023	0.515 ± 0.028	0.532 ± 0.040	0.555 ± 0.034	0.504 ± 0.034	0.472 ± 0.034	0.584 ± 0.034	
C18:0	10.536 ± 0.176	10.369 ± 0.216	9.787 ± 0.305	11.429 ± 0.256 ^{a,b}	9.345 ± 0.256 ^b	9.925 ± 0.256 ^b	10.223 ± 0.256 ^b	
C18:1; t	2.171 ± 0.127	2.277 ± 0.155	2.004 ± 0.220	2.135 ± 0.184	2.154 ± 0.184	2.041 ± 0.184	2.274 ± 0.184	
C18:1; n-9; c	19.494 ± 0.229 ^a	19.578 ± 0.280 ^c	17.616 ± 0.396 ^{a,d}	21.122 ± 0.333 ^a	16.647 ± 0.333 ^{b,c}	17.657 ± 0.333 ^{b,e}	20.158 ± 0.333 ^{b,f}	
C18:2; t	0.912 ± 0.048	0.881 ± 0.059	0.943 ± 0.083	0.856 ± 0.070	0.946 ± 0.070	0.883 ± 0.070	0.962 ± 0.070	
C18:2; n-6; c	2.085 ± 0.050 ^a	1.952 ± 0.061 ^a	2.396 ± 0.087 ^{b,b}	2.267 ± 0.073 ^a	1.918 ± 0.073 ^{b,c}	2.188 ± 0.073	2.204 ± 0.073 ^d	
C18:3; n-6	0.046 ± 0.002	0.048 ± 0.003	0.044 ± 0.004	0.052 ± 0.003	0.045 ± 0.003	0.044 ± 0.003	0.043 ± 0.003	
C18:3; n-3	1.18 ± 0.063	1.11 ± 0.078	1.04 ± 0.110	0.97 ± 0.092	1.11 ± 0.092	1.14 ± 0.092	1.22 ± 0.092	
CLA	0.716 ± 0.071	0.641 ± 0.087	0.706 ± 0.123	0.620 ± 0.103	0.634 ± 0.103	0.594 ± 0.103	0.903 ± 0.103	
C20:3; n-6	0.104 ± 0.004	0.104 ± 0.005	0.086 ± 0.007	0.091 ± 0.006	0.079 ± 0.006 ^a	0.109 ± 0.006 ^b	0.113 ± 0.006 ^b	
C20:3; n-3	0.051 ± 0.005	0.047 ± 0.006	0.041 ± 0.008	0.036 ± 0.007 ^a	0.033 ± 0.007 ^a	0.051 ± 0.007	0.068 ± 0.007 ^{b,b}	
C20:4; n-6	0.095 ± 0.009	0.114 ± 0.011	0.117 ± 0.015	0.135 ± 0.013	0.114 ± 0.013	0.096 ± 0.013	0.091 ± 0.013	
C22:2	0.013 ± 0.005	0.002 ± 0.007	0.003 ± 0.009	0.000 ± 0.008	0.000 ± 0.008	0.009 ± 0.008	0.015 ± 0.008	
C20:5; n-3	0.091 ± 0.007	0.102 ± 0.008	0.102 ± 0.012	0.103 ± 0.010	0.105 ± 0.010	0.092 ± 0.010	0.093 ± 0.010	
C22:6; n-3	0.055 ± 0.003 ^a	0.055 ± 0.003 ^b	0.074 ± 0.004 ^{a,b}	0.071 ± 0.004 ^a	0.061 ± 0.004	0.060 ± 0.004	0.054 ± 0.004 ^a	
SFA	70.154 ± 0.497	70.524 ± 0.608	71.560 ± 0.861	68.692 ± 0.722 ^a	73.336 ± 0.722 ^{b,c}	72.279 ± 0.722 ^{b,e}	68.676 ± 0.722 ^{b,f}	
MUFA	24.451 ± 0.338	24.390 ± 0.414	22.913 ± 0.585	26.113 ± 0.491 ^a	21.604 ± 0.491 ^{b,c}	22.430 ± 0.491 ^{b,e}	25.525 ± 0.491 ^{b,f}	
PUFA	5.338 ± 0.218	5.002 ± 0.267	5.527 ± 0.378	5.157 ± 0.317	5.019 ± 0.317	5.236 ± 0.317	5.746 ± 0.317	
n-6	3.298 ± 0.121 ^a	3.657 ± 0.148 ^a	2.641 ± 0.209 ^{b,b}	3.322 ± 0.176	2.924 ± 0.176	3.211 ± 0.176	3.338 ± 0.176	
n-3	1.399 ± 0.071	1.317 ± 0.087	1.260 ± 0.123	1.180 ± 0.103	1.310 ± 0.103	1.353 ± 0.103	1.459 ± 0.103	

Notes: CLA - conjugated linoleic acid, SFA - saturated fatty acid, MUFA - monounsaturated fatty acid, PUFA - polyunsaturated fatty acid, t - trans, c - cis.

decrease the fat content and concentrations of butyric (C4:0), caproic (C6:0) and caprylic (C8:0) fatty acids of cow milk. Goat milk fat is rich in fatty acids with short and medium carbon chain which are C6:0, C8:0 and C10:0 (capric acid) (Haenlein, 2004). The supplementation with *Japonochytrium* sp. decreased the amount of C4:0, however, the amount of C6:0, C8:0, C10:0 was the highest. On the other hand, the supplementation with *Chlorella vulgaris* slightly increased the amount of C4:0, C6:0, C8:0, C10:0 compared to control group. The supplementation with *Chlorella kessleri* (10 g/kg⁻¹ DM intake) significantly increased concentrations of C4:0 but C6:0–C12:0 were decreased in goat milk (Póti *et al.*, 2015). The higher SFA amount does not necessarily mean the worse quality of milk, these SFA with short and medium carbon chain are nutritionally highly beneficial for consumers (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). On the other hand, the part of SFA represented by hypercholesterolaemic FAs (lauric C12:0, myristic C14:0, palmitic C16:0) significantly increase the level of LDL (low-density lipoprotein) and HDL (high-density lipoprotein) cholesterol (Haenlein, 2007), increase deposition of fat in the vascular walls, and are related to atherosclerotic diseases (Jensen, 2002; Ducháček *et al.*, 2014). The content of C16:0, C18:0 was lower in the group supplemented with *Japonochytrium* sp. than in the group with *Chlorella vulgaris*. According to the study of Póti *et al.* (2015) the concentrations of C12:0, C14:0, C16:0 did not show any significant differences during the experimental period. However, the decrease of these acids should have a positive effect on the consumer's health (Kouřimská *et al.*, 2014). In Borková *et al.* (2016), the feed supplementation

with *Japonochytrium* sp. (5g/head/day) increased the amount of vaccenic acid (t11-C18:1), CLA, C18:3, cis-8,11,14-C20:3, and DHA, on the other hand, C18:0 content was decreased. This is in concordance with Póti *et al.* (2015), the feeding of n-3 fatty acids increased markedly the vaccenic acid content, while decreased the amount of C18:0 in milk fat. In our study, the increase of C20:4, C20:5 in both experimental groups were detected. However, the content of CLA and alpha-linolenic was decreased. The concentration of DHA was highest in group with *Japonochytrium* sp. microalgae. Goat milk fat generally contains about 53–72% of SFA, 26–42% of MUFA and 2–6% PUFA (Torral *et al.*, 2012). However the addition of microalgae *Chlorella vulgaris* in the goats diet positively affected the ratio of SFA:MUFA:PUFA, from 7.97:1.4:0.34 to 3.68:1.4:0.34 (Kouřimská *et al.*, 2014). The feed enrichment with *Japonochytrium* microalgae positively affected the nutritional quality of goat milk due to increasing the content of PUFA (Borková *et al.*, 2016). The n-6:n-3 ratio is generally used to assess the nutritional value of fats (Póti *et al.*, 2015). The group J exhibited a positive ratio of n-6:n-3 PUFA, 2.096:1 and for the group Ch it was 2.777:1. This is in concordance with the literature reports, the recommended value is an n-6:n-3 ratio of less than 4 (Simopoulos, 2004). However, our results may be regarded as orientation values because the total PUFAs amount was relatively low. Increasing the amount of PUFAs, especially n-3 PUFA, could be beneficial for consumers health (Hardman, 2002), producers of dairy products (Borková *et al.*, 2016), but also to goat kids in organic farming systems (Kouřimská *et al.*, 2014).

CONCLUSION

In conclusion, there were significant differences in the composition of milk and fatty acid profile between two experimental groups of goats supplemented with two different species of microalgae. The *Japonochytrium* sp. microalgae supplementation resulted in the significantly higher amount of fat and solids-not-fat than *Chlorella vulgaris* supplementation. The concentration of SFA with short and medium carbon chain was significantly greater in both groups with microalgae supplementations. *Japonochytrium* sp. increased the amount of total PUFAs. The use of microalgae in the nutrition of goats caused changes in the ratio of milk fat and protein and therefore affect the yield in the production of cheese and other dairy products. While the consumers have dietary benefits from consumption of this fortified milk by microalgae fed goats, due to increased concentrations of health promoting fatty acids, can also improve the human health.

Acknowledgements

This work was supported by the grant No. QJ1310107 funded by the NAZV Agency of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic and the "S" grant of MŠMT.

REFERENCES

- BICHI, E., HERVÁS, G., TORAL, P. G., LOOR, J. J. and FRUTOS, P. 2013. Milk fat depression induced by dietary marine algae in dairy ewes: persistency of milk fatty acid composition and animal performance responses. *Journal of Dairy Sciences*, 96(1): 524–532.
- BOECKAERT, C., VLAEMINCK, B., DIJKSTRA, J., ISSA-ZACHARIA, A., VAN NESPEN, T., VAN STRAALLEN, W. and FIEVEZ, V. 2008. Effect of dietary starch or micro algae supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(12): 4714–4727.

- BORKOVÁ, M., MICHNOVÁ K., HYRŠLOVÁ, I., FANTOVÁ, M. and ELICH, O. 2015. Changes in fatty acid profile of goat butter from goats fed algae. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 13: 82–89.
- CATTANEO, D., DELL'ORTO, V., VARISCO, G., AGAZZI, A. and SAVOINI, G. 2006. Enrichment in n-3 fatty acids of goat's colostrum and milk by maternal fish oil supplementation. *Small Ruminant Research*, 64: 22–29.
- DUCHÁČEK, J., STÁDNÍK, L., PTÁČEK, M., BERAN, J., OKROUHLÁ, M., ČÍTEK, J. and STUPKA, R. 2014. Effect of cow energy status on the hypercholesterolaemic fatty acid proportion in raw milk. *Czech Journal of Food Science*, 32(3): 273–279.
- CHILLIARD Y., FERLAY A., ROUEL J. and LAMBERET G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86(5): 1751–1770.
- CHRISTAKI, E., KARATZIA, M. and FLOROU-PANERI, P. 2010. The use of algae in animal nutrition. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(3): 267–276.
- FRANKLIN, S. T., MARTIN, K. R., BAER, R. J., SCHINGOETHE, D. J. and HIPPEL, A. R. 1999. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *Journal of Nutrition*, 129(11): 2048–2054.
- GUERIN, M., HUNTLEY, M. E. and OLAIZOLA, M. 2003. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 21(5): 210–216.
- HAENLEIN, G. F. W. 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, 51(2): 155–163.
- HARDMAN, W. E. 2002. Omega-3 fatty acids to augment cancer therapy. *Journal of Nutrition*, 132(11 Suppl): 3508–3512.
- HU, Q. 2004. Industrial production of microalgal cell mass and secondary products major industrial species: *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: RICHMOND, A. (Ed.) Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology. Oxford, UK: Blackwell Science.
- HUMHAL, T., KAŠTÁNEK, P., JEŽKOVÁ, Z., ČADKOVÁ, A., KOHOUTKOVÁ, J. and BRANYIK, T. 2016. Use of saline waste water from demineralization of cheese whey for cultivation of *Schizochytrium limacinum* PA-968 and *Japonochytrium marinum* AN-4. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40(3): 395–402.
- ÚNMZ. 2011. Milk – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method) [in Czech: Mléko – Stanovení obsahu tuku – Vážková metoda (Referenční metoda)]. ČSN EN ISO 1211(570534). Český normalizační institut.
- JASUJA, N. D., JAIN, S. and JOSHI, S. C. 2010. Microbial production of docosahexaenoic acid (Ω3-PUFA) and their role in human health. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 3(4): 83–87.
- JENSEN, R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85(2): 295–350.
- KENNELLY, J. J., BELL, J. A., KEATING, A. F. and DOEPEL, L. 2005. Nutrition as a tool to alter milk composition. *Advances in Dairy Technology*, 17: 255–275.
- KOŮRIMSKÁ, L., VONDRÁČKOVÁ, E., FANTOVÁ, M., NOVÝ, P., NOHEJLOVÁ, L. and MICHNOVÁ K. 2014. Effect of feeding with algae on fatty acid profile of goat's milk. *Scientia agriculturae bohemica*, 45(3): 162–169.
- LEE, Y. K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, 13(4): 307–315.
- LI, D., BODE, O., DRUMMOND, H. and SINCLAIR, A. J. 2003. Omega-3 (n-3). Fatty acids. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.) *Lipids for functional foods and nutraceuticals*. Bridgwater, UK: The Oily Press, pp. 225–262.
- LOCK, A. L., KRAFT, J., RICE, B. H. and BAUMAN, D. E. 2009. Biosynthesis and biological activity of ruminic acid: a natural CLA isomer. In DESTAILLATS, F., SEBEDIO, J. L., DIONISI, F. and CHARDIGNY, J. M. (Eds.) *Trans fatty acids in human nutrition*. Bridgwater, UK: The Oily Press, pp. 195–230.
- LUY, M. and RUSING, M. 2007. *Process for cultivating microorganisms of the genus Thraustochytriales*. Patent 13US 2007/0141686 A1. United States Patent Office.
- MIRI, V. H., TYAGI, A. K., EBRAHIMI, S. H. and MOHINI, M. 2013. Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed extract on milk fatty acid profile and methane emission in lactating goat. *Small Ruminant Research*, 113(1): 66–72.
- OR-RASHID, M. M., KRAMER, J. K. G., WOOD, M. A. and MCBRIDE, B. W. 2008. Supplemental algal meal alters the ruminal trans-18:1 fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *Journal of Animal Science*, 86(1): 187–196.
- PAPADOPOULOS, G., GOULAS, C., APOSTOLAKI, E. and ABRIL, R. 2002. Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 69(3): 357–365.
- PETKOV, G. and GARCIA, G. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(5): 281–285.
- PÓTI, P., PAJOR, F., BODNÁR, A., PENKSZA, K. and KÖLE, P. 2015. Effect of micro-alga supplementation on goat and cow milk fatty acid composition. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(2): 259–263.
- SANZ SAMPELAYO M. R., CHILLIARD Y., SCHMIDELY, P. H. and BOZA, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 42–63.
- SHINGFIELD, K. J., BONNET, M. and SCOLLAN, N. D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7(1): 132–162.

- SCHMIDELY, P. and SAUVANT, D. 2001. Taux butyreux et composition de la mati`ere grasse du lait chez les petits ruminants: effets de l'apport des mati`eres grasses ou d'aliment concentr`e. *Animal Production*, 14(5): 337–354.
- SCHMITT, D., TRAN, N., PEACH, J., EDWARDS, T. and GREELEY, M. 2012. Toxicologic evaluations of DHA-rich algal oil in rats: Developmental toxicity study and 3-months dietary toxicity study with an in utero exposure phase. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11): 4149–4157.
- SIMOPOULOS, A. P. 2004. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20(1): 77–90.
- TORAL, P. G., BELENGUER, A., SHINGFIELD, K. J., HERVAS, G., TOIVONEN, V. and FRUTOS, P. 2012. Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science*, 95(2): 794–806.
- TSIPLAKOU, E., KOMINAKIS, A. and ZERVAS, G. 2008. The interaction between breed and diet on CLA and fatty acids content of milk fat of four sheep breeds kept indoors or at grass. *Small Ruminant Research*, 74(1–3): 179–187.
- ZHANG, R., MUSTAFA, A. F. and ZHAO, X. 2006. Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 63(3): 233–241.

Contact information

Klára Novotná: michnovak@af.czu.cz

CHANGES IN FATTY ACID PROFILE OF GOAT BUTTER FROM GOATS FED ALGAE

Markéta Borková^{1*}, Klára Michnová², Ivana Hyršlová¹, Milena Fantová¹, Ondřej Elich¹

¹Diary Research Institute, Ke Dvoru 12a, 160 00 Prague, Czech Republic

²Department of Animal Husbandry, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague, Czech Republic

*e-mail: borkovam@gmail.com

Abstract

The feed is one of the most important factors affecting goat milk composition. The purpose of this study was to investigate the influence of freshwater algae *Chlorella vulgaris* addition and marine algae *Japanochytrium* sp. addition into goat diet on the fatty acid profile of goat butter.

Forty-five White Shorthaired dairy goats during their second lactation were divided into three groups of fifteen animals. The feed in the experimental group E1 was enriched by the addition of 10 g/day of granulated *Chlorella vulgaris* and by 5 g/day of granulated *Japanochytrium* sp. in the experimental group E2 respectively. The control group C was fed a standard diet without algae supplementation. Additionally, for nutritional reasons, the fatty acid profile of butter blends (goat : cow 50 : 50, and 25 : 75) were also studied. Fatty acids were re-esterified into the corresponding methyl esters and analyzed by gas chromatography with a flame ionization detector.

Our results suggest that the feed supplementation with *Japanochytrium* sp. led to an increased content of vaccenic acid (by 16%), conjugated linoleic acid (by 5%), cis-8,11,14-eicosatrienoic (by 140%) and docosahexaenoic acid (by 80%) in the goat butter compared with the control group. *Chlorella vulgaris* supplementation hasn't increased the content of these fatty acids in the butter. The addition of cow cream into butter made from goat cream of *Japanochytrium* group caused a decrease of saturated fatty acids (by 5% in 25 : 75 butter, and by 3% in 50 : 50 butter respectively) and polyunsaturated fatty acids (by 17% in 25 : 75 butter, and by 10% in 50 : 50 butter respectively). On the other hand, monounsaturated fatty acids increased significantly in both butters (by 23% in 25 : 75 butter, and by 13% in 50 : 50 butter respectively).

Algae supplementation to the goat diet may increase the content of nutritionally beneficial polyunsaturated

fatty acids (PUFAs) in goat butter which is dependent on the type of algae and their composition.

Key words: Goat milk, Goat butter, Fatty acids, *Chlorella vulgaris*, *Japanochytrium* sp.

1. Introduction

Goat milk and milk products are very valuable sources of essential components in human nutrition. Due to the increased demand for quality products made of goat milk, breeding programmes significantly expanded in recent years in developing as well as developed countries [1]. Goat milk is mainly processed into cheese. Other dairy products as: fortified/flavoured milk, condensed milk, milk powder, ice cream, butter and yogurt are only rarely manufactured [2 - 4].

Goat milk fat is one of the most important components involved in cheese yield, firmness, texture, colour and flavour [5]. Another benefit of goat milk fat is its better digestibility in comparison with cow milk fat. This is caused by the smaller size of lipid micelles which allows for better lipase accessibility during digestion [6 - 7]. Compared with cow milk, goat milk fat contains more short chain saturated fatty acids (SCFA) like caproic (C6:0), caprylic (C8:0) and capric acid (C10:0) [7]. Short chain fatty acids possess nutritional benefits to the consumer. Goat milk contains 10 - 18% SCFA, whereas cow milk only 5 - 9% [6, 8]. Short chain fatty acids are associated with positive outcomes in: treating heart diseases, intestinal disorders, malabsorption, cystic fibrosis and cholecystitis [2, 8, and 9]. SCFA impart the characteristic odour and flavour of goat products.

To date many studies have focused on the feasibility of increasing the content of beneficial fatty acids in goat milk and other milk products; among those on

conjugated linoleic acid (CLA) and omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids to boost consumers' health [10 - 11]. The chief factor in producing such change is the animal's nutrition per se. Some algae species are convenient sources of nutritionally valuable lipids containing polyene fatty acids, in particular omega-3 and omega-6 [12]. It has been reported that the addition of the algae into the feed of ruminants causes a significant decrease of saturated fatty acids while the content of conjugated linoleic acid and other polyunsaturated fatty acids in milk goes up [13 - 14].

Several unrelated groups of organisms are commonly called 'algae' even though they belong taxonomically to several kingdoms and only a few of them show similarities with plants. *Chlorella vulgaris* belongs to the green freshwater algae of the class *Trebouxiophyceae*, family *Chlorellaceae* and provides significant amounts of linoleic and alpha-linolenic acid [15]. *Japanochytrium* sp. is a marine alga of the kingdom *Chromista*, class *Thraustochytriaceae*, family *Labyrinthulomycetes* [16]. A *Japanochytrium* alga doesn't contain any chlorophyll. However, some members of the *Thraustochytrids* class are a great source of the very valuable docosahexaenoic acid (all-*cis*-4,7,10,13,16,19-C22:6; DHA) [17].

The aim of this study was to compare the fatty acid profiles of goat butter produced with the milk of goats fed with two different types of algae. For nutritional reasons, the fatty acid profiles of butter blends (goat : cow 50 : 50, and 25 : 75) were also investigated.

2. Materials and Methods

2.1 Animals and feed

Czech breed of White Shorthaired goat was used in this experiment. The milk was collected separately for each animal during the second lactation period in the months of May (day 0) and June (day 49) 2014. Treatment groups (E1 - *Chlorella*, E2 - *Japanochytrium*) comprised 15 animals each. Each goat received either 10 g of granulated *Chlorella vulgaris* or 5 g of granulated *Japanochytrium* supplement per day in the total mixed ration (TMR). The control group (C) of 15 animals received the same TMR with no algae supplement. Algae supplementation has started the day after the first milk samples had been gathered. The fatty acids (FA) analysis of first milk gathering before the algae administration had started was used to check the uniformity and prove the same initial conditions in all groups. Before the start of the experiment goats were housed indoors (adaptation period) for a month at a farm near Liberec (Czech Republic) and all fed with the same TMR. Indoor housing continued also during the experiment. The TMR consisted of: hay ad libitum, grasslands (2 kg/head/day), and grain mix (300 g/head/day).

2.2 Butter production

Goat cream was produced from pooled milk (of the respective goat group; at day 56) using a laboratory centrifuge. The particular cream of the C, E1 and E2 groups contained 51.5% fat, 50.5% fat 49.3% fat respectively. The cream was pasteurized for 5 min. at 90 °C. Churning of cream into butter followed after its physical ripening at 8 °C for 4 hours. In this way, three samples of goat butter were produced (C, E1, E2).

Next, goat : cow cream blends were produced. In those blends E2 (*Japanochytrium*) goat cream was mixed with a regular cow cream (origin: Bohušovická mlékárna, a.s.; 40.3% fat). Cream blends were processed into butter the same way as described above. The following two butter blends were made: (a) 50 : 50 goat/cow (fat w/w), and (b) 25 : 75 goat/cow (fat w/w).

2.3 Fatty acid analysis

After the milk fat extraction [18], FA were re-esterified into the corresponding methyl esters according to a modified method described elsewhere [19]. Approximately 40 mg of milk fat were weighed into a 25 mL centrifuge screw cap tube and both 0.5 mL methanol, and 0.5 mL methanolic-base (0.5 N) were added. The solution was vigorously shaken and heated for 2 min. at 80 °C. Next, 1.5 mL of hexane and 10 mL of saturated sodium chloride solution were added and tubes briefly shaken again. The methyl esters were separated by gas chromatography using Agilent 7890A gas chromatograph fitted with a flame ionization detector and a SP-2560 capillary column (100 m × 0.25 mm × 0.2 µm, Supelco). The operation parameters were as follows: detector temperature, 280 °C; injection port temperature, 280 °C; column temperature, 140 °C for 5 min., and programmed to increase by 4 °C x min⁻¹ up to 240 °C with a final holding time of 20 min.; carrier gas, helium, 1.2 mL.min⁻¹; injection 1 µL with split ratio 1 : 100. Thirty seven fatty acids were identified using FAME standard (Supelco, USA). The individual FA ratio was calculated using the particular FA peak area to all areas of FAs observed.

2.4 Algae analysis

The FA profile of *Chlorella* and *Japanochytrium* algae was analysed according to the method described elsewhere [20].

2.5 Statistical analysis

The data were analysed using STATISTICA software (version 12, StatSoft, Inc). Post-hoc Tukey's HSD test (P < 0.05) was used for the evaluation of differences between the control and experimental group.

3. Results and Discussion

In order to assess the effect of algae addition into goat feed it is important to know the FA composition in the algae used in our experiment. The results for *Japanochytrium* and *Chlorella* algae are shown in Table 1.

It is evident that *Chlorella* is in fact a significant source of polyunsaturated FA (62.1%) of which linoleic acid and α -linolenic comprise 28.3% and 33.7%. Surprisingly low concentration of PUFA was found in *Japanochytrium* (7.7%) which significantly differed from *Chlorella*. *Japanochytrium* also contains rather large amounts of palmitic (50.0%), and oleic acid (25.7 %).

Before we evaluate the results obtained in this study for goat butter it is essential to briefly point out the major outcomes for goat milk published in a new study by Borková *et al.*, [21] which proved that the addition of *Japanochytrium* and *Chlorella* algae has a positive impact on FA profile of goat milk (results of this study are summarized in Table 2).

Unlike small caps in superscript (a, b) show statistical differences between May and June (for each group; $P < 0.05$); unlike large caps in superscript (A, B) show statistical differences between groups (in a particular month; $P < 0.05$).

Saturated fatty acids (SFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) showed a significant difference between the control (C) and both treatment groups (E1, E2) after 49 days of algae supplementation only in the case of C18:0 and vaccenic acid (*trans*-11-C18:1). Statistically significant increase in polyunsaturated fatty acids (PUFA) was recorded for all-*cis*-6,9,12-C18:3; CLA; all-*cis*-8,11,14-C20:3 and DHA in *Japanochytrium* group (E2).

Results for FA profiles of goat cream (groups C, E1, E2) together with cow cream (Cm) used for butter blends are given in Table 3.

Table 1. Fatty acid composition of *Chlorella* and *Japanochytrium* algae (as per cent of total fatty acids)

Fatty acids	<i>Chlorella</i>	<i>Japanochytrium</i>
C14:0	0.77	5.49
C16:0	16.2	50.0
<i>Cis</i> -9-C18:1	16.7	25.7
all- <i>cis</i> -9,12-C18:2	28.3	4.05
all- <i>cis</i> -6,9,12-C18:3	ND	0.36
all- <i>cis</i> -9,12,15-C18:3	33.7	0.27
all- <i>cis</i> -8,11,14-C20:3	ND	0.54
all- <i>cis</i> -5,8,11,14-C20:4	0.14	0.99
all- <i>cis</i> -5,8,11,14,17-C20:5	ND	0.18
all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-C22:6	ND	0.81
SFA - saturated fatty acids	19.2	65.5
MUFA - monounsaturated fatty acids	18.7	26.9
PUFA - polyunsaturated fatty acids	62.1	7.65

ND not detected.

Table 2. Effects of *Japanochytrium* and *Chlorella* supplementation on major fatty acids in goat milk (as per cent of total fatty acids)

Fatty acids	Group	May (t = 0 d)	June (t = 49 d)	Group G	Time T	G × T
C4:0 Butyric acid	E1	2.26 ± 0.43 ^a	2.60 ± 0.34 ^{ba}	NS	NS	**
	C	2.54 ± 0.34	2.35 ± 0.25 ^{AB}			
	E2	2.24 ± 0.37	2.23 ± 0.30 ^b			
C6:0 Caproic acid	E1	2.35 ± 0.35 ^a	2.70 ± 0.27 ^b	NS	***	NS
	C	2.44 ± 0.30	2.62 ± 0.19			
	E2	2.50 ± 0.36	2.61 ± 0.27			
C8:0 Caprylic acid	E1	2.35 ± 0.49 ^a	2.77 ± 0.41 ^b	NS	***	NS
	C	2.44 ± 0.38 ^a	2.85 ± 0.16 ^b			
	E2	2.61 ± 0.46	2.82 ± 0.31			

C10:0 Capric acid	E1	7.17 ± 1.55 ^{aA}	9.44 ± 1.38 ^b	*	***	NS
	C	7.94 ± 1.13 ^{aAB}	9.74 ± 0.59 ^b			
	E2	8.79 ± 1.25 ^B	9.89 ± 1.01			
C12:0 Lauric acid	E1	2.72 ± 0.51 ^{aA}	3.56 ± 0.50 ^b	***	***	NS
	C	3.02 ± 0.41 ^{aAB}	3.63 ± 0.32 ^b			
	E2	3.39 ± 0.47 ^B	3.85 ± 0.32			
C14:0 Myristic acid	E1	8.74 ± 0.76 ^{aA}	9.99 ± 0.44 ^b	**	***	NS
	C	9.14 ± 0.53 ^{aAB}	10.12 ± 0.52 ^b			
	E2	9.73 ± 0.93 ^B	10.28 ± 0.42			
C16:0 Palmitic acid	E1	25.52 ± 2.37 ^A	29.47 ± 1.86 ^b	NS	***	NS
	C	26.69 ± 2.41 ^A	29.47 ± 1.29 ^b			
	E2	27.59 ± 2.64 ^A	29.63 ± 1.66 ^b			
C18:0 Stearic acid	E1	11.98 ± 1.66 ^{aA}	9.31 ± 0.88 ^{bAB}	**	***	NS
	C	11.41 ± 1.82 ^{aAB}	9.80 ± 1.18 ^{bA}			
	E2	10.45 ± 1.61 ^{AB}	8.36 ± 0.97 ^{BB}			
trans-11-C18:1 Vaccenic acid	E1	1.29 ± 0.28	1.22 ± 0.13 ^A	***	*	***
	C	1.39 ± 0.29	1.31 ± 0.15 ^A			
	E2	1.47 ± 0.17 ^A	1.83 ± 0.21 ^{BB}			
cis-9-C18:1 Oleic acid	E1	23.46 ± 2.88 ^{aA}	17.59 ± 1.74 ^{bA}	***	***	NS
	C	21.25 ± 2.10 ^{aB}	17.16 ± 0.84 ^{bA}			
	E2	19.16 ± 1.71 ^{aC}	15.22 ± 1.18 ^{BB}			
all-cis-9,12-C18:2 Linoleic acid	E1	1.96 ± 0.18 ^a	1.80 ± 0.16 ^b	NS	***	NS
	C	1.93 ± 0.19 ^a	1.67 ± 0.13 ^b			
	E2	1.98 ± 0.15 ^a	1.80 ± 0.07 ^b			
all-cis-6,9,12-C18:3 γ-linolenic acid	E1	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01 ^A	**	NS	***
	C	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00 ^A			
	E2	0.04 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^{BB}			
all-cis-9,12,15-C18:3 α-linolenic acid	E1	1.08 ± 0.14	1.17 ± 0.12	NS	***	NS
	C	1.03 ± 0.12	1.10 ± 0.10			
	E2	1.08 ± 0.13 ^a	1.22 ± 0.12 ^b			
CLA Conjugated linoleic acid	E1	0.60 ± 0.14	0.62 ± 0.09 ^A	**	**	**
	C	0.65 ± 0.12	0.65 ± 0.05 ^A			
	E2	0.65 ± 0.09 ^a	0.80 ± 0.09 ^{BB}			
all-cis-8,11,14-C20:3 Eicosatrienoic acid	E1	0.01 ± 0.00 ^A	0.01 ± 0.00 ^A	***	***	***
	C	0.02 ± 0.00 ^{AB}	0.02 ± 0.00 ^A			
	E2	0.02 ± 0.00 ^{AB}	0.05 ± 0.01 ^{BB}			
all-cis-5,8,11,14-C20:4 Eicosatetraenoic acid	E1	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.01	NS	***	NS
	C	0.12 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.01 ^b			
	E2	0.13 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.01 ^b			
all-cis-5,8,11,14,17-C20:5 Eicosapentaenoic acid	E1	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	NS	NS	NS
	C	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.01			
	E2	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.01			
all-cis-4,7,10,13,16,19-C22:6 Docosahexaenoic acid	E1	0.06 ± 0.02 ^A	0.05 ± 0.01 ^A	***	*	***
	C	0.07 ± 0.02 ^{aAB}	0.05 ± 0.01 ^{bA}			
	E2	0.08 ± 0.02 ^B	0.09 ± 0.02 ^B			

A part of the data in Table 1 has already been published in [21].

E1 goats fed *Chlorella*; E2 goats fed *Japanochytrium*; C control.

Mean ± SD (N = 15)

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS not signif. difference (P > 0.05).

The contents of SFA and PUFA in creams differed from control only in *Japanochytrium* group. Similar conclusion was made for milk (see above). The addition of *Japanochytrium* increased the PUFA (to the final 5.35% in E2 versus 4.98% in C) and decreased SFA (to the final 73.3% in E2 versus 73.8% in C).

For goat cream, large differences were found between FA profiles of goat fat and cow fat. In general, goat cream has a higher amount of SFA (73.7% in E1; 73.8% in C; 73.3% in E2) compared with the cow cream (67.6%). This difference can be due to the higher amounts of beneficial FA in goat fat as C6:0, C8:0 and C10:0 (14.9% in E1; 15.2% in C; 15.1% in E2) compared to their content in cow cream (6.46%). Goat cream showed lesser amount of MUFA (21.4% in E1; 21.2% in C; 21.4% in E2 and 28.0% in Cm), which may be caused mainly by *cis*-9-C18:1 (16.8% in E1; 16.5% in C; 15.5% in E2 and 19.7% in Cm). The highest content of

PUFA in goat cream was recorded for E2 group (5.35%). On the other hand, PUFA in Cm was 4.39%. Also, higher amounts of omega-3 FA were found in goat fat (1.42% in E1; 1.39% in C; 1.43% in E2) compared with Cm (0.51%). There was a higher amount of omega-6 FA in cow fat (2.49%) as in goat fat (2.01% in E1; 1.96% in C; 2.03% in E2). Omega-6/omega-3 ratio is important for nutritional reasons which have been shown to be different in goat and cow fat (1.41 in E1; 1.41 in C; 1.42 in E2 and 4.89 for Cm). It is widely accepted that in human nutrition the omega-6/omega-3 ratio should be at most 5 : 1 [22]. Our results clearly show that goat cream has a much more favorable omega-6/omega-3 ratio. This was also the reason why we have decided to make butter blends and to follow the changes of this ratio (see below).

FA profiles of goat butter E1, C, E2 and butter blends 50 : 50 (goat : cow, fat w/w) and 25 : 75 respectively are shown in Table 4.

Table 3. Fatty acid profiles of goat cream with comparison to cow cream (day 56; as per cent of total fatty acids)

Parameters	Goat group			Cow
	E1	C	E2	Cm
Fatty acids	%			
C4:0	2.52	2.43	2.23	3.13
C6:0	2.69	2.70	2.61	2.19
C8:0	2.78	2.82	2.79	1.30
C10:0	9.48	9.66	9.74	2.97
C12:0	3.49	3.54	3.64	3.39
C14:0	9.93	10.1	10.1	10.9
C16:0	30.0	29.9	29.6	31.0
C18:0	9.57	9.46	9.26	9.05
<i>trans</i>-11-C18:1	1.34	1.57	1.88	1.20
<i>cis</i>-9-C18:1	16.8	16.5	15.5	19.7
<i>all-cis</i>-9,12-C18:2	1.81	1.77	1.80	2.13
<i>all-cis</i>-6,9,12-C18:3	0.04	0.04	0.05	0.05
<i>all-cis</i>-9,12,15-C18:3	1.23	1.22	1.21	0.43
CLA¹	0.61	0.74	0.77	0.39
<i>all-cis</i>-8,11,14-C20:3	0.02	0.02	0.05	0.11
<i>all-cis</i>-5,8,11,14-C20:4	0.11	0.10	0.10	0.17
<i>all-cis</i>-5,8,11,14,17-C20:5	0.10	0.09	0.10	0.06
<i>all-cis</i>-4,7,10,13,16,19-C22:6	0.04	0.04	0.08	0.00
Fatty acid groups	%			
SFA; saturated fatty acids	73.7	73.8	73.3	67.6
MUFA; monounsaturated fatty acids	21.4	21.2	21.4	28.0
PUFA²; polyunsaturated fatty acids	4.92	4.98	5.35	4.39
Total for C6:0, C8:0, C10:0	14.9	15.2	15.1	6.46
HFA³; hypercholesterolemic fatty acids	43.5	43.5	43.4	45.2
omega-6 fatty acids	2.01	1.96	2.03	2.49
omega-3 fatty acids	1.42	1.39	1.43	0.51
	ratio			
omega-6 fatty acids/omega-3 fatty acids	1.41	1.41	1.42	4.89

E1 goats fed *Chlorella*; E2 goats fed *Japanochytrium*; C control; Cm cow cream.

¹ Conjugated linoleic acid.

² Comprises *cis* and *trans* isomers of C18:2.

³ Total for C12:0, C14:0 and C16:0.

Table 4. Fatty acid profile of goat butter and butter blends (day 56; as per cent of total fatty acids)

Parameters	Pure goat butter			Butter blends	
	E1	C	E2	25:75 ^a	50:50 ^b
Fatty acids	%				
C4:0	2.50	2.32	2.12	3.08	2.91
C6:0	2.75	2.67	2.61	2.26	2.47
C8:0	2.87	2.83	2.79	1.52	2.05
C10:0	9.75	9.71	9.76	3.98	6.35
C12:0	3.57	3.55	3.67	3.54	3.58
C14:0	10.0	10.1	10.3	11.1	10.7
C16:0	29.5	29.9	29.9	31.7	30.9
C18:0	9.66	9.48	9.01	8.61	8.75
trans-11-C18:1	1.39	1.58	1.83	1.29	1.48
cis-9-C18:1	16.7	16.6	15.6	18.2	17.0
all-cis-9,12-C18:2	1.80	1.77	1.79	2.02	1.92
all-cis-6,9,12-C18:3	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05
all-cis-9,12,15-C18:3	1.24	1.23	1.20	0.53	0.81
CLA¹	0.60	0.73	0.77	0.43	0.57
all-cis-8,11,14-C20:3	0.02	0.02	0.05	0.10	0.08
all-cis-5,8,11,14-C20:4	0.11	0.10	0.10	0.16	0.14
all-cis-5,8,11,14,17-C20:5	0.11	0.10	0.10	0.06	0.08
all-cis-4,7,10,13,16,19-C22:6	0.04	0.04	0.08	0.01	0.04
Fatty acid groups	%				
SFA ; saturated fatty acids	73.8	73.7	73.4	69.5	71.2
MUFA ² ; monounsaturated fatty acids	21.3	21.3	21.3	26.1	24.0
PUFA ² ; polyunsaturated fatty acids	4.94	4.99	5.33	4.43	4.81
Total for C6:0, C8:0, C10:0	15.4	15.2	15.2	7.8	10.9
HFA ³ ; hypercholesterolemic fatty acids	43.1	43.5	43.9	46.4	45.2
omega-6 fatty acids	2.00	1.96	2.02	2.36	2.22
omega-3 fatty acids	1.43	1.41	1.43	0.63	0.96
	ratio				
omega-6 fatty acids/omega-3 fatty acids	1.40	1.39	1.42	3.76	2.30

^aButter blend made of 25:75 (E2 goat fat:cow fat, w/w)

^bButter blend made of 50:50 (E2 goat fat:cow fat, w/w)

Superscript notes are the same as shown in Table 3.

Similarly to goat cream, our results for butter revealed differences only in SFA and PUFA contents in E2 and C. *Japanochytrium* addition decreased SFA and increased PUFA (to the final 5.33% in E2 and 4.99% in C). The decrease in SFA content may be caused by a lowered amount of C18:0 in this group (9.01% in E2 versus 9.48% in C). Algae PUFAs may have caused the decrease in C18:0 which inhibited the reduction of vaccenic acid (*trans*-11 C18:1) in the rumen; eventually leading to the C18:0 decrease and a simultaneous increase in PUFA. A similar tendency has already been mentioned by Tsiplakou and Zervas [23] in goat plasma and milk when C18:0 content decreased and PUFA increased in goats administered fish and soy oil.

E2 goat butter revealed an increase in *trans*-11-C18:1 (1.83%) compared to the control group (1.58%). The increase of *trans*-11-C18:1 by 16% has probably been caused by either PUFA hydrogenation or by microbial isomerization of *cis*-9-C18:1 in rumen [24]. In this respect, *Japanochytrium* is a better source of *cis*-9-C18:1 than *Chlorella*.

From the PUFA class we observed an increase in the content of CLA (by 5%); all-*cis*-8,11,14-C20:3 (by 140%) and DHA (by 80%). The increase of CLA may have been caused by two different biosynthetic pathways. The first of them proceeds by the partial biohydrogenation of PUFA in rumen whereas the second by vaccenic acid

desaturation by delta-9 desaturase in the udder [25 - 26]. An increase in all-*cis*-8,11,14-C20:3 and DHA in E2 goat butter is in line with their increase in *Jananochytrium* alga. In case of those FA only trace amounts were observed during the experiment therefore it is necessary to increase the amount of algae added to the feed.

The addition of cow cream into butter made from E2 goat cream decreased both SFA (by 5% in 25 : 75 butter blend and by 3% in 50 : 50 butter blend, respectively) and PUFA (by 17% in 25 : 75 butter blend and by 10% in 50 : 50 butter blend, respectively). The decrease of SFA content may generally be regarded as beneficial for humans. The replacement of some of the goat cream by cow cream in butter blends leads to the decreased content of C6:0, C8:0, C10:0 FA (by 49% in 25 : 75 butter blend and by 28% in 50 : 50 butter blend, respectively) compared to the pure goat butter E2. The ratio of hypercholesterolemic FA as C12:0, C14:0 and C16:0 did also increase by 6% in 25 : 75 butter blend and by 3% in 50 : 50 butter blend, respectively. The decrease in PUFA was caused by decreased amount of CLA (by 44% in 25 : 75 butter blend and by 26% in 50 : 50 butter blend, respectively) and by α -linolenic acid (by 56% in 25 : 75 butter blend and by 33% in 50 : 50 butter blend, respectively). On the other hand, MUFA increased significantly in both butter blends (by 23% in 25 : 75 butter blend, and by 13% in 50 : 50 butter blend, respectively). This tendency was caused by augmented level of oleic acid (by 17 % in 25 : 75 butter blend, and by 9 % in 50 : 50 butter blend). Increased ratio of goat fat in the butter led to an increase in omega-3 FA (1.43% in E2; 0.96% in 50:50; 0.63% in 25 : 75) and thus positively affected the omega-6/omega-3 ratio (1.42 in E2; 2.30 in 50 : 50; 3.76 in 25 : 75). This fact is the ultimate evidence why pure goat butter and its butter blends (compared with the pure cow butter) are nutritionally very beneficial for humans and their increased consumption can be recommended.

4. Conclusions

- The addition of *Jananochytrium* algae into goat feed of Czech White Shorthaired breed changed the fatty acid profile of the milk and butter.

- On the other hand, the addition of *Chlorella vulgaris* algae didn't show a significant change in PUFA content in goat milk and butter.

- It has been proven that the addition of algae into goat feed is a suitable way for manufacturing and development of new products with increased content of nutritionally beneficial fatty acids as CLA, all-*cis*-8,11,14-C20:3 and DHA.

- Nevertheless the choice of the right type of algae and optimal inclusion quantity into the feed is immensely important to guarantee any success. Our study proved a high potential of *Jananochytrium* algae.

- A very interesting alternative to pure cow butter are blends thereof with goat butter. Such blends can increase the consumption of nutritionally essential fatty acids as C6:0, C8:0, C10:0 and α -linolenic acid.

Acknowledgement

This work was supported by the grant No. QJ1310107 and QJ1510336 MZe awarded by National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

5. References

- [1] Haenlein G. F. W. (2007). *About the evolution of goat and sheep milk production*. Small Ruminant Research, 68, pp. 3-6.
- [2] Jandal J. M. (1996). *Comparative aspects of goat and sheep milk*. Small Ruminant Research, 22, pp. 177-185.
- [3] Haenlein G. F. W. (2004). *Goat milk in human nutrition*. Small Ruminant Research, 51, pp. 155-163.
- [4] Pandya A. J., Ghodke K. M. (2007). *Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt*. Small Ruminant Research, 68, pp. 193-206.
- [5] Ribeiro A. C., Ribeiro S. D. A. (2010). *Specialty products made from goat milk*. Small Ruminant Research 89, pp. 225-233.
- [6] Rodríguez A., Bunger A., Castro E., Sousa I., Empis J. (2003). *Development and Optimization of Cultured Goat Cream Butter*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 80, pp. 987-992.
- [7] Park Y. W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G. F. W. (2007). *Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk*. Journal of AOAC International, 68, pp. 88-113.
- [8] Sanz Sampelayo M. R., Chilliard Y., Schmidely P., Boza J. (2007). *Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk*. Small Ruminant Research, 68, pp. 42-63.
- [9] Senel E., Atamer M., Oztekin S. F. (2011). *The oxidative and lipolytic stability of Yayik butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt*. Food Chemistry, 127, pp. 333-339.
- [10] Cattaneo D., Dell'Orto V., Varisco G., Agazzi A., Savoini G. (2006). *Enrichment in n-3 fatty acids of goat's colostrum and milk by maternal fish oil supplementation*. Small Ruminant Research, 64, pp. 22-29.
- [11] Miri V. H., Tyagi A. K., Ebrahimi S. H., Mohini M. (2013). *Effect of cumin (Cuminum cyminum) seed extract on milk fatty acid profile and methane emission in lactating goat*. Small Ruminant Research, 113, pp. 66-72.

- [12] Otleř S., Pire R. (2001). *Fatty acid composition of Chlorella and Spirulina microalgae species*. Journal of AOAC International, 84, pp. 1708-1714.
- [13] Kiriac M. (2008). *Effects of Bio-Algae Concentrates Added to the Diet of Dairy Cows*. Research protocol, guidance and invention, N. D. North American Research, USA.
- [14] Vahmani P. (2013). *Effect of Supplementation with Fish Oil or Microalgae on Milk Fatty Acid Composition and Lipogenic Gene Expression in Cows Managed in Confinement or Pasture Systems*. Dalhousie University Halifax, Nova Scotia, Canada.
- [15] Petkov G., Garcia G. (2007). *Which are fatty acids of the green alga Chlorella?* Biochemical Systematics and Ecology, 35, pp. 281-285.
- [16] Burja A. M., Radianingtyas H., Windust A., Barrow C. J. (2006). *Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing Thraustochytrium species: screening of strains and optimization of omega-3 production*. Applied Microbiology and Biotechnology, 72, pp. 1161-1169.
- [17] Jasuja N. D., Jain S., Joshi S. C. (2010). *Microbial production of docosahexaenoic acid (Ω 3-PUFA) and their role in human health*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 3, pp. 83-87.
- [18] International Standard EN ISO 1211 (570534). (2011). *Milk – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)*, Prague, Czech Republic.
- [19] Simionato J. I., Garcia J. C., dos Santos G. T., Oliveira C. C., Visentainer J. V., de Souza N. E. (2010). *Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 21, pp. 520-524.
- [20] Okrouhlá M., Stupka R., Čítek J., Šprysl M., Brzobohatý L. (2013). *Effect of dietary linseed supplementation on the performance, meat quality, and fatty acid profile of pigs*. Czech Journal of Animal Science, 58, pp. 279-288.
- [21] Borková M., Michnová K., Šulc M., Hyršlová I., Fantová M., Elich O. (2015). *Fatty acid profile of milk, yoghurt and fresh cheese of goats fed algae*. Mlékařské listy 152, pp. XXVI-XXX.
- [22] WHO/FAO (2003) *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. World Health Organization, Geneva, Switzerland. p. 89.
- [23] Tsiplakou E., Zervas G. (2013). *The effect of fish and soybean oil inclusion in goat diet on their milk and plasma fatty acid profile*. Livestock Science, 155, pp 236-243.
- [24] Loor J. J., Herbein J. H. (2003). *Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows*. Animal Feed Science and Technology, 103, pp. 63-83.
- [25] Chilliard Y., Ferlay A., Rouel J., Lamberet G. (2003). *A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis*. Journal of Dairy Science, 86, pp. 1751-1770.
- [26] Bouattour M. A., Casals R., Albanell E., Such X., Caja G. (2008). *Feeding soybean oil to dairy goats increases conjugated linoleic acid in milk*. Journal of Dairy Science, 91, pp. 2399-2407.

The influence of feed supplementation with linseed oil and linseed extrudate on fatty acid profile in goat yoghurt drinks

doi: 10.15567/mljekarstvo.2018.0104

Markéta Borková^{1*}, Miloslav Šulc², Klára Novotná³, Jana Smolová¹,
Ivana Hyršlová¹, Milena Fantová³, Ondřej Elich¹

¹Dairy Research Institute, Ke Dvoru 12a, 160 00 Prague, Czech Republic

²Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Chemistry, Kamýcká 129, 16500 Prague, Czech Republic

³Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Animal Husbandry, Kamýcká 129 16500, Prague, Czech Republic

Received - Prispjelo: 02.06.2017.

Accepted - Prihvačeno: 17.12.2017.

Abstract

Feed composition is one of the most influential factors affecting fatty acid profile of milk products. The aim of this study was to investigate the influence of linseed oil and linseed extrudate supplementation on fatty acid composition of goat prebiotic and probiotic yogurt drinks. Thirty six White Shorthaired dairy goats at the beginning of their third lactation period were divided into two experimental and one control group, each comprising twelve animals. Goats in the experimental groups were given either 55 mL/day of linseed oil or 120 g/day of linseed extrudate over a three week period. The results suggest that feed supplementation with linseed oil and linseed extrudate caused considerable changes in fatty acid profile of goat yoghurt drinks. The most important nutritional change which was observed was increased n-3 fatty acid content ($P < 0.001$) and decreased saturated fatty acid content ($P < 0.001$). α -linolenic acid was significantly elevated ($P < 0.001$) in both groups (in particular in goats which feed was supplemented with linseed oil).

Key words: fatty acid, goat milk, α -linolenic acid, linseed oil, linseed extrudate

Introduction

In recent years there is a growing interest in dairy foods which are able to provide positive health benefits. Such specific dairy commodities may include probiotic products made from goat milk high in n-3 fatty acids (FA) and prebiotics. Probiotic bacteria demonstrated to benefit human health and are valued for their antimicrobial, antioxidant and immunomodulatory effects (Lee et al., 2011). On the other hand, prebiotics (such as oligosaccharides) are classified as more or less indigestible food constituents which could particularly impact the growth and activity of probiotic microorganisms in the gastrointestinal tract (Valcheva and Dieleman, 2016). Only five particular FA (C10:0, C14:0, C16:0,

C18:0 and C18:1) account for more than 75 % FA present in goat milk (Park et al., 2007). Alteration of these FA could vastly benefit the consumer by increasing n-3 FA and decreasing specific medium-chain saturated fatty acids (SFA) found in goat milk. Such modifications could be achieved by using appropriate animal feed supplementation on the farm.

FA appearing in milk triacylglycerols originate from two distinct sources. The first one is the *de novo* synthesis which takes place in secretory cells of the mammary gland and produces all C4:0 to C12:0, 95 % of C14:0 and about 50 % C16:0. The circulating lipoproteins in blood plasma and the animal's fat reserves (which have their primary origin in the animal diet) are considered to be the second source

*Corresponding author/Dopisni autor: E-mail: borkovam@gmail.com

of FA which supplies all C18:0 and higher FA found in milk (Shingfield et al., 2013).

Linseed (*Linum usitatissimum* L.), being also known as flax, is an excellent source of nutritionally valuable lipids (40-50 % by weight) and n-3 FA (like the essential α -linolenic acid) which makes it a good feed supplement to achieve modifications of milk fat composition. For example, if humans take α -linolenic acid (ALA) then it undergoes elongation and desaturation in the body to produce docosahexaenoic (DHA) and eicosapentaenoic (EPA) acids which have been shown to reduce blood pressure, blood triglycerides, inflammation and the incidence of cardiovascular diseases (Cloutier, 2016).

The purpose of this study was to investigate the quantities of ALA and other n-3 FA found in goat yoghurt drinks made after the goat feed had been supplemented with linseed oil or linseed extrudate.

Materials and methods

Animals and animal diet

The experiment was carried out on a private organic farm near Liberec (Czech Republic). From 150 White Shorthaired dairy goats, thirty six (before their third lactation) were selected based on age (3 years), date of kidding (during March 2016) and

litter size (2 kids) and randomly divided into three groups, two experimental (LO, LE) and one control (C), each comprising twelve animals. The goats were housed indoors and their feed consisted of: hay (*ad libitum*), grass (1.5 kg/animal/day), haylage (1.5 kg/animal/day) and grain mix of 50 % corn, 25 % barley and 25 % oat (300 g/animal/day).

During the three-week experiment (June 7 through June 29, 2016) goats in the LO group were fed basic ration supplemented with 55 mL of linseed oil (LO) per animal/day whereas LE group was supplemented with 120 g of linseed extrudate (LE) containing 42.3 % fat per animal/day. LO and LE were supplied by 1. zemědělská a.s. (Chorůvice, Czech Republic). The C group was fed the same diet without LO/LE supplements. The individual milk samples to make yoghurt drinks were taken the last day of the experiment during the morning milking.

Chemical analysis of animal diet

The animal diet was analysed according to methods published in the Official Journal of the European Union in the Commission Regulation 152/2009 for the total dry matter (DM), ash, crude protein (CP), ether extract (EE) and crude fiber (CF). The FA analysis including lipid extraction was carried out as described by Kubelková et al. (2013). Results are presented in Table 1.

Table 1. Composition of basic diet, linseed oil and linseed extrudate

	Hay	Grass	Haylage	Grain mix	Linseed oil	Linseed extrudate
DM ¹ (g/100 g FW ²)	88.1	23.7	33.3	88.6	-	-
Crude protein ³ (g/100 g DM)	7.16	19.2	14.5	9.19	-	-
Ether extract ⁴ (g/100 g DM)	0.67	1.63	1.36	1.51	-	-
Crude fibre (g/100 g DM)	39.8	26.9	26.4	6.06	-	-
Ash (g/100 g DM)	5.13	9.40	7.80	14.1	-	-
FA composition (g/100 g FA):						
SFA ⁵	30.1	25.3	31.6	27.7	9.89	10.4
MUFA ⁶	42.5	16.1	29.5	19.4	16.5	16.6
PUFA ⁷	27.3	58.6	38.9	52.9	73.6	73.0
n-6 FA	16.3	15.9	22.1	45.6	16.7	19.2
n-3 FA	10.9	42.1	16.6	7.01	56.9	53.7
ALA ⁸	10.0	41.3	15.9	6.09	56.9	53.7

¹DM - dry matter; ²FW - fresh weight; ³nitrogen content - $N \times 6.25$; ⁴crude fat; ⁵saturated fatty acid; ⁶monounsaturated fatty acid; ⁷polyunsaturated fatty acid; ⁸ α -linolenic acid

Yoghurt drinks

Thirty six individual milk samples were taken to the laboratory and used to produce 36 yoghurt drinks. The milk was analysed for fat, protein, lactose and total solids (Table 2) by an IR milk analyzer DairySpec FT (Bentley Instruments, Inc.). Four grams of chicory based inulin prebiotics (Orafti P95, Beneo-Orafti) were added into 196 g of goat milk, pasteurized at 84 °C for 10 min and fermented using CCDM 528 (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, Laktoflora®) and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12, Chr. Hansen) at 30 °C for 16-18 h. Inulin and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* were added into the goat yoghurt drink to improve nutritional and sensory qualities.

Fatty acid analysis

The fat in the yoghurt drinks was extracted according to ČSN EN ISO 1211. FA were then re-esterified into the corresponding methyl esters (FAME) according to a modified method by Simionato et al. (2010). Approximately 40 mg of

milk fat was weighed into a thick walled tube and 0.5 mL methanol and 0.5 mL sodium methanolate (0.5 M) were added. The solution was shaken vigorously for 1 min and heated for 2 min at 80 °C. Next, 1.5 mL of hexane and 10 mL of saturated sodium chloride solution were added and the tubes shaken again for 1 min. The FAME were analyzed by gas chromatography (GC parameters shown in Table 3). Thirty seven FAME were identified using external analytical standards (Supelco, USA). The content of a particular FA was calculated as a ratio of its peak area/sum of all FA peak areas and given in g/100 g total FA.

Statistical analysis

The data were analysed in Statistica (ver. 12, StatSoft, Inc). Milk yield, milk composition and the FA were tested by one-way ANOVA (LO or LE being categorical variables). Tukey's *post-hoc* HSD test ($P < 0.05$) was used to evaluate differences between groups. Results are expressed as mean value with the standard error of mean (SEM).

Table 2. Milk yield and milk composition

	C ¹	LE ²	LO ³	SEM ⁴	P value
Milk yield (kg/day)	1.55	1.79	1.78	0.06	NS
Milk fat (g/100 g)	3.16	3.06	3.40	0.08	NS
Milk protein (g/100 g)	2.96	2.94	2.96	0.02	NS
Total solids (g/100 g)	11.3	11.4	11.8	0.11	NS

NS not found to be significantly different ($P > 0.05$).

¹control group (N = 12); ²goats fed linseed extrudate (N = 12); ³goats fed linseed oil (N = 12); ⁴standard error of mean

Table 3. GC parameters

Parameter	Value
GC	Agilent 7890A
Detector	FID
Column	SP-2560; 100 m × 0.25 mm × 0.2 μm; Supelco
Column temperature gradient	140 °C for 5 °C 4 °C. min ⁻¹ up to 245 °C 20° min hold at 245 °C
Injection temperature	280 °C
Detector temperature	280 °C
Helium flow	1.2 mL.min ⁻¹
Injection	1 μL; split ratio 1:100

Results and discussion

For a long time, it has been known that linseed is a very good source of n-3 FA and ALA. In our experiment we wanted to prove the hypothesis that feeding linseed derived supplements (in two different forms) to goats on a farm will eventually lead to alterations in FA profile of the milk thus adding health benefits to the resulting dairy products. Regular feed (grass, hay, haylage and grain mix) given to goats contained only very small amounts of fat (0.7-1.6 %) of which 6-41.3 % were ALA (similar percentage was found for n-3 FA as well) making the intake of n-3 FA or ALA from the regular feed small. Our analyses of FA in LO and LE (Table 1)

have shown that both, when used as supplements, are important sources of n-3 FA. LO and LE contained 56.9 % and 53.7 % ALA in fat, respectively.

Table 2 shows the impact of linseed products on average milk yield and composition. No other significant differences were found in milk yield and composition regarding the fat content, protein, and total solids among the three groups. On the other hand, feed supplementation with linseed products significantly impacted the FA profile of yogurt drinks (Table 4) made from milk from the two experimental (LO and LE) groups. These results are discussed in greater detail below.

Table 4. Fatty acid composition of goat yoghurt drinks (g/100 g total FA)

FA	C ¹	LO ²	LE ³	SEM ⁴	P value
C4:0	2.33	2.40	2.44	0.031	NS
C6:0	2.58 ^a	2.61 ^a	2.40 ^b	0.030	P<0.01
C8:0	2.77 ^a	2.82 ^a	2.39 ^b	0.053	P<0.001
C10:0	9.11 ^a	9.25 ^a	7.32 ^b	0.205	P<0.001
C12:0	3.75 ^a	3.60 ^a	2.78 ^b	0.096	P<0.001
C14:0	10.2 ^a	9.08 ^b	8.39 ^c	0.158	P<0.001
C16:0	27.5 ^a	24.5 ^b	24.1 ^b	0.349	P<0.001
C18:0	8.71 ^b	8.79 ^b	11.6 ^a	0.298	P<0.001
<i>t</i> -C18:1 ⁵	1.69 ^c	4.83 ^a	4.18 ^b	0.247	P<0.001
<i>c</i> 9-C18:1	20.0 ^a	16.0 ^b	20.5 ^a	0.411	P<0.001
<i>t</i> -C18:2 ⁶	0.74 ^c	2.52 ^a	1.76 ^b	0.130	P<0.001
<i>c</i> 9, <i>c</i> 12-C18:2	2.78 ^b	3.20 ^a	2.87 ^b	0.052	P<0.01
<i>c</i> 6, <i>c</i> 9, <i>c</i> 12-C18:3	0.028	0.027	0.025	0.001	NS
<i>c</i> 9, <i>c</i> 12, <i>c</i> 15-C18:3 (ALA)	1.08 ^c	2.56 ^a	1.92 ^b	0.116	P<0.001
CLA ⁷	0.50 ^c	0.83 ^a	0.67 ^b	0.027	P<0.001
<i>c</i> 11, <i>c</i> 14-C20:2	0.039 ^c	0.072 ^a	0.054 ^b	0.002	P<0.001
<i>c</i> 8, <i>c</i> 11, <i>c</i> 14-C20:3	0.022 ^a	0.015 ^b	0.015 ^b	0.001	P<0.001
<i>c</i> 11, <i>c</i> 14, <i>c</i> 17-C20:3	0.027 ^a	0.016 ^b	0.022 ^a	0.001	P<0.01
<i>c</i> 5, <i>c</i> 8, <i>c</i> 11, <i>c</i> 14-C20:4	0.14 ^a	0.11 ^b	0.11 ^b	0.004	P<0.001
<i>c</i> 13, <i>c</i> 16-C22:2	0.007 ^c	0.010 ^a	0.008 ^b	0.000	P<0.001
<i>c</i> 5, <i>c</i> 8, <i>c</i> 11, <i>c</i> 14, <i>c</i> 17-C20:5	0.088	0.096	0.099	0.002	NS
<i>c</i> 4, <i>c</i> 7, <i>c</i> 10, <i>c</i> 13, <i>c</i> 16, <i>c</i> 19-C22:6	0.075 ^a	0.054 ^b	0.059 ^b	0.002	P<0.01
<i>c</i> 9-C18:1/C18:0 ⁸	2.31 ^a	1.84 ^b	1.78 ^b	0.051	P<0.001
SFA ⁹	70.0 ^a	65.8 ^b	64.1 ^b	0.531	P<0.001
MUFA ¹⁰	24.5 ^b	24.7 ^b	28.3 ^a	0.390	P<0.001
PUFA ¹¹	5.52 ^c	9.50 ^a	7.61 ^b	0.299	P<0.001
n-6 FA	3.02 ^b	3.43 ^a	3.08 ^b	0.053	P<0.01
n-3 FA	1.27 ^c	2.72 ^a	2.10 ^b	0.115	P<0.001

Different small caps in superscript indicate differences between groups (P<0.05), NS not found to be significantly different (P>0.05)

¹control group (N = 12); ²goats fed linseed extrudate (N = 12); ³goats fed linseed oil (N = 12); ⁴standard error of mean;

⁵*trans* isomers C18:1 (including e.g. vaccenic acid; *t*11-C18:1); ⁶*trans* isomers C18:2 (including e.g. *t*11,*c*15-C18:2);

⁷conjugated linoleic acid (mixture of isomers *c*9*t*11-C18:2 and *t*9*c*11-C18:2); ⁸desaturase index; ⁹saturated fatty acid;

¹⁰monounsaturated fatty acid; ¹¹polyunsaturated fatty acid

Saturated fatty acids

In our experiment, feed supplementation with LO and LE significantly decreased SFA in yogurt drinks (both $P < 0.001$). In accordance to the data published for goat milk in the scientific literature (Bernard et al., 2009; Martínez Marín et al., 2011; Nudda et al., 2006 and 2013), our results showed a decrease in medium-chain SFA (C14:0 and C16:0, $P < 0.001$) in yogurt drinks made from LO and LE groups. In addition, LE supplementation was able to reduce short-chain SFA in drinks (in particular C6:0, $P < 0.05$; C8:0, $P < 0.01$; C10:0, $P < 0.001$). Martínez Marín et al. (2011) and Nudda et al. (2006) reported that short-chain FA (C6:0 to C10:0) remained unchanged after the addition of LO or LE into the feed whereas Bernard et al. (2009) and Nudda et al. (2013) observed a decline. The reduction of short- and medium-chain SFA may have been caused by two factors. The first one was the shortage of acetate and 3-hydroxybutyrate substrates in blood plasma used for the *de novo* synthesis in mammary gland which can be the consequence of alterations in rumen microflora caused by the high-fat diet. The other factor for the reduction of short- and medium-chain SFA might have been the increased intake of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFA) which affected crucial enzymes in the *de novo* pathway such as acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase (Martínez Marín et al., 2011).

The results from our experiment revealed an increased content of C18:0 in LE drinks ($P < 0.001$). Both, LE as well as LO, are rich in PUFA (predominantly in ALA) which are extensively metabolized and hydrogenated in rumen to form C18:0 FA. Thus, this particular transformation pathway might have led to the increased C18:0 content found in LE drinks. Similar results were found in milk after feeding LE to goats (Bernard et al., 2015; Renna et al., 2013; Nudda et al., 2006; Nudda et al., 2013). Interestingly, no increase in C18:0 was found in LO drinks. This corresponds to the results published by Martínez Marín et al. (2012) who supplemented the feed with 48 or 66 g of LO for 15 days and found no increase in C18:0. On the contrary, when only half of the LO was fed, the same authors registered an increase in C18:0. Accordingly, it is evident that the amount of PUFA and the form in which PUFA are added to the feed does influence the biohydro-

genation in rumen. It is likely that the unprotected PUFA (from LO) have caused major alternations in rumen microflora and thus the PUFA hydrogenation was inhibited. This can be shown by the differences in C18:0 concentrations between LO and LE drinks.

Monounsaturated fatty acids

The addition of LO significantly reduced *c9*-C18:1 content ($P < 0.001$) in drinks. More than 50 % of *c9*-C18:1, which is secreted into the milk, is synthesized in the mammary gland from C18:0 by stearoyl-CoA desaturase (Renna et al., 2013). LO is an important source of ALA which can lead to the formation of C18:0 but also can be utilized to form large amounts of PUFA and MUFA isomers like *t11*-C18:1 (vaccenic acid), *t11,c15*-C18:2 and *c9,t11,c15*-C18:3. It was found that certain hydrogenation intermediates could act as regulators or disruptors of mammary lipogenesis altering the amounts of milk fat and its composition (Chilliard et al., 2007). It is likely that some of these intermediates may also inhibit stearoyl-CoA desaturase.

Our results indicate that LO drinks had a lower desaturation index *c9*-C18:1/C18:0 of 1.84 % compared to the control sample (2.31 % in C; $P < 0.001$). The same phenomenon was also observed for LE drinks (1.78 %; $P < 0.001$) in which *c9*-C18:1 content did not decrease. As mentioned before, LE drinks had significantly higher levels of C18:0 and the decrease in *c9*-C18:1 did not occur probably due to greater C18:0 availability in the mammary gland for the *c9*-C18:1 synthesis.

LO and LE supplementation increased the content of *trans*-C18:1 isomers in drinks ($P < 0.001$; in both). These results were in accordance with findings of Martínez Marín et al. (2011), Bernard et al. (2009; 2015) and Nudda et al. (2013) who also observed a similar increase after LO and LE supplementation. The increase of *trans*-C18:1 isomers in yogurt samples was probably caused by the elevated ALA hydrogenation. However, it is necessary to underscore that *trans*-FA in food products could have negative impact on consumer health even though this has not been the case of all *trans*-FA (Anadón et al., 2010; Jacome-Sosa et al., 2014; Ganguly and Pierce, 2015). This also applies to vaccenic acid which is the main hydrogenation intermediate of ALA present in milk. The increase in *trans*-C18:1

isomers caused a statistically significant increase of MUFA in LE drinks ($P < 0.001$). In the case of LO drinks, despite the increase in *trans*-C18:1 isomers due to the decrease of *c*9-C18:1 (as it has been described above), the increase in MUFA was not observed.

Polyunsaturated fatty acids

Higher contents of PUFA and n-3 FA were found in LO and LE drinks ($P < 0.001$ in all cases). Supplementation with LO and LE did indeed significantly increase ALA in both types of drinks ($P < 0.001$ in both) because due to the LO/LE supplementation the feed contained already high amounts of ALA. Thus, in our experiment, LO drinks contained statistically higher amounts of ALA ($P < 0.001$) than LE drinks. These results are consistent with the findings published by Chilliard et al. (2003) who reported that daily addition of 3.4 % LO to the feed significantly increases ALA in goat milk (even more than the same amount of ALA in the form of LE did when it was tested). Chilliard et al. (2003) found that the biohydrogenation in rumen was less efficient in case of LO than when using oilseeds. This assumption also explains higher contents of *trans*-C18:2 ($P < 0.001$), conjugated linoleic (CLA; $P < 0.001$) and linoleic acid (LA; $P < 0.01$) in LO drinks compared to LE drinks. Higher contents of *trans*-C18:2 ($P < 0.001$) and CLA ($P < 0.001$) were also found in LE drinks. However, these amounts of *trans*-C18:2 and CLA were lower than those in LO drinks. In addition, supplementation with LO and LE also altered the quantities of other n-3 and n-6 FA but since each of those FA accounted for less than 0.2 % we refrain from commenting on those results because they have no nutritional significance for consumer's health.

Conclusions

Supplementing goat feed with LO and LE improved FA profile of dairy products by decreasing the content of medium-chain SFA and by increasing the n-3 FA as well. An important increase in ALA and n-3 FA was recorded in yoghurt drinks made from milk of goats fed LO rather than LE. It is evident that the particular source of PUFA influences significantly milk FA composition since LO had a

better performance compared with LE containing the same amount of ALA. Nevertheless both feed supplements led to production of probiotic yoghurt drinks containing higher levels of n-3 FA and, thus, could be considered to benefit human health.

Acknowledgements

This research had been supported by The Czech Ministry of Agriculture RO1417 and the National Agency for Agricultural Research (NAZV) No. QJ1310107.

Utjecaj obogaćivanja stočne hrane lanenim uljem i ekstrudatom sjemena lana na profil masnih kiselina u kozjem jogurtu

Sažetak

Sastav krme jedan je od najznačajnijih čimbenika koji utječu na profil masnih kiselina mliječnih proizvoda. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti utjecaj dodatka ulja lanenog sjemena ili ekstrudata lanenog sjemena na sastav masnih kiselina prebiotičkog i probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka. Trideset i šest mliječnih koza pasmine White Shorthaired na početku trećeg razdoblja laktacije podijeljene su u dvije eksperimentalne i jednu kontrolnu skupinu, od kojih svaka uključuje dvanaest životinja. Kozama u eksperimentalnim skupinama davano je 55 mL/dan ulja lanenog sjemena ili 120 g/dan ekstrudata lanenog sjemena tijekom tri tjedna. Dodatak ulja lanenog sjemena i ekstrudata lanenog sjemena izazvao je znatne promjene u profilu masnih kiselina kozjeg jogurta. Najznačajnija promjena u hranjivim svojstvima bila je povećana količina masnih kiselina n-3 ($P < 0,001$) i smanjen udjel zasićenih masnih kiselina ($P < 0,001$). Udjel α -linolenske kiseline bio je značajno povišen ($P < 0,001$) u obje skupine (posebno kod koza koje su hranjene dodatkom lanenog ulja).

Ključne riječi: masna kiselina, kozje mlijeko, α -linolenska kiselina, ulje lanenog sjemena, ekstrudirano laneno sjeme

References

- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Martínez, M.A., Ares, I., Ramos, E., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., De la Fuente, M.A. (2010): Acute oral safety study of dairy fat rich in trans-10 C18:1 versus vaccenic plus conjugated linoleic acid in rats. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2), 591-598. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.037>
- Bernard, L., Shingfield, K.J., Rouel, J., Ferlay, A., Chilliard, Y. (2009): Effect of plant oils in the diet on performance and milk fatty acid composition in goats fed diets based on grass hay or maize silage. *British Journal of Nutrition* 101 (2), 213-224. <https://doi.org/10.1017/S0007114508006533>
- Bernard, L., Leroux, C., Rouel, J., Delavaud, C., Shingfield, K.J., Chilliard, Y. (2015): Effect of extruded linseeds alone or in combination with fish oil on intake, milk production, plasma metabolite concentrations and milk fatty acid composition in lactating goats. *Animal* 9 (5), 810-821. <https://doi.org/10.1017/S1751731114003048>
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. (2003): A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science* 86 (5), 1751-1770. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73761-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73761-8)
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M. (2007): Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 828-855. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700080>
- Cloutier, S. (2016): *Linseed: Overview*. In Encyclopedia of food grains - Corke, H., Wrigley, C., Seetharaman, K. and Faubion, J. (eds.), 2nd Edition, Elsevier, Oxford, UK, 259-264. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00031-0>
- Commission Regulation (2009): Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of the European Union* L54, 1-130. <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/152/oj>
- ČSN EN ISO 1211 (2011): *Milk - Determination of fat content - Gravimetric method (Reference method)*. Czech office for standards, metrology and testing. Prague. <http://seznamcsn.unmz.cz/Detailnormy.aspx?k=89462>
- Ganguly, R., Pierce, G.N. (2015): The toxicity of dietary trans fats. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.004>
- Jacome-Sosa, M.M., Borthwick, F., Mangat, R., Uwiera, R., Reaney, M.J., Shen, J., Quiroga, A.D., Jacobs, R.L., Lehner, R., Proctor, S.D. (2014): Diets enriched in trans-11 vaccenic acid alleviate ectopic lipid accumulation in a rat model of NAFLD and metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry* 25 (7), 692-701. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.02.011>
- Kubelková, P., Jalč, D., Homolka, P., Čermák, B. (2013): Effect of dietary supplementation with treated amaranth seeds on fermentation parameters in an artificial rumen. *Czech Journal of Animal Science* 58 (4), 159-166. <https://www.researchgate.net/publication/286096771>
- Lee, J., Yun, H.S., Cho, K.W., Oh, S., Kim, S.H., Chun, T., Kim, B., Whang, K.Y. (2011): Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated *Lactobacillus* spp.: Immune modulation and longevity. *International Journal of Food Microbiology* 148 (2), 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.003>
- Martínez Marín, A.L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, A.G., Juárez, M., Pérez Alba, L.M., Pérez Hernández, M., de la Fuente, M.A. (2011): Animal performance and milk fatty acid profile of dairy goats fed diets with different unsaturated plant oils. *Journal of Dairy Science* 94 (11), 5359-5368. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4569>
- Martínez Marín, A.L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, G., Juárez, M., Pérez Alba, L., Pérez Hernández, M., de la Fuente, M.A. (2012): Effects of feeding increasing dietary levels of high oleic or regular sunflower or linseed oil on fatty acid profile of goat milk. *Journal of Dairy Science* 95 (4), 1942-1955. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4303>
- Nudda, A., Battacone, G., Usai, M.G., Fancellu, S., Pulina, G. (2006): Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science* 89 (1), 277-282. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72092-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72092-6)
- Nudda, A., Battacone, G., Atzori, A.S., Dimaiuro, C., Rassu, S.P., Nicolussi, P., Bonelli, P., Pulina, G. (2013): Effect of extruded linseed supplementation on blood metabolic profile and milk performance of Saanen goats. *Animal* 7 (9), 1464-1471. <https://doi.org/10.1017/S1751731113000931>
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68, 88-113. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>
- Renna, M., Lussiana, C., D'Agostino, M., Mimosi, A., Fortina, R. (2013): Extruded linseed supplementation in dairy goat diet: Effects on productive performance and fatty acid profile of bulk milk, fresh and ripened cheese. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 12 (20), 1550-1564. <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javva/2013/1550-1564.pdf>
- Simionato, J.I., Garcia, J.C., dos Santos, G.T., Oliveira, C.C., Visentainer, J.V., de Souza, N.E. (2010): Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 21 (3), 520-524. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532010000300018>
- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D. (2013): Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7, 132-162. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001681>
- Valcheva, R., Dieleman, L.A. (2016): Prebiotics: Definition and protective mechanisms. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology* 30 (1), 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.008>

Praca oryginalna

Original paper

Methodology of udder description and the effect on somatic cell count in Czech White Shorthaired goat breed¹⁾

KLÁRA NOVOTNÁ, ALENA SVITÁKOVÁ*, JANA RYCHTÁŘOVÁ*,
MILENA FANTOVÁ, LENKA NOHEJLOVÁ

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources,
Czech University of Life Sciences in Prague, Kamýcká 129, 165 21, Prague 6 – Suchbátka, Czech Republic
*Institute of Animal Science in Prague, Přátelství 815, 104 00, Prague 10 – Uhřetěves, Czech Republic

Received 15.05.2018

Accepted 05.06.2018

Novotná K., Svitáková A., Rychtářová J., Fantová M., Nohejlová L.

Methodology of udder description and the effect on somatic cell count in Czech White Shorthaired goat breed

Summary

This study evaluated the effect of the linearly described shape traits of goat udders on somatic cell count. In a herd of 487 white shorthaired goats, seven traits (udder symmetry, udder depth, udder width, teat length, teat placement, rear udder attachment and udder cleft) were assessed in relation to somatic cell count in milk. The average somatic cell count was 1.3 mill cells/ml when considering the environmental effects (month and year of performance testing, lactation number). The somatic cell count is influenced by the depth ($p = 0.0015$) and width ($p = 0.0268$) of the udder. The results demonstrate that some traits of the udder shape influence the somatic cell count and can be considered as functional traits indicating animal health and herd profitability. After further studies, the methodology for linear description of the udder could be used for other dairy goat breeds, not only in the Czech Republic.

Keywords: goat milk, goat's udder, somatic cell count, teats

In recent years, dairy goat farming has expanded in the Czech Republic as a result of increasing demand for high-quality products from goat milk. Cow milk is dominant in the world milk production, but goat milk ranks third. Goat milk is used in the Czech Republic mainly for the manufacture of cheeses and other dairy products, so it is very important to focus on its quality and yield. It should be emphasized that the quantity and quality of milk depend on many factors. The main include animal health (5-7, 9, 19). Milk is a highly valuable biological fluid composed of water, proteins, fats, sugars, minerals, etc. Other important components naturally occurring in raw milk are somatic cells. Somatic cell count is used as an indicator of udder health and milk quality (2, 17). Milk secretion in goats is apocrine, whereas in cows it is merocrine, which partly explains the higher count of somatic cells in goat milk without any relation to mastitis (12). Maintenance of the normal physiological function of the mammary

¹⁾ This work was supported by grant no. QJ1510137 from the NAZV Agency of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

gland is essential for the production of high-quality milk and healthy offspring (3). The morphology of the udder affects its milkability, capacity for machine milking, the production and composition of milk, the resistance of the mammary gland to diseases, and the ability of kids to find and grasp the teat (1, 11). For this reason, greater attention should be paid to the study of goat udder anatomy. This study summarizes a pilot research that has contributed to the formulation of a methodology for a linear description of the shape traits of goat udders. The relationship between the udder shape and the quality and microbial contamination of milk were also studied, which is economically important for breeders.

Material and methods

Herd summary data. The evaluation of goat udders was made on a farm where white shorthaired goats belonging to the gene resources of the Czech Republic are kept. Measurements were carried out before the morning milking when the animals were tied in a milking room. The method

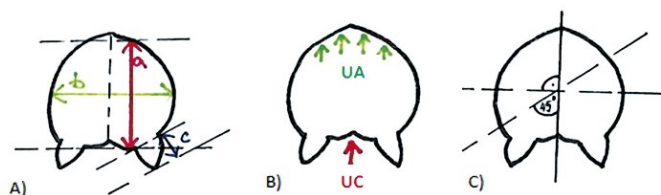


Fig. 1. Linear description of the udder shape

Explanations: A) a – udder depth, b – udder width, c – teat length; B) UA – rear udder attachment, UC – udder cleft; C) teat placement

for a linear description of dairy goat udders is based on a methodology for dairy sheep published by Milerski and Schmidova (11) and includes a total of 7 udder traits. Udder depth, udder width and teat length were measured exactly to the nearest 1 cm using a ruler with a measuring range of 30 cm. Other traits, i.e. udder symmetry, teat placement, udder cleft and rear udder attachment, were assessed subjectively using a five-score scale. The linear description of the udder is presented in Figure 1. All measurements were done by 1 person.

Udder symmetry (US) was assessed subjectively as the first of the udder traits. Goats with asymmetrical udders were not included in the evaluation.

Udder depth (UD) was measured from the rear with a ruler to the nearest 1 cm. UD was measured from the upper edge of the udder to the lowest point of the udder.

Udder width (UW) was measured from the rear with a ruler to the nearest 1 cm. UW was measured at the widest part of the udder.

Teat length (TL) was measured from the rear with a ruler to the nearest 1 cm. If the teats were visibly of different lengths, the longer teat was measured. TL was measured from the base to the tip of the teat.

Teat placement (TP) was assessed from the rear, using a five-score scale: 1 – almost perpendicular position of teats, teats placed on the bottom of the udder, 2 – teats pointing moderately sideways, placed on the lower edge of the udder, 3 – the teat angle is approximately 45° from the intermammary groove, 4 – teats are placed on the udder sides, 5 – teats point horizontally, placed high on the udder flanks.

Udder cleft (UC) was assessed as the depth of the intermammary groove, which is an indicator of the strength of the median suspensory ligament. It was assessed from the rear using a five-score scale: 1 – pronounced udder cleft, very pronounced suspensory ligament, 2 – less pronounced udder cleft, pronounced suspensory ligament, 3 – perceptible suspensory ligament, clear udder cleft, 4 – unclear udder cleft, 5 – loose suspensory ligament, part of the udder is below the teat level.

Rear udder attachment (UA) was assessed in terms of its width and how well the udder filled the room provided by the hind legs. The assessment was made from the rear using a five-score scale: 1 – very wide attachment, the room provided by the legs completely filled, 2 – wide attachment, the room provided by the legs nearly filled, 3 – intermediate attachment, room enough for the udder, 4 – weaker attachment, droopy udder, 5 – very weak attachment, baggy udder, skin folds.

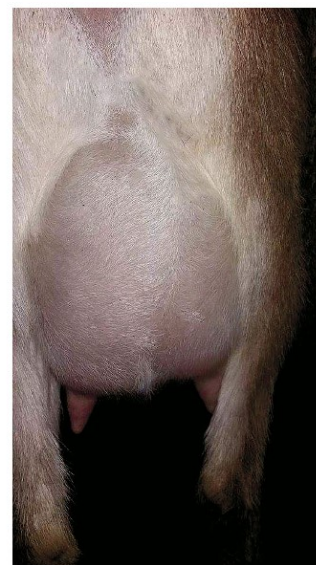


Fig. 2. A properly formed symmetric udder of a goat, TP – 2, UC – 2, UA – 1

Database of performance testing. The linear description of udders was compared with the milk performance of goats and somatic cell count. All data for milk quality traits (somatic cell count) used in this study were obtained from the official database of the Czech-Moravian Breeders Corporation. The animals without performance records were excluded from further analysis. The database contained 2727 somatic cell count records for 343 goats. The data on milk performance were collected in 2016 and 2017. The goats were at different lactations (lactation 2-7). The highest number of somatic cell count data were obtained from goats at lactation 4 (27% of data), 20% of data from lactation 3, and about 12% of data from the remaining lactations.

Statistical analysis. Data were evaluated by a mixed model (PROC MIXED, SAS 9.2, 2004) with repeatability where the animal was a replication. The effects comprised the year of milk sampling, the month of milk sampling and the linear description trait. If the trait was assessed in classes (TP, UA, UC), the effect was considered within the class. In other cases (UD, US, TL), linear and quadratic regressions were computed for the given linear description trait.

Results and discussion

The average somatic cell count (Tab. 1) was 1.3 mill cells/ml, and the median was 605.5 thousand. The incidence of somatic cells was higher mainly at the beginning and at the end of lactation, which was taken into account in the effect of the sampling month in relation to kid delivery seasonality. The standard somatic cell count in goat milk in the United States is 1×10^6 cells/ml (13), but no such count has yet been laid down in the European Union (4). Data were collected from March to September, and the highest number of records came from June. UD and US showed lower

Tab. 1. Average somatic cell count in relation to particular linear description traits of the goat's udder

Variable	Unit	n	Mean	Std error	Std dev	Min	Max	Median	Coeff. of variation
SC	1 × 10 ³ cells/ml	2727	1297.98	34.62	1807.59	5	5999	605.5	
UD	cm	2727	15.83	0.06	3.11	8	27	15	19.67
UW	cm	2727	14.13	0.03	1.79	5	20	14	12.66
TL	cm	2727	5.14	0.04	1.93	2	11	5	37.56
TP	point	2727	1.72	0.01	0.64	1	5	2	37.18
UA	point	2727	3.26	0.02	1.22	1	5	3	37.31
UC	point	2727	2.85	0.02	1.19	1	5	3	41.84
Month		2727	6.17	0.03	1.77	3	9	6	
Lactation		2727	4.25	0.03	1.54	2	7	4	

variability in the records than TL and the traits evaluated with a score scale. The TP median was 2, which means that teats on the lower edge of the udder pointed moderately sideways (Fig. 2). Udder cleft 3 indicates that the majority of goats in the herd had a perceptible suspensory ligament and a clear udder cleft, while the intermediary udder attachment also prevailed when the room provided by the legs and the abdominal cavity for udder attachment was ample enough. Somatic cell count is influenced by many factors, such as the animal species, milk production, parity, lactation stage, individual and environmental factors, herd management, milking hygiene, health of the udder and its shape (14, 15). The analysis of particular effects shows that, when considering the environmental effects (month and year of performance testing, lactation number), the somatic cell count is influenced by udder depth ($p = 0.0015$) and width ($p = 0.0268$). Variability in the other traits is too high, and their influence cannot be significantly determined from the present sample. Only statistically significant relationships are shown in the graphs (Fig. 3 and 4). Fig. 3 represents the relationship between somatic cell count and udder depth. The graph indicates that the deeper the udder, the higher the somatic cell count. The effect of udder width on the somatic cell count is illustrated in Fig. 4. The curve shows a downward trend in SCC, and the udder of 13-17 cm in width seems optimum, but for wider udders the somatic cell count starts increasing again. It is still unclear whether somatic cells (SCs) have a positive or negative influence on milk quality and manufacture of dairy products. The somatic cell count is used as an indicator of udder health and milk quality because SCs participate in the mammary gland protection from infection as a component of the innate immune system (8). According to most authors (10, 14, 17), somatic cells contained in milk are considered as undesirable. Their large amount is related to a decrease in milk production and inflammations of the mammary gland causing bacterial problems in milk, which result in changes in milk composition and in characteristics of dairy products. Besides the immune function of the udder and protective functions in milk, it has been proven recently that SCs often positively influence

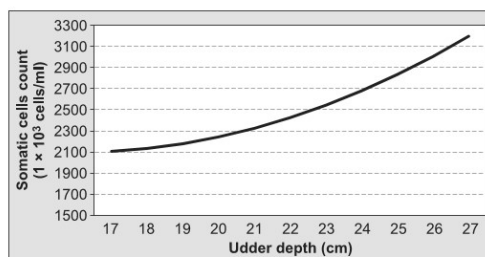


Fig. 3. The relationship between somatic cell count and udder depth

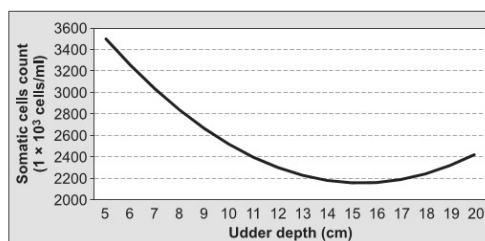


Fig. 4. The relationship between somatic cell count and udder width

the composition and technological properties of dairy products and thus contribute to the final quality of dairy products through endogenous enzymes (e.g. cathepsin B, cathepsin D, cathepsin G and elastase). A higher amount of SCs accelerates the proteolysis process during cheese ripening and improves sensory characteristics of cheeses (8, 14, 16, 18). The ultrasonography of the udder is an exact method for the diagnosis of some physiological and pathological states of the mammary gland in ruminants (mastitis etc.). It makes it possible to avoid economic losses during milk production in the case of udder disease (1).

The linear description of the goat's udder was evaluated. This is a pilot study that will include other goat herds and breeds in future. Thanks to this methodical approach, it will be possible to describe the goat population in the Czech Republic and to start selection against udder shapes unsuitable for machine milking.

The results demonstrate that the traits of the udder shape influence the somatic cell count, and so they can be regarded as functional traits indicating animal health and herd profitability.

References

1. Adam Z. E. A. S., Ragab G. A. N., Awaad A. S., Tavfik M. G., Maksoud M. K. M. A.: Gross anatomy and ultrasonography of the udder in goat. *J. Morphol. Sci.* 2017, 34, 3, 137-142.
2. Boutinaud M., Jammes H.: Potential uses of milk epithelial cells: a review. *Reprod. Nutr. Dev.* 2002, 42, 133-147.
3. Contreras A., Sierra D., Sanchez A., Corrales J., Marco J., Paape M., Gonzalo C.: Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Res.* 2007, 68, 145-153.
4. Council Directive 92/46/EHS of the 16th June 1992 laying down the health rules for the production of raw milk, heat-treated milk and milk-based products.
5. Dudko P., Junkuszew A., Bojar W., Milerski M., Szczepaniak K., Le Scouarnec J., Schmidová J., Tomczuk K., Grzybek M.: Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (Lamiaceae) and *Citrus* spp. (Citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. *Ital. J. Anim. Sci.* 2018, 17, 57-65.
6. Junkuszew A., Dudko P., Bojar W., Olech M., Osinski Z., Gruszecki T. M., Gregula Kania M., Kuźmak J., Czerni G.: Risk factors associated with small ruminant lentivirus infection in eastern Poland sheep flocks. *Prev. Vet. Med.* 2016, 127, 44-49.
7. Junkuszew A., Milerski M., Bojar W., Szczepaniak K., Le Scouarnec J., Tomczuk K., Dudko P., Studzińska M. B., Demkowska-Kutrzepa M., Bracik K.: Effect of various antiparasitic treatments on lamb growth and mortality. *Small Rumin. Res.* 2015, 123, 305-312.
8. Li N., Richoux R., Boutinaud M., Martin P., Gagnaire V.: Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Sci. Technol.* 2014, 94, 517-538.
9. Lipecka C., Junkuszew A., Kuźmak J., Gruszecki T. M., Olech M.: Mortality of ewes and their progeny in a flock infected with maedi-visna virus. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2011, 55, 361-365.
10. Maréchal C. Le, Thiéry R., Vautor E., Le Loir Y.: Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products: a review. *Dairy Sci. Technol.* 2011, 91, 247-282.
11. Milerski M., Schmidová J.: Metodika lineárního popisu vemen u ovcí 2016, Certifikovaná Metodika, Výzkumný ústav živočišné výroby, V.V.I., Praha Uhřetěves, 16 Str., ISBN: 8074031489, 9788074031489.
12. Olechnowicz J., Jaškowski J. M.: Somatic cells count in cow's bulk tank milk. *J. Vet. Med. Sci.* 2012, 74, 681-686.
13. Olechnowicz J., Jaškowski J. M.: Somatic cells in goat milk. *Med. Weter.* 2004, 60, 12, 1263-1266.
14. Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., De Cremoux R., Gonzalo C.: Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rumin. Res.* 2007, 68, 126-144.
15. Rupp R., Boichard D., Bertrand C., Bazin S.: Overview of milk somatic cell counts in the French dairy cattle breeds. *Prod. Anim.* 2000, 13, 257-267.
16. Sánchez-Macias D., Morales-de-la-Nuez A., Torres A., Hernández-Castellano L. E., Jiménez-Flores R., Castro N., Argüello A.: Effects of addition of somatic cells to caprine milk on cheese quality. *Intern. Dairy J.* 2013, 29, 2, 61-67.
17. Sharma N., Singh N. K., Bhadwal M. S.: Relationship of somatic cell count and mastitis: a review. *Asian Austral. J. Anim.* 2011, 24, 429-438.
18. Souza F. N., Blagitz M. G., Penna C. A. M., la Libera A. M. M. P., Heinemann M. B., Cerqueira M. M. O. P.: Somatic cell count in small ruminants. *Small Rumin. Res.* 2012, 107, 65-75.
19. Tomczuk K., Grzybek M., Szczepaniak K., Studzińska M., Demkowska-Kutrzepa M., Roczeń-Karczmars M., Abdulhamza Abbass Z., Kostro K., Junkuszew A.: Factors affecting prevalence and abundance of *A. perfoliata* infections in horses from south-eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 2017, 246, 19-24.

Corresponding author: Ing. Klára Novotná, Czech University of Life Sciences in Prague, Kamýcká 129, 165 21, Prague 6 – Suchbát, Czech Republic; e-mail: michnovak@af.czu.cz

6. Výsledky a souhrnná diskuse

Jak již bylo zmíněno, mléko přežvýkavců je jedinečným zdrojem živin a po tisíciletí nedílnou součástí lidské stravy, přesto může být výhodné složení mléka měnit. Ke změnám určitých složek může docházet například z ekonomických důvodů, producenti se snaží maximalizovat příjem využitím výživových strategií, které mění poměr proteinu a tuku v mléce (Kennelly et al., 2005). Lipidy ovlivňují technologickou a nutriční kvalitu mléka a mléčných výrobků, ovlivňují výtěžek sýrů, jejich pevnost, barvu i chuť (Delacroix - Buchet et Lamberet, 2000). Dietologové se snaží pozměnit složení mléka, aby podporovalo zdraví konzumentů, protože civilizačních chorob souvisejících s nezdravou stravou (kardiovaskulární choroby, obezita, cukrovka a rakovina) neustále přibývá. V tomto ohledu hrají funkční potraviny důležitou roli při prevenci nebo alespoň snížení rizika těchto chorob (Özen et al., 2014). V kozím mléce mezi tzv. funkční složky patří například kyselina eikosapentaenová (EPA), dokosahexaenová (DHA) nebo konjugovaná kyselina linolová (CLA), dietologové prosazují zvýšení těchto složek (Williams, 2000; Kennelly et al., 2005). Mnoho studií se zabývalo vlivem výživy na obsah a složení mléčného tuku, jelikož tato složka mléka je výživou snadno ovlivnitelná. Schopnost měnit zastoupení mléčných složek a především složení mléčného tuku, představuje možnost pro rozvoj nových mléčných produktů obohacené o omega-3 a omega-6 mastné kyseliny (Kennelly et al., 2005; Park et al., 2007).

1) Vliv přídatku sušené řasy *Chlorella vulgaris* na profil mastných kyselin v kozím mléce

Cílem práce bylo vyhodnotit vliv přídatku autotrofní sušené řasy *Chlorella vulgaris* (podávané v množství 5 a 10 g/kus/den) na profil mastných kyselin v mléce bílých krátkosrstých koz. Řasa byla kozám ke krmné dávce přidávána po dobu 6 týdnů, individuální vzorky mléka byly odebrány před zahájením pokusu a po dokončení zkrmování řas.

Z výsledků je patrné, že přídatek řasy měl pozitivní vliv na poměr skupin mastných kyselin, při přídatku 10g řasy došlo k poklesu nasycených mastných kyselin (SFA, více než o 50%). K největšímu poklesu došlo u kyseliny palmitové ve druhé pokusné skupině (10 g *Chlorelly v.*), zde došlo ke snížení o 7%, zatímco v první pokusné skupině (5 g *Chlorelly v.*) bylo její snížení zanedbatelné (0,71%). Obsah kyseliny palmitové by podle Park et al. (2007) měl být v rozmezí 23,2 – 34,8%, což odpovídá našim výsledkům. Množství kyseliny olejové

se výrazně zvýšilo v obou skupinách s přidavkem řasy. V první skupině došlo k navýšení o 8,15% a ve druhé pokusné skupině dokonce o 9,33%, zatímco v kontrolní skupině došlo k navýšení pouze o 2%. V kontrolní skupině došlo ke snížení kyseliny linolové (0,16%), zatímco v první pokusné skupině se množství kyseliny linolové a jejích izomerů navýšilo o 1,14%, ve druhé pokusné skupině pouze o 1,06%. Obsah izomerů C18:3 v kontrolní skupině a první pokusné skupině (5g *Chlorelly* v.) poklesl o 0,45 a 1,55%, zatímco ve druhé pokusné skupině (10g *Chlorelly* v.) došlo k jejich nárůstu (+ 1,61%). Všechny tyto výsledky jsou v souladu s krmným pokusem Chilliard et al. (2003), kdy ke krmné dávce koz přidávali olej ze semen řepky. Obsah zdraví prospěšných polynenasycených mastných kyselin (EPA, eikosapentaenová a DHA, dokosahexaenová MK) byl ve všech vzorcích mléka v nižším množství než je limit pro jejich detekci použitou metodou (0,1%). Také je nutné podotknout, že mastné kyseliny s krátkým řetězcem nebyly analyzovány vzhledem k jejich vysoké těkavosti při esterifikaci. V pokusných skupinách, především ve druhé pokusné skupině (10g *Chlorelly* v.) došlo k pozitivnímu posunu poměru omega-6:omega-3 polynenasycené MK (PUFA), který by měl být ve stravě konzumentů v poměru maximálně 5:1. Vyšší obsah PUFA by mohl být přínosný nejen pro konzumenty, ale také pro kůzlata především v ekologickém zemědělství, kdy sají mléko minimálně 45 dnů.

Uvedené výsledky byly podrobněji publikovány v práci Kouřimská et al. (2014).

2) Vliv přídavku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. na složení a profil mastných kyselin kozího mléka.

Na základě předchozí studie byla pro potvrzení výsledků zařazena mikrořasa *Chlorella vulgaris* a mořská mikrořasa *Japonochytrium* sp. Tentokrát byly mikrořasy z důvodu snížení prašnosti, ztrát při krmení a biohydrogenaci v bacheru, zpracované do formy pelet. Podle literatury obsahuje sladkovodní zelená mikrořasa *Chlorella vulgaris* okolo 10% mastných kyselin, zatímco *Japonochytrium* sp. obsahuje až 20% v závislosti na jejich kultivaci (Hauvermale et al., 2006).

V tomto pokusu obsahovala *Chlorella vulgaris* 13,67 % tuku v sušině a *Japonochytrium* sp. pouze 5,4 % tuku v sušině. *Chlorella* obsahovala vyšší množství celkových PUFA (62,14 %), avšak méně omega-3 MK (33,66 %), zatímco mikrořasa *Japonochytrium* sp. obsahovala méně celkových PUFA (55,31 %), ale s vyšším množstvím omega-3 MK (43,46 %). *Chlorella vulgaris* je zdrojem kyseliny linolové a kyseliny alfa-linolenové (Petkov et Garcia, 2007) a *Japonochytrium* sp. je vynikající zdroj DHA (Schmitt et al., 2012; Humhal et al., 2016). To odpovídá našim výsledkům, *Chlorella vulgaris* obsahovala 32,85 % alfa-linolenové kyseliny a *Japonochytrium* sp. obsahoval 41,954% DHA. Chemické složení mikrořas závisí zejména na podmínkách jejich kultivace (Lee, 2001).

V modelové rovnici pro pokusné skupiny byl průkazný vliv nádoje, mléčného tuku a sušiny ($P < 0,001$). Pořadí odběru vzorku bylo statisticky významné pouze pro množství mléčného tuku ($P < 0,001$). Podle výsledků bylo zjištěno vyšší množství denního nádoje u kontrolní skupiny koz, které nedostávaly přídavek řas (rozdíl mezi K a Ch +1,24 kg, K a J +0,89 kg, $P < 0,001$). I pořadí odběru mělo vliv na množství denního nádoje, nejvyšší množství bylo naměřeno při druhém odběru ($2,06\% \pm 0,101$) a naopak nejnižší při čtvrtém odběru ($1,57\% \pm 0,101$). Tento rozdíl byl statisticky významný ($P < 0,001$). U pokusné skupiny s přídatkem mikrořasy *Japonochytrium* sp. došlo k navýšení mléčného tuku a sušiny.

Na základě výsledků rovnice základního statistického modelu, má přídavek mikrořas vliv na množství kyseliny laurové, myristové, palmitoolejové, olejové, linolové, eikosatrienové a omega-6 MK, zatímco pořadí odběru mělo vliv na kyseliny C6-16, olejovou, linolovou, eikosatrienovou, SFA a MUFA na hladině významnosti $P < 0,01$. Koncentrace SFA s krátkým až středně dlouhým uhlíkovým řetězcem byla významně vyšší u obou pokusných skupin, avšak ve skupině s přídatkem mikrořasy *Japonochytrium* sp. bylo zjištěno nejvyšší množství SFA ($71,560\% \pm 0,861$), především kvůli nárůstu kyseliny kaprylové, kaprinové, kapronové,

laurové, myristové, zatímco došlo ke snížení kyseliny palmitové a stearové. Množství SFA i MUFA bylo ovlivněno pořadím odběru $P < 0,001$. Množství MUFA bylo naměřeno oproti skupině K a CH nejnižší ve skupině J ($P > 0,05$). V pokusné skupině J bylo naměřeno nejvyšší množství PUFA, zatímco obě podskupiny omega-3 a omega-6 byly nejnižší. Nejvyšší množství omega-3 MK bylo naměřeno v kontrolní skupině. Nebyl prokázán statisticky významný vliv přídavku mikrořasy ani pořadí odběru pro množství PUFA, omega-3 a omega-6 MK. Koncentrace DHA byla naměřena nejvyšší ve skupině J (+0,019%; $P < 0,001$), avšak v průběhu experimentu docházelo k jejímu poklesu. Závěrem lze říci, že existují významné rozdíly ve složení mléka a profilu mastných kyselin mezi oběma pokusnými skupinami koz. Přídavek mikrořas ke krmné dávce koz způsobil změny v poměru mléčného tuku a bílkovin, což má podle Kennelly et al. (2005) přímý vliv na výnos při výrobě sýrů a jiných mléčných výrobků. Mléko a mléčné výrobky vyrobené z obohaceného mléka vybranými mikrořasami může potencionálně působit na zlepšení zdraví konzumentů.

Uvedené výsledky byly podrobněji publikovány v práci Novotná et al. (2017).

3) Vliv přídavku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. na složení a profil mastných kyselin másla vyrobeného z obohaceného kozího mléka

Cílem této práce bylo porovnat profil mastných kyselin kozího másla vyrobeného z mléka koz, které dostávaly přídavek dvou různých mikrořas (*Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp.). Dále byly z dietetických důvodů porovnány profily MK směsných másel vyrobených z kozího a kravského mléka (v poměru kozí:kravské mléko 50:50 a 25:75).

Z literatury je patrné, že kozí mléko se využívá především na výrobu sýrů. Avšak škála výrobků z kozího mléka je poměrně široká, od naturálního mléka, přes sýry, jogurty, jogurtové nápoje, zmrzliny, až po máslo (Pandya et Ghodke, 2007). Kozí mléčný tuk je jednou z nejvýznamnějších složek podílejících se na výnosu sýra, jeho textuře, barvě, pevnosti a chuti (Ribeiro et Ribeiro, 2010). Další výhodou kozího mléčného tuku je jeho lepší stravitelnost, která je, na rozdíl od kravského mléčného tuku, způsobena menší velikostí lipidových micel (Park et al., 2007).

Podle výsledků je *Chlorella* významným zdrojem PUFA (62,1 %), především kyseliny linolové a alfa-linolenové (28,3% a 33,7%). Překvapivě nízká koncentrace byla naměřena v *Japonochytrium* sp. (7,7 %), naopak zde bylo zjištěné poměrně vysoké množství kyseliny palmitové (50 %) a olejové (25,7 %). Vliv přídavku mikrořasy *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. na složení kozího mléka a profil mastných kyselin, byl prokázán ve studii Novotná et al. (2017) a Borková et al. (2015).

Množství SFA a MUFA v kozím mléce i smetaně vykazovala statisticky významný rozdíl mezi kontrolní skupinou a oběma pokusnými skupinami po 49 dnech suplementace řas pouze v případě kyseliny C18:0 a vakcenové (trans-11-C18:1). Byl prokázán statisticky významný vliv pro zvýšení PUFA (*all-cis*-6,9,12-C18: 3; CLA; *all-cis*-8,11,14-C20:3 a DHA) ve skupině s mikrořasou *Japonochytrium* sp.

Dále byly zjištěny velké rozdíly mezi smetanou vyrobenou z kozího mléka a smetanou z kravského mléka. Přídavkem mikrořasy *Japonochytrium* sp. se zvýšilo množství PUFA (+ 0,37%) a naopak snížilo množství SFA (- 0,5%).

Obecně, mezi kozí a kravskou smetanou byly zjištěny velké rozdíly v profilu mastných kyselin. Kozí smetana obsahovala vyšší množství SFA ve srovnání se smetanou z kravského mléka (K 73,8%, P1 73,7% a P2 73,3%, kravská smetana 67,6%), tento rozdíl mohl být způsobený vyšším množstvím prospěšných SFA (C6:0,C8:0aC10:0). Kozí smetana obsahovala nižší množství MUFA (K 21,2%, P1 21,4% a P2 21,4%, kravská smetana 28,0%).

Nejvyšší množství PUFA v kozí smetaně bylo naměřeno v pokusné skupině P2 (5,35%), v kravské smetaně bylo množství PUFA 4,39%. Vyšší množství omega-3 MK bylo obsaženo v kozí smetaně K 1,39%, P1 1,42% a P2 1,43%, ve srovnání s kravskou smetanou, kde bylo množství omega-3 MK pouze 0,51%. V kravské smetaně bylo vyšší množství omega-6 MK (2,49%) oproti kozí smetaně (K 1,96%, P1 2,01% a P2 2,03%).

Velice důležitým ukazatelem pro zdraví je poměr omega-6/omega-3 MK, který by měl být nejvýše 5:1 (WHO/FAO, 2003). Podle zjištěných výsledků má příznivější poměr omega-6/omega-3 MK kozí smetana, což byl důvod k výrobě směsných másel. Podobně jako u kozího mléka a smetany byly i u másla prokázány změny pouze v obsahu SFA a PUFA v pokusné skupině s přidavkem *Japonochytrium* sp. Po přidavku této mikrořasy došlo ke snížení množství SFA (především C 18:0) a naopak navýšení PUFA. Zvýšení *all-cis*-8,11,14-C20: 3 a DHA v této pokusné skupině bylo v souladu s nárůstem těchto kyselin i v samotné řase. Přidáním kravské smetany do másla vyrobeného ze smetany z pokusné skupiny s přidavkem *Japonochytrium* sp. bylo sníženo množství SFA a PUFA v obou směsných máslech. Naproti tomu došlo u obou skupin k navýšení MUFA.

Závěrem lze říct, že zvýšený poměr kozího tuku v másle vede ke zvýšení omega-3 MK v másle a tím pozitivně ovlivňuje poměr omega-6:omega-3 MK, což je potenciálně přínosné pro konzumenty.

Uvedené výsledky byly podrobněji publikovány v práci Borková et al. (2015).

4) Vliv přídavku lněného oleje a extrudovaného lněného semínka na profil mastných kyselin v kozím jogurtovém nápoji

Na základě odborné literatury byly do experimentu zahrnuty další přídatky vysokým obsahem omega-3 polynenasycených mastných kyselin, lněný olej a extrudované lněné semínko. Cílem této studie bylo zjistit vliv přídavku lněného oleje (LO) a extrudovaného lněného semínka (ELS) na složení mastných kyselin v jogurtovém nápoji vyrobeném z obohaceného kozího mléka.

Z výsledků vyplývá, že vlivem přídavku LO i ELS nedošlo k významným změnám na základní složení mléka, avšak došlo ke změnám v profilu MK u jogurtových nápojů. Přídavek LO a ELS ke krmné dávce koz výrazně snížil množství celkových SFA v jogurtovém nápoji ($P < 0,001$), především došlo ke snížení množství SFA se středně dlouhým řetězcem (C14:0 a C16:0, $P < 0,001$). Ve skupině s přídavkem extrudovaného lněného semínka bylo sníženo množství SFA s krátkým řetězcem, zejména C6:0 ($P < 0,05$), C8:0 ($P < 0,01$), C10:0 ($P < 0,001$). Ovšem obsah kyseliny stearové (C18:0) byl zvýšený v jogurtových nápojích pokusné skupiny s ELS ($P < 0,001$). Lněný olej i extrudované lněné semínko jsou bohaté na obsah PUFA, především na kyselinu alfa-linolenovou MK, které jsou značně metabolizovány v bachoru, za vzniku právě C18:0. Podobné výsledky byly zjištěny v kozím mléce pokrmění extrudovaným lněným semínkem (Nudda et al., 2005; Nudda et al., 2013). Podle výsledků ve skupině s přídavkem lněného oleje nedošlo k navýšení C18:0, což odpovídá výsledkům práce Martínez Marín et al. (2012). Doplněk LO a ELS zvýšil obsah *trans*-C18:1 izomerů v jogurtových nápojích ($P < 0,001$). Toto zvýšení způsobilo statisticky významné zvýšení celkových MUFA v nápojích pokusné skupiny s přídavkem extrudovaného lněného semínka ($P < 0,001$). Zatímco u skupiny s přídavkem lněného oleje navýšení MUFA nebylo pozorováno i přes zvýšení *trans*-C18:1 izomerů, protože zároveň došlo k poklesu *cis*9-C18:1. Přídavek LO i ELS způsobil navýšení množství PUFA a omega-3 MK ($P < 0,001$), především kyseliny alfa-linolenové. Vyšší množství kyseliny alfa-linolenové bylo naměřeno v jogurtovém nápoji vyrobeném z mléka pokusné skupiny s přídavkem lněného oleje, tyto výsledky odpovídají výsledkům studie Chilliard et al. (2003), kde také bylo popsáno, že biohydrogenace mastných kyselin v bachoru byla prokazatelně nižší v případě podávání LO než olejnatých semen. To je také příčina vyššího obsahu *trans*-C18:2 ($P < 0,001$), konjugované kyseliny linoleové (CLA; $P < 0,001$) a kyseliny linolové (LA; $P < 0,01$) v jogurtových nápojích skupiny s přídavkem lněného oleje ve srovnání s přídavkem extrudovaného lněného semínka. Vyšší obsah *trans*-C18:2 a CLA byl zjištěn i ve skupině

s přídatkem ELS, avšak ne v takové míře jako u LO. Přídavek lněného oleje prokázal lepší efekt na navýšení PUFA v kozím mléce než extrudované lněné semínko.

V posledních letech roste zájem o mléčné potraviny s přidanou hodnotou, tyto specifické potraviny mohou zahrnovat i produkty vyrobené z kozího mléka obohacené o omega-3 MK, prebiotika a probiotika (Lee et al., 2011). Nicméně lněný olej i extrudované lněné semínko mělo pozitivní vliv na navýšení množství omega-3 MK v jogurtovém nápoji, což by mohlo mít přímý dopad na zdraví konzumentů.

Uvedené výsledky byly podrobněji publikovány v práci Borková et al. (2018).

5) Vliv tvarových charakteristik vemen na počet somatických buněk v kozím mléku

V této studii bylo hodnoceno sedm znaků (souměrnost vemene, hloubka vemene, šířka vemene, délka struků, umístění struků, zadní úvaz vemene, rozpolčení vemene) ve vztahu k počtu somatických buněk (SB) v kozím mléku. Počet somatických buněk (PSB) je využíván jako důležitý ukazatel zdraví vemene a kvality mléka. SB se podílejí na ochraně mléčné žlázy před infekcí jako součást vrozeného imunitního systému (Li et al., 2014). Vysoké množství SB je spojováno se snížením produkce mléka, se záněty mléčných žláz, které vedou k bakteriálním problémům v mléce, tím mohou změnit složení mléka a mléčných výrobků ve srovnání s normálními hodnotami (Le Maréchal et al., 2011, Raynal-Ljutovac et al., 2007, Sharma et al., 2011). Vedle imunitní funkce vemene se nedávno prokázalo, že obsah SB často pozitivně ovlivňuje složení a technologické vlastnosti mléčných výrobků, čímž přímo ovlivňují konečnou kvalitu mléčných výrobků prostřednictvím endogenních enzymů (např. katepsin B, katepsin D, katepsin G a elastáza). Vyšší množství SB také zrychluje proces proteolýzy při procesu zrání sýrů a zlepšuje jejich sensorické vlastnosti (Sanchez-Macias et al., 2013; Souza et al., 2012; Li et al., 2014). Jestli mají SB pozitivní či negativní vliv na kvalitu mléka a výrobu mléčných produktů, zůstává stále otázkou.

Bylo hodnoceno 487 bílých krátkosrstých koz. Průměrný PSB byl 1,3 mil buněk / ml, medián byl 605,5 tisíc. Podle Kuchčík et al., (2015) se počet SB pohyboval u plemene bílá krátkosrstá koza v rozmezí od 253 000 do 759 000/ml. Podle Granado et al., (2014) je PSB v kozím mléce velice proměnlivý, je ovlivňován např. fází laktace, což odpovídá i našim

výsledkům, kdy k vyššímu výskytu SB docházelo především na začátku a konci laktace, což bylo zohledněno v efektu měsíce odběru vzhledem k sezónnosti kozlení. Počet somatických buněk byl ovlivněn hloubkou ($p=0,0015$) a šířkou ($p=0,0268$) vemene. Výsledky ukazují, že některé rysy tvaru vemene ovlivňují počet somatických buněk a lze je považovat za funkční znaky označující zdraví zvířat a rentabilitu chovu. Podle výsledků byly u většiny vemen struky umístěné na spodním okraji vemene směřující mírně do stran, znatelný závěsný vaz a zřetelné rozpolčení vemene, střední upnutí vemene, kdy je mezi končetinami a břišní dutinou dostatečné místo pro upnutí vemene. Také byl prokázán vliv hloubky a šířky vemene na množství nadojeného mléka. Podle Novotná et al. (2018b) je patrné, že čím hlubší vemeno, tím je vyšší PSB a zároveň i denní nádoj. Optimální vemeno je široké 13-17 cm, u vemen širších než 17 cm dochází opět k nárůstu SB, ovšem s rostoucí šířkou vemene roste i denní nádoj.

Uvedené výsledky byly podrobněji publikovány v práci Novotná et al. (2018).

7. Celkové shrnutí

V této práci bylo prvotním cílem zkoumání vlivu přídatku mikrořasy *Chlorella vulgaris*, *Japonochytrium* sp., lněného oleje a extrudovaného lněného semínka, zařazených do krmné dávky na kvalitativní ukazatele mléčné produkce koz, především na složení mastných kyselin se zaměřením na navýšení omega-3 a omega-6 mastné kyseliny. Podle výsledků měla řasa *Chlorella vulgaris* kultivovaná autotrofním způsobem více pozitivních účinků, než stejná řasa kultivovaná heterotrofně. Jako druhá byla do pokusu vybrána mikrořasa *Japonochytrium* sp. Jedná se o nový produkční kmen mikrořasy, obsahující ve své biomase vysoké množství nutričně a farmaceuticky cenných omega-3 MK. Podle výsledků lze konstatovat, že u koz, kterým byla přidávána mikrořasa *Japonochytrium* sp. byly zjištěny pozitivní výsledky, kdy došlo ke zlepšení profilu MK. Mikrořasa *Japonochytrium* sp. prokazovala více pozitivních účinků na změnu profilu mastných kyselin v kozím mléce než *Chlorella vulgaris*, avšak v obou případech se jednalo pouze o stopové množství těchto kyselin.

Na základě dostupné literatury a z ekonomických důvodů byl do pokusu zařazen lněný olej a extrudované lněné semínko. V tomto experimentu bylo cílem dokázat, že doplněk lněného semínka ve dvou různých formách povede k pozitivním změnám profilu mastných kyselin a tím přímo ovlivní i mléčné produkty. Lněný olej i extrudované lněné semínko pozitivně ovlivnily množství mléka i mléčného tuku a profil mastných kyselin kozího mléka a jogurtových nápojů. Došlo k navýšení PUFA, především omega-3 MK a snížení SFA. Tento rozdíl byl výraznější u pokusné skupiny, která dostávala lněný olej.

Závěrem lze říci, že vliv řasy *Chlorella vulgaris* i *Japonochytrium* sp. nebyl tak výrazný, jak se předpokládalo. Důvodem může být například prozatímní způsob výroby mikrořas, kdy není zaručena jejich stejná kvalita a složení. Výrobní cena mikrořas je mnohem vyšší, než cena extrudovaného lněného semínka a lněného oleje.

Výsledky přídatků mikrořas *Chlorella vulgaris* a *Japonochytrium* sp. i lněného oleje a extrudovaného lněného semínka prokázaly pozitivní vliv na složení kozího mléka a mléčných produktů. Avšak změny v množství zdraví prospěšných mastných kyselin, především v množství PUFA a jejich podskupin omega-6 a omega-3 MK, byly zjištěny pouze ve stopových množstvích.

Sledování přineslo důležité informace, bylo detailně zmapované složení MK v mléce u stáda koz na různých laktacích. Zároveň bylo získáno porovnání účinků mikrořas a lněného semínka. Na základě zpracování všech sledovaných dat a dat z kontroly užítkovosti bylo

vypozorováno, že kozy využívaly pozitivní účinky vybraných přísad ke krmné dávce první řadě ke zlepšení své tělesné kondice a teprve poté na produkci mléka a jeho složení.

Ze záznamů z kontroly užitekosti koz byly sledovány údaje: denní nádoj, mléčné složky (tuk, bílkoviny, laktóza, tukuprostá sušina) a množství somatických buněk v mléku. Tato pozorování vedla k dalšímu pokusu, kdy bylo provedeno hodnocení lineárního popisu vemen koz a porovnání vlivu těchto charakteristik s údaji dostupnými z kontroly užitekosti koz (denní nádoj, mléčné složky a počet somatických buněk). Jedná se o pilotní studii, ze které bude vytvořena metodika pro měření tvarových charakteristik vemen koz. Díky tomuto metodickému přístupu bude možné popsat populaci koz chovaných v ČR a zahájit selekci vůči technologicky nevhodným tvarům vemen. Z výsledků dále vyplývá, že charakteristiky tvaru vemen ovlivňují počet somatických buněk a lze je tedy považovat za funkční znaky charakterizující zdraví zvířete a rentabilitu chovu. Jakmile bude zavedena do chovu koz selekce na vybrané tvarové charakteristiky vemen, které přímo ovlivňují počet somatických buněk, lze očekávat pozitivní přínos ve zlepšení kvality mléka a mléčných produktů.

8. Publikační aktivity autora

Vědecké publikace s IF:

Borková, M, Šulc, M, **Novotná K**, Smolová, J, Hyršlová, I, Fantová, M, Elich, O. 2018. The influence of feed supplementation with linseed oil and linseed extrudate on fatty acid profile in goat yoghurt drinks. *Mljekarstvo* 68 (1), 30-36.

Novotná K, Svitáková A, Rychtářová J, Fantová M, Nohejlová L. 2018. Methodology of udder description and the effect on somatic cell count in Czech White Shorthaired Goat Breed. *Medycyna Weterynaryjna*, 74 (8), 497 - 500.

Vědecké recenzované publikace:

Kouřimská, L., Vondráčková, E., Fantová, M., Nový, P., Nohejlová, L., **Michnová, K.**, Effect of feeding with algae on fatty acid profile of goat's milk. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 2014. 45. 3. 162-160. ISSN: 1211-3174.

Fantová M., Ptáček M., **Michnová K.**, Ducháček J., Nohejlová L., Beran J. 2015. Physical characteristics of raw leathers in Texel and Charollais ram lambs. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 63. 5. 1465-1470.

Borková M., **Michnová K.**, Hyršlová I., Fantová M., Elich O. 2015. Changes in fatty acid profile of goat butter from goats fed algae. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, č. 13, s. 82-89.

Borková M., Šulc M., Svitáková A., **Michnová K.**, Smolová J., Peroutková J., Elich O. 2019. Goat Yoghurt Drinks With Elevated A-Linolenic Acid Content And Enriched With Yacon Fiber. *Potravinářstvo*, 13 (1), s. 150-156.

Novotná K., Fantová M., Nohejlová L., Borková M., Stádník L., Ducháček J. 2017. Effect of *Chlorella vulgaris* and *Japonochoytrium* sp. Microalgae Supplementation on Composition and Fatty Acid Profile of Goat Milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65(5): 1585-1593.

Fantová M., Škarková L., Ptáček M., **Michnová K.**, Nohejlová L., Ducháček J. 2016. Histochemical muscle fiber characteristics of texel meat. Journal of Central European Agriculture. 17(2), 285 – 293.

Odborné publikace:

Fantová, M., Ptáček, M., **Michnová, K.**, Nohejlová, L., Ducháček, J., Beran, J., Hütterová, S. Dlouhověkost bahnic plemene texel a růst jejich jehňat. *Náš chov*. 2014. 74. 7. 39-41. ISSN: 0027-8068.

Michnová, K., Fantová, M., Nohejlová, L., Ptáček, M. Kvalita vlny shetlandských ovcí chovaných v ČR. *Náš chov*. 2014. 74. 8. 88-90. ISSN: 0027-8068.

Fantová, M., Nohejlová, L., **Michnová, K.** Odchov kůzlat, nové poznatky výzkumu. 2014. *Zemědělec*. 22. 35. 20-22.

Borková M., **Michnová K.**, Fantová M., Nohejlová L., Syrovátková K., Elich O. 2015. Změny profilu mastných kyselin v kozím mléce po přidavku řas do krmné dávky. *Mlékařské listy*. 150. s. 4-8.

Novotná K., Fantová M., Nohejlová L., Borková M. 2017. Vliv mikrořasy *Japonochytrium* sp. na množství a základní složení mléka bílých krátkosrstých koz. *Náš chov*. 5. 45-46.

Novotná K., Fantová M., Nohejlová L., Kochová M. 2017. Využití různých aditiv ve výživě ovcí. *Zemědělec*. 35. str. 20.

Borková M., Hyršlová I., **Michnová K.**, Fantová M., Šulc M., Elich O. 2015. Zastoupení mastných kyselin v kozím mléce, jogurtu a čerstvém sýru koz příkrmovaných řasami. *Mlékařské listy*. 152. 26 – 30.

Michnová K., Nohejlová L., Fantová M. 2018. Využití řas ve výživě přežvýkavců. *Zemědělec*, č. 35, s. 20.

Fantová M., **Michnová K.**, Nohejlová L. 2015. Analysis of the quality of the wool of Shetland Sheep Bred in the Czech Republic. *Global Journal of Science Frontier research*, 15 (8), s. 21-25.

Novotná K., Svitáková A., Nohejlová L., Rychtářová J., Fantová M. 2018. Lineární popis vemene u koz a jeho vztah na množství nadojeného mléka a počet somatických buněk. *Náš chov*. 78 (7), 38 – 39.

Příspěvky z konferencí publikované ve sbornících:

Ducháček, J., Ptáček, M., Stádník, L., **Michnová, K.**, Beran, J. Relationship among growth parameters and their breeding values in Suffolk sheep. 2014. Book of abstract of International scientific genetic conference XXVI. GENETIC DAYS. 3-4. 9. 2014. Praha ČZU. 91-94. ISBN: 978-80-213-2473-2.

Michnová K., Ptáček M., Ducháček J., Stádník L., Fantová M., Nohejlová L., Beran, J. 2015. Effect of early growth abilities of Suffolk ewe lambs on their subsequent reproductive traits. *Reprod Dom Anim* 50 (Suppl. 3): 66.

Borková M., **Michnová K.**, Hyršlová I., Fantová M., Elich O. Changes in fatty acid profile of goat butter from goats fed algae. NUTRICON 2015 – konference -ABSTRAKT - Skopje, Macedonia, from 19th to 20th of November 2015.

Sztankóová, Z., Kyselová, J., Rychtářová, J., **Michnová, K.**, Fantová, M., Nohejlová, L. 2016. Genetic Variability of Lipogenic Enzymes (DGAT2, SCD) and Glycoprotein (BTN1A1) in the Dairy Goat Population of the Czech Republic. In *Sustainable goat breeding and goat farming in the Central and Eastern European Countries*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, s. 133-138. ISSN 978-92-5-109123-4

Fantová M., **Michnová K.**, Nohejlová L., Borková M. Kozí mléko jako funkční potravina? *Zpravodaj SCHOK*, 1-2/2015, 70-72.

Michnová, K., Fantová, M., Nohejlová, L., Borková, M. 2015. Vliv aditiv na kvalitu mléčného tuku koz. Přednáška na Mezinárodní konference Svazu chovatelů ovcí a koz v Seči. 6. – 7. 11. 2015.

Novotná K., Nohejlová L., Svitáková A. 2019. Vliv hodnocení tvarových charakteristik vemen koz na vybrané ukazatele mléčné produkce. *Zpravodaj SCHOK*, 3/2019, 82-84.

Certifikované metodiky:

Fantová M., **Michnová-Novotná K.**, Nohejlová L. 2017. Zvýšení obsahu zdraví prospěšných polynenasycených mastných kyselin v mléce koz zkrmováním mikrořas. Uplatněná certifikovaná metodika. 40 s. ISBN 978-80-213-2750-4.

9. Použité zkratky

ALA - alfa-linolenová kyselina

CLA - konjugovaná kyselina linolová

DHA - dokosahexaenová kyselina

ELS - extrudované lněné semínko

EPA - eikosapentaenová kyselina

GLA - gama linolenová kyselina

KD - krmná dávka

LA - linolová kyselina

LO - lněný olej

MK - mastné kyseliny

MUFA - mononenasyčené mastné kyseliny

PSB - počet somatických buněk

PUFA - polynenasycené mastné kyseliny

SB - somatické buňky

SFA - nasycené mastné kyseliny

SKD - standardní krmná dávka

TAG - triacylglycerol

VA - vakcenová kyselina

VMK - volné mastné kyseliny

10. Použitá literatura

Abril, R., Garrett, J., Zeller, S. G., Sander, W. J., Mast, R. W. 2003. Safety assessment of DHA-rich microalgae from *Schizochytrium* sp. Part V: target animal safety/toxicity study in growing swine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 37, 1, 73 - 82.

Adam Z. E. A. S., Ragab G. A. N., Awaad A. S., Tawfik M. G., Maksoud M. K. M. A. 2017. Gross anatomy and ultrasonography of the udder in goat. *Journal of Morphological Sciences*. 34, 3, 137-142.

Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M. J., Juárez, M., 1999. Fatty acid composition of caprine milk: major, branched chain and trans fatty acids. *Journal of Dairy Sciences*. 82, 878 - 884.

Barsanti, L., Gualtieri, P. 2006. *Algae, Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Taylor and Francis group. 301. ISBN-13: 978-0-8493-1467-4.

Becker, E. W. 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In Richmond, A. (ed.), *Handbook of microalgal culture*. Blackwell Publishing, Oxford, 312 - 351.

Becker, E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*. 25, 2, 207 - 210.

Bergonier, D., de Cremoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*. 34, 689 - 716.

Bernacka, H. 2011. Health-promoting properties of goat milk. *Medycyna Weterynaryjna*. 67, 8, 507 - 511.

Bligh, E. G., Dyer, W. L. 1995. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37, 8, 911 - 917.

Borková M., Michnová K., Fantová M., Nohejlová L., Syrovátková K., Elich O. 2015. Změny profilu mastných kyselin v kozím mléce po přidavku řas do krmné dávky. *Mlékařské listy*. 150. s. 4-8.

Boutinaud, M., Jammes, H., 2002. Potential uses of milk epithelial cells: a review. *Reproduction Nutrition Development*. 42, 133 - 147.

Callec, Ch. 2002. *Encyklopedie sýrů*. 1. vyd. Čestlice: Rebo Productions. 256 s. ISBN 80-7234-225-8.

Cant, J. P., Fredeen, A. H., MacIntyre, T., Gunn, J., Crowe, N. 1997. Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*. 77, 125 - 131.

- Cavalier-Smith, T. 2003. Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa, *European Journal of Protistology*. 39, 338 - 348.
- Cedeen, F., Kaya, S. O., Daskiran, I. 2008. Somatic cell, uder and milk yield in goat. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 159, 4, 237- 242.
- Cloutier, S. 2016. Linseed: Overview. In *Encyclopedia of food grains* - Corke, H., Wrigley, C., Seetharaman, K. and Faubion, J. (eds.), 2nd Edition, Elsevier, Oxford, UK, 259 - 264.
- Colla, L. M., Muccillo-Baisch, A. L., Costa, J. A. V. 2008. *Spirulina platensis* effects on the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 51, 2, 35 - 43.
- Collier, R. J., Hernandezb, L. L., Horsemanc, N. D. 2012. Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. *Domestic Animal Endocrinology*. 43, 2, 161 - 170.
- Connor, W. E. 2000. Importance of n23 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71,1, 171 - 175.
- Contreras, A., Sierra, D., Sanchez, A., Corrales, J., Marco, J., Paape, M., Gonzalo, C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Researche*. 68, 145 - 153.
- Cornet, J. F. 1998. Le technoscope: les photobioréacteurs. *Biofuture*. 176, 1 - 10.
- Cozma, A., Andrei, S., Miere, D., Filip, L., Loghin, F. 2011. Proteins Profile in Milk from Three Species of Ruminants. *Notulae Scintia Biologicae*. 3, 1, 26 - 29.
- Crowe, K. M., Francis, C. 2013. From the Academy: Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Functional Foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 113, 8, 1096 - 1103.
- Csanádi, J., Fenyvessy, J., Bohata, S. 2015. Somatic cell count of milk from different goat breeds. *Acta Universitatis Sapientiae Alimentaria*. 8, 45-54.
- Dai, X. J., Wang, C., Zhu, Q. 2011. Milk performance of dairy cows supplemented with rape seed oil, peanut oil and sunflower seed oil. *Czech Journal of Animal Science*. 56, 4, 181 - 191.
- Delacroix-Buchet, A., Lamberet, G. 2000. Sensorial properties and typicity of goat dairy products. 7th Int. Conf. on Goats, Tours, France. p. 15 - 21.
- Dhiman, T. R., Satter, L. D., Pariza, M. W., Galli, M. P., Albright, K., Tolosa, M. X. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*. 83, 1016 - 1027.
- Donovan, D. C., Schingoethe, D. J., Baer, R. J., Ryali, J., Hippen, A. R., Franklin, S. T. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 83, 2620 - 2628.

- Doucha, J. 1998. Program Chlorella in the Czech Republic. Institute of Microbiology The Academy of Sciences of the Czech Republic, Třeboň.
- Drbohlav, J., Vodičková, M. 2001. Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků. Ústav zemědělských a potravinářských informací. 85 s.
- Fantová, M., Fleischer, P., Kacerovská, L., Malá, G., Mátlová, V., Nohejlová, L., Skřivánek, M., Šlosárková, S. 2012. Chov koz. Brázda. Praha. 231 s. ISBN: 9788020903938.
- Feagan, J. T. 1979. Factors affecting protein composition of milk and their significance to dairy processing. Australian Journal of Dairy Technological. 34, 77 - 81.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., Fails, A. D. 2009. Anatomy and Physiology of Farm Animals. Wiley- Blackwell. 7. Ed. 512 p. ISBN 10: 0813813948.
- Franklin, S. T., Martin, K. R., Baer, R. J., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R. 1999. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. Journal of Nutrition. 129, 2048 - 2054.
- Gajdůšek, S. 2003. Laktologie. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 84 s. ISBN 80-7157-657-3.
- Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., Fuente de la, M. A., Alonso, L., Juárez, M. 2004. Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acids in ewe's milk fat. Lait. 84, 473 - 482.
- Granado, R. J., Rodriguez, M. S., Arce, C., Estevez, V. R. 2014. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. Spanish Journal of. of Agricultural Research. 12, 1, 133 - 150.
- Grinstead, G. S., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Goodband, R. D., Nelssen, J. L. 2000. Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs. Animal Feed Science and Technology. 83. 3-4. pp. 237 - 247.
- Guschina, I. A., Harwood, J. L. 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. Progress in lipid Research. 45, 160 - 186.
- Haenlein G. F. W. 2004. Goat milk in human nutrition. Small Ruminant Research. 51, 2, 155 - 163.
- Haenlein G. F. W. 2007. About the evolution of goat and sheep milk production. Small Ruminant Research. 68, 1-2, 3 - 6.
- Halle, I., Janczyk, P., Freyer, G., Souffrant, W. B. 2009. Effect of microalgae *Chlorella vulgaris* on laying hen performance. Archiva Zootechnica. 12, 2, 5 - 13.

Hasler, C. M., Brown, A. C. 2009. Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*. 109, 4, 735 - 746.

Hauvermale, A., Kuner, J., Rosenzweig, B., Guerra, D., Diltz, S., Metz, J. G. 2006. Fatty acid production in *Schizochytrium* sp.: Involvement of a polyunsaturated fatty acid synthase and a type I fatty acid synthase. *Lipids*. 41, 8, 739 - 747.

Humhal, T., Kaštánek, P., Ježková, Z., Čadková, A., Kohoutková, J., Branyik, T. 2016. Use of saline waste water from demineralization of cheese whey for cultivation of *Schizochytrium limacinum* PA-968 and *Japonochytrium marinum* AN-4. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 40, 3, 395 - 402.

Chichlowski, M. W., Schroeder, J. W., Park, C. S., Keller, W. L., Schimek, D. E. 2005. Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *Journal of Dairy Science*. 88, 3084 - 3094.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Sciences*. 86, 1751 - 1770.

Chouinard, P. Y., Corneau, L., Butler, W. R., Chilliard, Y., Drackley, J. K., Bauman, D. E. 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *Journal of Dairy Science*. 84, 680 - 690.

Christaki, E., Florou-Paneri, P., Bonos, E. 2011. Microalgae: a novel ingredient in nutrition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 62, 8, 794 - 799.

Jandal, J. M. 1996. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 22, 177 - 185.

Jones, E. L., Shingfield, K. J., Kohen, C., Jones, A. K., Lupoli, B., Grandison, A. S., Beaver, D. E., Wilyams, C. M., Calder, P. C., Yaqoob, P. 2005. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. *Journal of Dairy Science*. 88, 2923 - 2937.

Kalač, P. 2003. *Funkční potraviny*. Dona. České Budějovice. 130 s. ISBN: 8073220296.

Kalina, T., Váňa, J. 2010. *Sinice, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum, Praha, 608 s. ISBN: 9788024610368.

Kennelly, J. J., Bell, J. A., Keating, A. F., Doepel, L. 2005. Nutrition as a tool to alter milk composition. *Advanced Dairy Technologies*. 17, 255 - 275.

Kindsedt, P. 2005. Vermont Cheese Council. *American Farmstead Cheese: The Complete Guide To Making and Selling Artisan Cheeses*. Chelsea Green Publishing. p. 276.

Kiriac, M. 2008. Effects of Bio-Algae Concentrates Added to the Diet of Dairy Cows. Research protocol, guidance and invention provided by Michael Kiriac, Ph.D., N. D. North American Research sponsored by BIOSUPERALIMENT INC.

Komprda, T. 2003. Základy výživy člověka. MZLU Brno, ISBN 80-7157-655-7. p. 164.

Kuchtík, J., Šustová K., Kalhotka, L., Pavlata, L. 2015. Celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk v kozím mléce a jejich korelace. Mlékařské listy. 152, 19 - 26.

Lee, Y. K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potencial. Journal of Applied Phycology. 13. pp. 307 - 315.

Lee, J., Yun, H.S., Cho, K. W., Oh, S., Kim, S.H., Chun, T, Kim, B., Whang, K. Y. 2011. Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated *Lactobacillus* spp.: Immune modulation and longevity. International Journal of Food Microbiology. 148, 2, 80-86.

Lérias J. R., Hernández-Castellano L. E., Suárez-Trujillo, A., Castro, N., Pourlis, A., Almeida, A. M. 2014. The mammary gland in small ruminants: major morphological and functional events underlying milk production-a review. Journal of Dairy Research. 81, 3, 304 - 318.

Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., Gagnaire, V. 2014. Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. Dairy Science and Technology. 94, 517-538.

Lock, A. L., Bauman, D. E. 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. Lipids. 39, 12, 1197 - 1206.

Mačuhová L., Uhrinčat' M., Mačuhová J., Margetín M., Tančín V. 2008. The first observation of milkability of the sheep breeds Tsigai, Improved Valachian and their crosses with Lacaune. Czech Journal of. Animal Sciences. 53, 12, 528 - 536.

Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., Le Loir, Y. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products: a review. Dairy Science and Technology. 91, 247-282.

Marriott, N. G., Garrett, J. E., Sims, M. D., Abril, J. R. 2002. Performance characteristics and fatty acid composition of pigs feed a diet with docosahexaenoic acid. Journal of Muscle Foods. 13, 4, 265 - 277.

Marth, E. H., Steele, J. 2001. Applied Dairy Microbiology, Second Edition. CRC Press, p. 736.

Martínez Marín, A.L., Gómez-Cortés, P., GómezCastro, G., Juárez, M., Pérez Alba, L., Pérez Hernández, M., de la Fuente, M. A. 2012. Effects of feeding increasing dietary levels of high oleic or regular sunflower or linseed oil on fatty acid profile of goatmilk. Journal of Dairy Science. 95, 4, 1942-1955.

- Martinchik, A. N., Baturin, A. K., Zubstov, V. V., Molofeev, V. I. 2012. Nutritional value and functional properties of flaxseed. *Voprosy Pitaniia*. 81, 3, 4 - 10.
- Milerski M., Schmidová J.: Metodika lineárního popisu vemen u ovcí. 2016. Certifikovaná Metodika, Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha Uhřetěves, 16 Str., ISBN: 8074031489, 9788074031489.
- Mir, Z., Goonewardene, L. A., Okine, E., Jaegar, S., Scheer, H. D. 1999. Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (CLA) and long chain fatty acids in goat milk. *Small Ruminant Research*. 33, 137 - 143.
- Morand-Fehr, P., Boutonnet, J. P., Devendra, C., Dubeuf, J. P., Haenlein, G. F. W., Holst, P., Mowlem, L., Capote, J., 2004. Strategy for goat farming in the 21st century. *Small Ruminant Research*. 51, 175 - 183.
- Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Le Frileux, Y. 2007. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 20 - 34.
- Morris, H. J., Almarales, A., Carrillo, O., Bermúdez, R. C. 2008. Utilisation of *Chlorella vulgaris* cell biomass for the production of enzymatic protein hydrolysates. *Bioresource Technology*. 99, 7723 - 7729.
- Novotná K., Fantová M., Nohejlová L., Borková M. 2017. Vliv mikrořasy *Japonochytrium* sp. na množství a základní složení mléka bílých krátkosrstých koz. *Náš chov*. 5. 45-46.
- Novotná, K., Svitáková, A., Nohejlová, L., Rychtářová, J., Fantová, M. 2018b. Lineární popis vemene u koz a jeho vztah na množství nadojeného mléka a počet somatických buněk. *Náš chov*. 78, 7, 38 – 39.
- Nudda, A., Battacone, G., Usai, M. G., Fencellu, S., Pulina, G. 2005. supplementation with Extruded Linseed Cake Affects Concentrations of Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic acid in Goat Milk. *Journal of Dairy Science*. 89, 1, 277 - 282.
- Nudda, A., Battacone, G., Atzori, A.S., Dimauro, C., Rassu, S.P., Nicolussi, P., Bonelli, P., Pulina, G. 2013. Effect of extruded linseed supplementation on blood metabolic profile and milk performance of Saanen goats. *Animal*. 7, 9, 1464-1471.
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J. M. 2004. Somatic cells in goat milk: *Medycyna Weterynaryjna*. 60, 12, 1263 - 1266.
- Or-Rashid, M. M., Kramer, J. K. G., Wood, M. A., McBride, B. W. 2008. Supplemental algal meal alters the ruminal trans-18 : 1 fatty acid and conjugated linoleic acid composition in cattle. *Journal of Animal Science*. 86, 187-196.
- Özen, A. E., Bibiloni del Mar, M., Pons, A., Tur, J. A. 2014. Consumption of functional foods in Europe; a systematic review. *Nutricion Hospitalaria*. 29, 3, 470 - 478.

- Pandya, A. J., Ghodke, K. M. 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Ruminant Research*. 68, 193 - 206.
- Papadopoulos, G., Goulas, C., Apostolaki, E., Abril, R. 2002. Effects of dietary supplements of algae, containing polyunsaturated fatty acids, on milk yield and the composition of milk products in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*. 69, 357 - 365.
- Park, Y. W. 1994. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Ruminant Research*. 14, 151 - 161.
- Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G. F. W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 88 - 113.
- Petkov, G., Garcia, G. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochemical Systematics and Ecology*. 35, 281 - 285.
- Pipper, S., Unteriser, I., Mann, F., Mischnick, P. 2012. A new arabinomannan from the cell wall of the chlorococcal algae *Chlorella vulgaris*. *Carbohydrate Research*. 352, 166 - 176.
- Přidalová, H., Janštová, B., Dračková, M., Navrátilová, P., Vorlová, L. 2009. Sledování vybraných parametrů mléka bílých krátkosrstých koz ze dvou farem v České Republice. *Mlékařské listy*. 116, 41.
- Pulz, O., Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 65, 635 - 648.
- Rasoul-Amini, S., Ghasemi, Y., Morowvat, M. H., Mohagheghzadeh, A. 2009. PCR amplification of 18S rRNA, single cell protein production and fatty acid evaluation of some naturally isolated microalgae. *Food Chemistry*. 116, 129 - 136.
- Raynal – Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research* 79, 57 - 72.
- Restani, P., Gaiaschi, A., Plebani, A., Beretta, B., Cavagni, G., Fiocchi, A., Poisei, C., Velona, T., Ugazio, A. G., Galii, C. L. 1997. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species. *Clinical and Experimental Allergy*. 29, 997 - 1004.
- Ribeiro A. C., Ribeiro S. D. A. 2010. Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*. 89, 2-3, 225 - 233.
- Riediger, N. D., Othman, R. A., Suh, M., Moghadasian, M. H. 2009. A Systemic Review of the Roles of n-3 Fatty Acids in Health and Disease. *Journal of the American Dietetic Association*. 109, 4, 668 - 679.
- Richmond, A. (ed.). 2004. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Publishing, USA, ISBN: 0632059532.

- Ruiter, B., Rozemuller, E. H., van Dijk, A. J., Grassen, J., Burijnzeel-Koomen, C. A., Tilanus, M. G., Knol, E. F., van Hoffen, E. 2007. Role of human leukocyte antigen DQ in the presentation of T cell epitopes in the major cow's milk allergen alias 1 - casein. *International Archives of Allergy and Immunology* 143, 2, 119 - 126.
- Samková, E., Pešek, M., Špička, J., Pelikánová, T., Hanuš, O. 2009. The effect of feeding diets markedly differing in the proportion of grass and maize silages on bovine milk fat composition. *Czech Journal of Animal Science*. 54, 93 - 100.
- Sánchez - Macías, D., Morales - dela Nuez, A., Torres, A., Hernández- Castellano, L. E., Jiménez-Flores, R., Castro, N., Argüello, A. 2013. Effects of addition of static cells to caprine milk on cheese quality. *International Dairy Journal*. 29, 2, 61 - 67.
- Sanz Sampelayo, M. R., Chilliard, Y., Schmidely, P., Boza, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 1-2, 42 - 63.
- Savoini G, Agazzi A, Invernizzi G, Cattaneo D, Pinotti L, Baldi A. 2010. Polyunsaturated fatty acids and choline in dairy goats nutrition: Production and health benefits. *Small Ruminant Research*. 88, 2, 135 - 144.
- Secchiari, P., Antongiovanni, M., Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Ferruzzi, G., Paoletti, F., Petacchi, F. 2003. Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livestock Production Science*. 83, 43 - 52.
- Sharma, N., Singh N. K., Bhadwal, M. S. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 24, 429 - 438.
- Shingfield, K. J., Reynolds, C. K., Hervás, G., Griinari, J. M., Grandson, A. S. Beever, D. E. 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89, 714 - 732.
- Schmitt, D., Tran, N., Peach, J., Edwards, T., Greeley, M. 2012. Toxicologic evaluations of DHA-rich algal oil in rats: Developmental toxicity study and 3-months dietary toxicity study with an in utero exposure phase. *Food and Chemical Toxicology*. 50, 11, 4149 -4157.
- Silianikove, N., Leitner, G., Merin, U., Prosser, C. G. 2010. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*. 89, 110 - 124.
- Simopoulos, A. P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 70, 3, 560 - 569.
- Singh, A. P., Avramis, C. A., Kramer, J. KG., Marangoni, A. G. 2004. Algal meal supplementation of the cows' diet alters the physical properties of milk fat. *Journal of Dairy Research*. 71, 1, 66 - 73.
- Singh, K. K., Mridula, D., Rehal, J., Barnwal, P. 2011. Flaxseed: a potential source of food, feed and fiber. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51, 3, 210 - 222.

Smolenski, G., S. Haines, F. Y., Kwan, J. Bond, V., Farr, S. R., Davis, K., Stelwagen, Wheeler, T. T. 2007. Characterisation of host defence proteins in milk using a proteomic approach. *Journal of Proteome Research*. 6, 1, 207 - 215.

Souza, F. N., Blagitz, M. G., Penna, C. A. M., la Libera, A. M. M. P., Heinemann, M. B., Cerqueira, M. M. O. P. 2012. Somatic cell count in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 107, 65 - 75.

Souza, F. N., Blagitz, M. G., Penna, C. A. M., la Libera, A. M. M. P., Heinemann, M. B., Cerqueira, M. M. O. P. 2012. Somatic cell count in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 107, 65 - 75.

Spolarore, P., Joannis-Cassan. C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101, 87 - 96.

Stamey, J. A., Shepherd, D. M., Veth, M. J., Corl, B. A. 2012. Use of algae or algal oil rich in n-3 fatty acids as a feed supplement for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 95, 9, 5269 - 5275.

Swaigood, H. E. 1995. *Handbook of Milk Composition*. Academic Press. New York. 464 - 467.

Szmatola, T., Barłowska, J., Litwinczuk, Z. 2013. Characteristics of goat milk fat and the possibility of modifying the fatty acid composition. *Medycyna Weterynaryjna*. 69, 3, 157 - 160.

Tančin, V., Hluchý, S., Mihina, Š., Uhrinčať, M., Hetényi, L. 2001. *Fyziológia získavania mlieka a anatómia vemena*. Publikace VÚŽV Nitra. 110 s. ISBN 80-88872-13-8.

Teubner, Ch. 1998. *Sýry: velká encyklopedie*. Bratislava. Perfekt, a.s. 255 s. ISBN 80-8046-101-5.

Toral, P. G., Belenguer, A., Shingfield, K. J., Hervas, G., Toivonen, V., Frutos, P. 2012. Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science*. 95, 794 - 806.

Tsiplakou E., Zervas G. 2013. The effect of fish and soybean oil inclusion in goat diet on their milk and plasma fatty acid profile. *Livestock Science*. 155, 236 - 243.

Urban, F., Bouška, J., Čermák, V., Doležal, O., Fulka, J., Futerová, J., Homolka, P., Jílek, F., Kudrna, V., Loučka, R., Macháčová, E., Marounek, M., Miklík, J., Mudřík, Z., Petr, J., Podebradský, Z., Šereda, R., Skřivanová, V., Váchal, J., Vetýška, J., Žižlavský, J. 1997. *Chov dojeného skotu*. Natural, s.r. o. APROS. Praha. 289 s. ISBN 80-901100-7-X.

Vahmani, P. 2013. Effect of Supplementation with Fish Oil or Microalgae on Milk Fatty Acid Composition and Lipogenic Gene Expression in Cows Managed in Confinement or Pasture Systems. *Dalhousie University Halifax, Nova Scotia*, 132.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. Chemie potravin I. 3. OSSIS. Tábor. 602 s.

WHO/FAO. 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. World Health Organization, Geneva, Switzerland. p. 89.

Williams, C. M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnie*. 49, 165 - 180.

Zahroojian, N., Moravej, H. Shivazad, M. 2011. Comparison of marine algae (*Spirulina platensis*) and synthetic pigment in enhancing egg yolk colour of laying hens. *British Poultry Science*. 52, 5, 584 - 588.

Zajkovskij, A. S. 1953. Chemie a fysika mléka a mléčných výrobků. Praha. Státní nakladatelství technické literatury. 287 s.