

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Stanovení profilu mastných kyselin v buvolím mléce

Diplomová práce

Bc. Martin Janák

Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph.D.

Konzultant: Ing. Pavel Nový Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení profilu mastných kyselin v buvolím mléce" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.4.2021

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Veronice Legarové, Ph.D. za skvělé vedení, podporu, odborné rady, vedení při praktické části a za trpělivost. Dále Ing. Pavlu Novému, Ph.D. za konzultace a pomoc při vysvětlování různých nejasností. A na závěr bych chtěl poděkovat svým rodičům, kteří mě podporovali ve studiu.

Stanovení profilu mastných kyselin v buvolím mléce

Souhrn

Cílem této práce bylo stanovení profilu mastných kyselin v buvolím mléce a porovnání s profilem mastných kyselin v mléku kravském. Buvolí mléko se dostává do popředí zájmu kvůli vyššímu obsahu tuku, než který je obsažen v kravském mléce a také pro rozdílný profil mastných kyselin.

Teoretická část této diplomové práce se věnuje poznatkům o chovu buvolů, složení buvolího mléka se zaměřením na mléčný tuk, kde byly diskutovány mléčné sacharidy, bílkoviny, minerální látky, vitamíny a enzymy. Tato kapitola byla zaměřena na složky mléka, které souvisí s tuky a dále vliv mastných kyselin na zdraví. Dále se popisovaly metody, které se použily v praktické části na stanovení obsahu složek mléka a dále i jakou metodou se stanovuje profil mastných kyselin.

V praktické části se zkoumaly vzorky, které byly odebrány na farmě Ohař, která se jako první v České republice specializuje na chov buvolů a výrobu produktů z buvolího mléka. Pro tento výzkum bylo použito 5 vzorků od jednotlivých buvolic (Lindabel, Nody, Brie, Halfhorn, Twin) a 5 směsných vzorků odebíraných v měsících září, prosinec, leden, únor a březen a pro porovnání 1 vzorek kravského mléka. Pro odseparování tuku z mléka byla použita acidobutyrometrická metoda stanovení tuku dle Gerbera a následně byl vzorek mastných kyselin stanovován pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem a následně kvantifikoval pomocí standardu.

Výsledkem stanovení byl celkový profil mastných kyselin, z nichž byly nejvíce zastoupené kyseliny myristová, palmitová, olejová a stearová. Obsahy těchto mastných kyselin se měnily v průběhu roku, i mezi jedinci, u nichž byly mezi vzorky největší rozdíly.

Dále byla provedena analýza složek mléka pomocí přístroje Milkoscan FT 120, který funguje na principu infračervené spektroskopie.

Z výsledků je patrné, že se profil mastných kyselin lišil v průběhu měsíců i mezi jedinci. Je důležité také zmínit velký rozdíl v profilu mastných kyselin mezi kravským a buvolím mlékem. Mezi vlivy, které ovlivňují celkové složení mléka i profil mastných kyselin, se řadí složení krmení, věk, fáze laktace, pořadí laktace, datum otelení i roční období.

Klíčová slova: *Bubalus bubalis*, buvolí mléko, laktace, mastné kyseliny, plynová chromatografie

Determination of fatty acids profile in buffalo milk

Summary

This thesis was focused on fatty acids profile in buffalo milk and a comparison to fatty acids profile in cow milk. Buffalo milk has been coming to the fore of interest these days because of its higher fat content compared to cow milk and also for its different fatty acids profile.

The theoretical part of this diploma thesis deals with knowledge about buffalo breeding, the composition of buffalo milk with a focus on milk fat, where milk carbohydrates, proteins, minerals, vitamins, enzymes and especially milk fat were discussed. This chapter was focused on the milk components which are connected with fats and also on effect of fatty acids on health. Furthermore, there were described methods of determination of the content of milk components used in the practical part and also which method is used for determination of the fatty acids profile.

In the practical part, samples coming from the Ohař farm-the first farm in the Czech republic specialized to buffalo breeding and buffalo dairy production – were reaserched. For this research we used 5 samples from individual buffaloes (Lindabel, Nody, Brie, Halfhorn, Twin), 5 mixed samples taken in September, December, January, February and March and for comparision 1 sample of cow milk. The acid-butyrometric method of determination of fat according to Gerber was used for the separation of fat from milk, and subsequently the sample of fatty acids was determined by gas chromatography with a mass detector and then quantified by means of a standard.

The result of the determination was the total fatty acids profile. Myristic, palmitic, oleic and stearic acids were the most represented. The contents of these fatty acids varied throughout the year, even between individuals with the greatest differences between samples.

Furthermore, the analysis of milk components was performed using the Milkoscan FT 120 instrument, which works on the principle of infrared spectroscopy.

The results show that the fatty acids profile varied in the course of months and between individuals as well. It is also important to mention a large difference in fatty acids profile between cow and buffalo milk. Influences affecting the total composition of milk and the fatty acids profile include the composition of feeding, age, stage of lactation, order of lactation, calving date and also season.

Keywords: *Bubalus bubalis*, buffalo milk, lactation, fatty acids, gas chromatography

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Buvol (<i>Bubalus bubalis</i>)	3
3.1.1	Rozdíl mezi říčním a bažinným typem	4
3.1.2	Chov buvola v Indii	5
3.1.3	Chov buvola v Pákistánu	5
3.1.4	Chov buvola v Evropě	6
3.2	Mléko a jeho složení	6
3.2.1	Sacharidy	8
3.2.1.1	Laktóza	9
3.2.2	Mléčné bílkoviny	10
3.2.2.1	Kasein	10
3.2.2.2	Syrovátkové bílkoviny	11
3.2.3	Minerální látky	11
3.2.4	Mléčný tuk	12
3.2.4.1	Složky související s tuky	12
3.2.4.2	Mastné kyseliny a jejich vliv na zdraví	13
3.2.5	Vitamíny	19
3.2.6	Enzymy	19
3.3	Plynová chromatografie	20
3.3.1	Složení chromatografu	20
3.3.2	Princip	21
3.3.3	Teoretické patro	22
3.4	Hmotnostní spektrometr	22
3.4.1	Princip	23
3.5	Milkoscan	24
4	Metodika	26
4.1	Popis použitých vzorků	26
4.2	Chemikálie	26
4.3	Přístroje	27
4.4	Způsob přípravy vzorků	27
4.5	Analýza vzorků na GC x MS	27
4.6	Analýza vzorků pomocí MilkoScan FT 120	28
4.7	Zpracování výsledků	28

5	Výsledky	29
5.1	Celkový obsah složek mléka.....	29
5.2	Profil mastných kyselin.....	30
5.2.1	Vzorky od jednotlivých buvolů.....	30
5.2.2	Směsné vzorky	32
5.2.3	Rozdíl mezi kravským a buvolím mlékem.	34
6	Diskuze	36
6.1	Celkový obsah složek mléka.....	36
6.2	Profil mastných kyselin.....	36
6.2.1	Vzorky od jednotlivých buvolů.....	36
6.2.2	Směsné vzorky	37
6.3	Porovnání obsahu MK mezi buvolím a kravským mlékem	38
7	Závěr	40
8	Literatura.....	41
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	44

1 Úvod

Buvol domácí (*Bubalus bubalis*) se těší v nynější době nárůstu popularity jak v chovu, tak i v konzumaci mléčných výrobků s ním spojovaných, např. v Itálii je velmi oblíbeným výrobkem mozzarella z buvolího mléka.

Buvola lze rozlišit na dvě hlavní plemena a to je buvol říční a buvol bažinný. Buvol říční je obecně velké zvíře, se zahnutými rohy a vyskytují se hlavně v Indii, Pákistánu a v dalších zemích západní Asie. Raději vstupují do čisté vody a jsou chováni hlavně pro mléčnou produkci, dále na maso a v neposlední řadě může být i tažnou silou. Bažinný typ se vyskytuje v zemích jihovýchodní Asie a je hlavně používán pro tah a nákladní dopravu (Ahmad et al. 2013a).

Buvolí mléko je druhým nejvíce produkovaným mlékem na světě. Více jak 91 % celkového objemu buvolího mléka je produkováno v Indii a Pákistánu. Buvolí mléko má jedno z nutričně nejbohatších složení ze všech druhů mlék. Ve srovnání s kravským mlékem jsou však informace o chemickém složení a fyzikálních vlastnostech mléka méně dostupné.

Z technologického hlediska se může z buvolího mléka vyrábět široké portfolio produktů, jako je máslo, ghí, měkké a tvrdé sýry, kondenzovaná mléka, zmrzlina, jogurt a další. Z ekonomického hlediska je výhodnější vyrábět některé mléčné výrobky z buvolího mléka spíše než z kravského. Například pro vytvoření 1 kg másla je třeba 14 kg kravského mléka a 10 kg buvolího mléka (Ménard et al. 2010). Mléčný tuk je kritizován, protože obsahuje významné množství nasycených kyselin, především kyseliny myristové, kyseliny palmitové a relativně nízké koncentrace mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin (Varricchio et al. 2007). Avšak mléko obsahuje i několik mastných kyselin, které působí pozitivně na lidské zdraví. Pozitivní vliv na lidské zdraví mají zejména omega-3-mastné kyseliny, a to hned z několika důvodů. Nejvýraznější vlastností je její ochranná schopnost proti kardiovaskulárním onemocněním. Některé další mastné kyseliny vykazují například antikarcinogenní účinky jako je konjugovaná kyselina linolová a kyselina máselná (Varricchio et al. 2016).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotézou práce je, že tuk buvolího mléko obsahuje více nenasycených mastných kyselin a celkově více volných mastných kyselin, než tuk mléka kravského.

Cílem práce je sledovat profil mastných kyselin ve vzorcích buvolího a kravského mlékapomocí plynové chromatografie a porovnat je i s daty v dostupné vědecké literatuře.

3 Literární rešerše

3.1 Buvol (*Bubalus bubalis*)

Celosvětově lze rozlišit buvola na dvě hlavní plemena a to buvola říčního a buvola bažinného. Třetí typ, kterým je středozevní buvol, se vyvinul z těchto dvou hlavních typů. Říční buvol pochází z jižní a jihozápadní Asie, zatímco bažinný buvol se vyskytuje ve východní a jihovýchodní Asii. Středozevní buvoli se vyskytují především v Itálii, balkánských státech, Turecku a některých částech Ruska. Zájem o buvoly celosvětově roste. První dovoz buvolů do Francie se uskutečnil v roce 1998 a do Švédska roku 2009, kvůli úspěchům jiných zemí Evropy jako je Itálie a Bulharsko, které je chovají za účelem získání vysoce kvalitního mléka a masa s nižším obsahem cholesterolu v obou produktech (Ahmad et al. 2013a). Buvoli s nejvyšší dojivostí se nachází na indickém subkontinentu a právě Indie je země, kde se chová nejvíce buvolů. Zde se produkuje 96 milionů tun mléka ročně. Pákistán produkuje 27 milionů tun ročně. Co se týče celosvětové produkce mléka, je buvolí mléko na druhém místě za kravským. Produkované buvolí mléko tvoří asi 12 % z veškeré světové produkce mléka. Asi 91 % z celkového buvolího mléka produkuje Indie (Khedkar et al. 2015). Za poslední tři dekády se produkce veškerého mléka celosvětově zvýšila z 500 milionů tun mléka, která byla vyprodukována v roce 1983 na 769 milionů tun, vyprodukovaných v roce 2013 (Kapaj & Deci 2017). V roce 2018 se vyprodukovalo až 127 milionů tun buvolího mléka a 683 milionů tun kravského mléka (Zicarelli 2020).

Indická plemena buvolů jsou známá svým vysokým produkčním potenciálem a vysokou užitkovostí při využití nekvalitního krmiva a menší náročnosti chovu, než je to u skotu. Hlavní populace buvolů pochází z venkova Indie, kde farmáři chovají 1-4 mléčná zvířata jako vedlejší přivýdělek pro udržení živobytí na venkově a zabezpečení výživy. Nejdůležitějšími vlastnostmi, které do značné míry přispívají k zisku, je vysoká schopnost produkce mléka a nízké náklady na chov. Díky různým složením a funkčním vlastnostem je buvolí mléko mimořádně vhodné pro výrobu mléčných výrobků, jako je smetana, sušené zmrzlinové směsi, jedlý kasein a kaseináty. Nicméně z technologického hlediska se buvolí mléko často nepovažuje za ideální tekutinu pro výrobu několika druhů sýrů, prášků, kondenzovaného mléka a kojenecké výživy (Khedkar et al. 2015). Buvolí mléko se nepovažuje za vhodný materiál pro výrobu určitých zrajících sýrů jako je čedar, gouda, ementál atd. Zrající sýry jsou charakteristické svým jemným, měkkým a sametovým vzhledem a texturou a bohatou typickou chutí. Sýry vyrobené z buvolího mléka jsou mdlé, tvrdé, gumové a suché vzhledem i texturou. Je to dáno především tím, že se buvolí mléko výrazně liší od kravského mléka kvalitativně tak. Vyšší pufrací schopnost buvolího mléka je způsobena vyšším obsahem vápníku a kaseinu, které zpomalují vznik kyselosti. Rychlejší sýření je připisováno vyššímu obsahu koloidního vápníku a menší schopnost zadržovat vodu v sýřenině může být způsobena menší hydratací kaseinu oproti kravskému mléku. Tvrdé, gumové a suché sýrové těsto může být způsobeno tvarováním sýřeniny, které je výsledkem vyššího obsahu kaseinu s většími micelami, vyšším obsahem

vápníku a hořčíku v koloidním stavu, větším poměrem tuku s většími tukovými kuličkami, nižší hustotou kaseinových micel v porovnání s kravským mlékem (Singh 2011).

Od doby, kdy byl vodní buvol domestikován před 3000-6000 lety, měl buvol ekonomický význam díky mléčným výrobkům a masu a jako tažná síla. Tato zvířata se obvykle vyskytují v tropických a subtropických lesích, mokřích loukách, močálech a bažinách. I když jsou to suchozemská zvířata, tráví velkou část času válením v bahenních dírách nebo řekách, aby se chladila. Jejich stanoviště obsahují obvykle řeky, potoky, bahenní díry, vysoké trávy a stromy, které poskytují dostatek pitné a vlažné vody, potravy a přístřeší. Během pleistocénové epochy byl *Bubalus* rozšířen z jižní Asie do Evropy. Jak se klima stále více měnilo a bylo více sucho, tak oblast rozšiřování se omezila na Indonésii a do jihovýchodní Asie. Předpokládá se, že buvoli byli do Itálie dovezeni ze střední Evropy v šestém století nebo z Tuniského zálivu v 7. století současně s arabskými výboji. Populace vodních buvolů v Austrálii, Africe a Americe vznikla teprve nedávno (Michelizzi et al. 2010).

3.1.1 Rozdíl mezi říčním a bažinným typem

Pod Asijského buvola spadají dva poddruhy, které jsou známé jako říční a bažinný, jejich morfologie a účely jsou odlišné, stejně tak jako jejich genetika. Říční buvol má 50 chromozomů, z nichž pět párů je submetacentrických, zatímco 20 je akrocentrických, zatímco bažinný buvol má 48 chromozomů, z nichž 19 párů je metacentrických. Rozdíl v počtu diploidů je pouze patrný. Tyto dva poddruhy mezi sebou jsou plodné a produkují potomky se 49 chromozomy. Samčí potomci křížení někdy vykazovali problémy s plodností, zatímco samičí potomci vykazovali delší porodní intervaly pouze v případě dalšího zpětného křížení. Morfologie těchto dvou typů se značně liší. Hmotnost dospělého samčího jedince buvola bažinného se pohybuje mezi 325-450 kg a u říčního typu se váha pohybuje mezi 450-1000 kg. Bažinný typ je chován hlavně pro tažnou sílu, ačkoli produkuje až 600 kg mléka ročně. Význam říčního typu závisí na produkci, kvalitě a množství mléka, které vyprodukuje. Říční buvoli jsou obecně velcí, se zahnutými rohy a vyskytují se hlavně v Indii, Pákistánu a v některých zemích západní Asie. Raději vstupují do čisté vody a primárně se chovají za účelem mléčné produkce, ale také pro maso a tažnou sílu. Bažinný buvol je podsaditě zvíře s bažinatými stanovišti. Používají se především k tahu v rýžových polích a pro nákladní dopravu, ale také se používají k masné a mléčné produkci. Bažinný typ se většinou vyskytuje v zemích jihovýchodní Asie. Několik zvířat lze najít také v severovýchodních státech Asie. Každý poddruh zahrnuje mnoho plemen. Produkce mléka a masa z buvolů v asijských zemích je v posledních desetiletích ukázala variabilní. Je známo, že buvoli lépe zužitkují nekvalitní stravu pro svou výživu. Uvádí se, že mají o 5 % lepší stravitelnost hrubé vlákniny než vysoko užitkový skot a o 4 až 5 % vyšší účinnost využití metabolické energie k výrobě mléka (Moioli & Borghese 2005).

3.1.2 Chov buvola v Indii

V Indii žije okolo 95 milionů buvolů, kteří reprezentují 56,5 % světové buvolí populace. Indie je první na světě v počtu buvolů a množství vyprodukovaného mléka. Indie je také první v Asii pro svůj vědecký a technologický rozvoj ohledně výživy buvolů, reprodukce, biotechnologií a genetických změn. Indie zavedla národní programy, jako je „zelená revoluce“ (zvýšení produkce plodin pro buvoly), „bílá revoluce“ (zvýšení mléčné produkce pro uspokojení lidských potřeb proteinu) a „červené revoluce“ (zvýšení masné produkce a posílení masného průmyslu), zejména pokud jde o buvola (Borghese & Mazzi 2005).

V Indii se chovají plemena buvola říčního, které se považují za nejlepší v mléčné produkci, jako jsou Murrah, Nili-Ravi, Surti a hlavně plemeno Jaffarabadi, které pochází ze severozápadní části Indie a má velký potenciál v mléčné produkci, mimo toho že jsou stále nezastupitelná jako zvířata, která pomáhají při práci a slouží jako zásoba masa. Indický Murrah je nejvíce rozšířené plemeno na světě, je rozšířeno od Bulharska až po Jižní Ameriku a po celé Asii (Borghese & Mazzi 2005).

Tabulka 1: Plemena buvolů a jejich produkce (Borghese & Mazzi 2005).

Název Plemena	Průměrná délka laktace (dny)	Průměrné množství mléka za laktaci (kg)	Obsah tuku (průměr %)
Badhawari	272	780	8,6
Jaffarabadi	319	2151	7,86
Mehsana	305	1893	7
Murrah	305	1675	7,3
Nagpuri	286	1055	7,7
Nili-Ravi	294	1820	6,8
Pandharpuri	305	1142	7
Surti	305	1289	7,9

3.1.3 Chov buvola v Pákistánu

Hlavním zvířetem poskytující mléko v Pákistánu je buvol. Z celkového počtu 22 milionů buvolů v Pákistánu je 76 % chováno v Punjabu. Punjab zásobuje ze 73 % celou zemi mlékem a z toho je 71 % od buvolů, kteří jsou součástí tradičního hospodářského systému, který je spojen s rostlinnou výrobou. Stáda jsou zde velmi malá, protože okolo 85 % buvolů pocházejí ze stáda, které čítá od 1 do 5 kusů dobytka. Žije zde půl milionu farmářů, kteří nevládnou žádnou půdu, pečují o mléčné buvoly, kteří výrazně (ze 70 %) ovlivňují celkovou mléčnou produkci. Záznamy o buvolech se hlavně pořizují ze sedmi institučních stád a na několika vojenských farmách. Mléčná produkce není založena na komerční bázi, tak je úroveň prostředků, které jsou třeba, velmi nízká. Hlavně, zvířata jsou krmena pomocí zbytků rostlin a plodin s doplněním pícnin a pěstovaného krmiva pro tyto potřeby. Seno a siláž zde skoro neexistují, ale některá velká instituční stáda jsou jimi krmena. Tyto koncentrovaná krmiva jsou pro zvířata, která jsou

určena pro mléčnou produkci. Pouze vládní společnosti mají vakcinovaná zvířata proti nemocím. Okolo 5-10 % plemenic jsou inseminovány, zatímco zbytek je přírodně oplodněn buvolý, kteří jsou k tomu určeni. Společnosti také umožňují prodej buvolů farmářům, ale pouze v omezené míře. Plemena, která se nejvíce chovají v Pákistánu, jsou Nili-Ravi a Kundhi (Borghese & Mazzi 2005).

Tabulka 2: Produkce dvou hlavních plemen buvolů v Pákistánu (Borghese & Mazzi 2005)

Plemeno Ukazatel	Nili-Ravi		Kundhi	
	Průměr	Rozmezí	Průměr	Rozmezí
Váha při narození (kg)	-	-	-	-
Samec	39,8	32-58	35,1	33,4-37
Samice	37,7	27-45	32,3	31-34,5
Věk při prvním otelení (měsíce)	47	30-54	52,7	48-57
Váha při prvním otelení (kg)	625	544-695	495	407-585
Délka laktace (dny)	312	200-450	277	244-300
Výnos laktace (l)	2070	1700-2700	1825	1580-2018
Zasušení (dny)	160	95-240	176	134-214

3.1.4 Chov buvola v Evropě

Oblast středomoří, která je typická svým klimatem a zvyklostmi, čítá 5,5 milionu kusů buvolů, což představuje 3,4 % světové buvolí populace. V některých zemích, jako je Bulharsko, Rumunko a Turecko, se snižují počty buvolů kvůli třem faktorům, jedním z nich je holštýnizace, což znamená, že se nahrazují krávy a buvoli, kteří mají malou dojivost, Holštýnsko fríským skotem, který má vysokou dojivost, dalším faktorem je mechanizace a v neposlední řadě slabá poptávka po buvolích produktech. V Itálii se počet buvolů zvýšil, kvůli poptávce po produktech, které se získávají pouze z buvolího mléka, a protože se buvol změnil z rustikálního víceúčelového zvířete na zvíře určené k mléčné produkci.

V Itálii rostoucí poptávka po buvolí mozzarella, jak na národní, tak i mezinárodní úrovni, a díky mléčným kvótám na kravské mléko zřízených Evropskou Unií, vedla k nárůstu buvolí populace od roku 1993 do 2001 o 142 % (v porovnání s celosvětovým nárůstem o 7,8 % ve stejném čase) a nárůstu o 1600 % od roku 1957 do 2002 (Borghese & Mazzi 2005).

3.2 Mléko a jeho složení

Mléko je tekutina vylučovaná samicí všech savců, kterých je více než 4000 druhů po celém světě. Primární funkce mléka je splnění všech nutričních požadavků pro novorozence daného druhu. Kromě toho plní několik fyziologických funkcí pro novorozence. Většinu nenutričních funkcí plní proteiny a peptidy, které zahrnují imunoglobuliny, enzymy a inhibitory enzymů, vazebné nebo nosné proteiny, růstové faktory a antibakteriální látky (Fox et al. 2015).

Když je čas růstu kratší, tak je mléko více nutričně bohatší. Všechna mléka obsahují specifické proteiny, tuky, které jsou lehce stravitelné, laktózu, minerály, vitamíny a ostatní důležité komponenty, které můžou mít důležité role (Keenan & Patton 1995). Pro každý druh se také liší anatomie mléčné žlázy (Borghese et. al. 2007).

Buvolí mléko se používá stejně jako kravské mléko. Hodně lidí ho preferuje před buvolím mlékem. Velký podíl pevných látek včetně tuku mu dává bohatou chuť. V Egyptě je vysoká míra úmrtnosti buvolích telat částečně způsobena prodejem buvolího mléka, které je velmi žádané a telata tak nemají dostatek výživy. Buvoli jsou v Egyptě chováni hlavně pro produkci mléka. Buvolí mléko má v porovnání s mlékem kravským vyšší sušinu, je čistě bílé, neobsahuje téměř žádný karoten, neboť buvol je schopen karoten zpracovat na vitamin A (Soliman 2005).

Tabulka 3: Chemické složení buvolího mléka (Han et al. 2007)

Plemeno	Tuk %	Bílkoviny %	Laktóza %	Sušina %	pH	Popeloviny %
M	6,57±1,21	4,27±0,43	5,07±0,13	16,69±1,22	6,53±0,28	0,79±0,05
N	6,53±1,28	4,16±0,2	4,56±0,1	17,14±1,34	6,39±0,06	0,81±0,03
F _H	7,56±0,9	4,75±0,53	4,61±0,2	18,22±1,24	6,39±0,11	0,84±0,06
F ₂	7,9±1,3	5,1±0,45	4,64±0,54	19,21±1,56	6,6±0,26	0,85±0,05
F ₁	8,81±1,89	5,23±0,45	4,8±0,22	19,75±2,29	6,7±0,29	0,88±0,07
Průměr	7,59±1,31	4,86±0,44	4,74±0,2	18,44±1,56	6,65±0,13	0,85±0,05

M (Murrah), N (Nili-ravi), F₁, F₂-první a druhá generace kříženců říčního a bažinného F_H-několikanásobný kříženec

Buvolí mléko je bohatší na hlavní složky mléka, než je mléko mateřské, kravské, kozí a velbloudí. Kromě velké výživové hodnoty se ukázalo, že jedinci s alergií na kravské mléko dokážou tolerovat mléko buvolí. Buvolí mléko obsahuje skoro všechny prospěšné sloučeniny, které jsou obsaženy v ostatních mlékách, například bílkoviny, peptidy, mastné kyseliny, vitamíny a další bioaktivní sloučeniny. Buvolí mléko obsahuje více bílkovin, mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem, konjugované kyseliny linolové a vyšší obsah retinolu a tokoferolu než u kravského mléka. Některé komponenty jsou přítomny pouze u buvolího mléka, jako jsou specifické třídy gangliosidů (Berger et al. 2003).

Porovnání celkového složení buvolího a kravského mléka ukázalo, že mezi nimi existují velké rozdíly. Obsah dusíku, tuku, laktózy, popela a sušiny bylo vyšší u buvolího mléka, zatímco hodnoty pH byly stejné pro oba druhy (Ahmad et al. 2008).

Tabulka 4: Celkové složení buvolího a kravského mléka ($\bar{x} \pm SD$) (Ahmad et al. 2008)

	Buvolí mléko	Kravské mléko
pH	6,81±0,06	6,76±0,04
Tuk (g/kg)	70±6	41±1
Laktóza (g/kg)	52,1±1	48,0±0,1
Popeloviny (g/kg)	8,4±0,2	7,7±0,1
Celkový dusík (g/kg)	43,5±3,4	33,5±0,3
Nekaseinový dusík (g/kg)	8,9±1,6	7,4±0,5
Nebílkovinný dusík (g/kg)	1,0±0,4	0,9±0,02
Kaseinový dusík (g/kg)	34,6±1,1	26,1±0,8
Celkový vápník (mM)	47,1±1,2	30,5±0,8
Rozpustný Vápník (mM)	8,2±0,2	8,6±0,2
Celkový Fosfor (mM)	27,7±1,4	19,2±1,0
Rozpustný Fosfor (mM)	9,2±0,5	9,9±0,5
Celkový hořčík (mM)	7,3±0,2	4,6±0,1
Rozpustný hořčík (mM)	3,5±0,1	3,0±0,1
Celkový sodík (mM)	20,3±0,5	17,5±0,4
Rozpustný sodík (mM)	18,4±0,5	15,9±0,4
Celkový draslík (mM)	28,7±0,7	42,0±1,0
Rozpustný draslík (mM)	26,0±0,7	37,3±0,9
Celkový chlor (mM)	16,6±0,8	21,8±1,0
Rozpustný chlor (mM)	16,3±0,8	22,8±1,0
Celkový citrát (mM)	8,3±0,4	8,8±0,4
Rozpustný citrát (mM)	7,1±0,4	8,2±0,4
Sušina (g/kg)	174,5±8,2	136,7±10,8

3.2.1 Sacharidy

Hlavní sacharid v mléce je laktóza. Obecně mléko obsahuje stopová množství sacharidů, včetně glukózy (50 mg/l), fruktózy a glukozaminu, galaktozaminu, N-acetyl kyseliny neuraminové jako složka glykoproteinů a glykolipidů (Fox et al. 2015).

Laktóza tvoří velkou část komplexních oligosacharidů v mléce. Přispívají k růstu prospěšné střevní mikrobioty v tlustém střevě, postnatální stimulací imunitního systému a poskytují obranu proti bakteriálním a virovým infekcím tím, že působí jako kompetitivní inhibitory pro vazebná místa na povrchu střevního epitelu (Kunz et al. 2000). Bylo vysvětleno, že laktóza tvoří hlavní podíl koligativních vlastností mléka, jako je osmotický tlak, bod mrznutí a zvýšení bodu varu. Množství oligosacharidů v kravském, ovčím a kozím mléce je o mnoho nižší v porovnání s buvolím. Nízká koncentrace oligosacharidů v kravském mléce a v mlezivu znemožnila jejich utilizaci jako biologicky aktivní látky ve zdravotnictví a potravinářství, tento fakt otvírá nové možnosti buvolímu mléku, protože má srovnatelné hladiny oligosacharidů jako mateřské mléko. V poslední době se ukazuje velký zájem o výzkum ohledně potenciálu mléčných oligosacharidů v kojenecké výživě. V minulosti byl izolován pentasacharid

z oligosacharidů buvolího mléka, který obsahoval frakci s imunitní stimulační aktivitou (Ahmad et al. 2013a). Abd El -Fattah et al. (2012) zjistili, že při otelení se všechny složky sušiny snížily postupně během stání na sucho, s výjimkou laktózy, jejíž obsah se naopak v tomto období zvýšil. Mléčné oligosacharidy jsou rozděleny na neutrální (neobsahují žádné nabitě zbytky monosacharidů) a kyselé třídy (obsahují jeden, nebo více zbytků kyseliny sialové, které jsou nabitě záporně) (Gopal & Gill 2000).

3.2.1.1 Laktóza

Laktóza je disacharid složený z glukózy a galaktózy. Laktóza je velmi důležitý sacharid, který je obsažen v mateřském mléku a mléku jiných savců. Laktóza je cenná základní živina a je hlavním substrátem ve fermentačních procesech, které vedou ke vzniku mléčných výrobků, jako je jogurt či kefir (Adam et al. 2004). Není zcela jasné, proč musí existovat speciální sacharid v mléce. Jak je známo, laktóza nemá ve výživě dospělého člověka žádný zvláštní nutriční význam. Pro novorozené jedince to je nejdůležitější zdroj energie v počátcích života (Vesa et al. 2000). Koncentrace laktózy klesá progresivně a významně během laktace, toto chování kontrastuje s trendy lipidů a bílkovin, které po snížení během rané laktace silně vzrostou v druhé polovině laktace. Koncentrace laktózy v mléce nepřímo souvisí s koncentrací lipidů a proteinů (Fox et al. 2015). Laktóza může být v nějakých případech také problémem jako průvodce některých onemocnění, jako je laktózová intolerance a galaktosémie (Adam et al. 2004).

Buvolí mléko je bohatším zdrojem laktózy než kravské, kozí, ovčí a velbloudí mléko. Je to dobrý zdroj energie pro tělesné činnosti, zejména mozkové a hormonální regulace. Před tím, než může být využito jedincem, musí být vazba mezi glukózou a galaktózou rozštěpena enzymem laktázou v tenkém střevě. Lidé, kteří mají sníženou tvorbu laktázy v tenkém střevě, mohou mít problém s trávením laktózy a to se označuje jako laktózová intolerance, nebo malabsorpce. Vzhledem k vyšší koncentraci je pravděpodobnost takových problémů spíše při požití buvolího mléka, ale nebyly zaznamenány případy jako u kravského mléka, může to být způsobeno odlišným obsahem a rozložením laktózy než v buvolím mléce (Ahmad et al. 2013a).

3.2.1.1.1 Laktózová intolerance

Mezi fyziologické faktory, které ovlivňují množství trávení laktózy a její snášenlivost patří gastrointestinální tranzit, aktivita střevní laktázy, viscerální citlivost a přítomnost funkční poruchy střev a případně složení mikrobioty. Kromě toho faktory související se smyslovým a centrálním nervovým systémem modifikují vnímání symptomů. Vzhledem k těmto komplexním faktorům a jejich interakcím, není překvapivé, že existují inter- a intraindividuální rozdíly u příznaků intolerance laktózy (Vesa et al. 2000).

3.2.2 Mléčné bílkoviny

Výzkum mléčných bílkovin má dlouhou a ceněnou historii. První metodu separace kaseinu, převládající bílkovinu v kravském mléce, byla vymyšlena Braconnotem v roce 1830. Mulder v roce 1938 představil jako první pojem bílkovina, představil ji ve svém výzkumu, kde zkoumal mléko (Maier 1972).

Obsah bílkovin v buvolím mléce je vyšší než u krav. Ze všech bílkovin buvolího mléka je 80 % kaseinu a 20 % jsou syrovátkové proteiny se stopami minoritních bílkovin. Surovátkové bílkoviny jsou vyšší v mlezivu než ve zralém buvolím mléku (Ahmad et al. 2013a).

3.2.2.1 Kasein

Téměř veškerý kasein v buvolím mléce je přítomen ve formě micelární. Buvolí mléko obsahuje zanedbatelný podíl rozpustného kaseinu (0,003 g/100 ml) asi 1 % z celkového množství kaseinu, na rozdíl od kravského (0,11 g/100 ml) asi 5 % z celkového kaseinu. Kaseiny se v buvolím mléce dělí, stejně jako v mléce kravském na α_{s1} -, α_{s2} -, β - a κ - kasein (Ahmad et al. 2013a).

Kaseinové micely buvolů mají průměr okolo 190 nm (Ahmad 2010), které jsou o 10-20 nm větší než kaseinové micely v kravském mléce. Celkově micely buvolího mléka jsou globálně sférické a individuální. Vyšší koncentrace kaseinu v buvolím mléce, který je téměř 100 % v koloidní formě se zdá mít primární dopad na zvýšení počtu kaseinových micel a sekundární dopad na velikost (Ahmad et al. 2013a).

Nižší hydratace kaseinových micel ve srovnání s kravským mlékem může být způsobena kvůli jejich větší velikosti a vysoké koncentraci koloidního vápníku, takže je méně prostoru pro molekuly vody, které nemají místo se vstřípit. K pozorování strukturálních rozdílů a kompaktnosti kaseinových micel ve srovnání s kaseinovými micelami v ostatních mlékách, se lépe vysvětluje funkčnost a výživové vlastnosti jednotlivých kaseinů, než jako celek (Ahmad et al. 2013a).

Náboje mohou být způsobeny glykosylovanými částicemi, jež jsou přítomny na κ -kaseinu, přičemž bílkovina je přítomna na periférii kaseinových micel, což je podobné jako u kravského mléka (Ahmad 2010).

Neprůhlednost buvolých kaseinových micel je větší než u kravských kaseinových micel. Buvolí kasein obsahuje nižší podíly kyseliny sialové (2,0 mg/g kaseinu), hexózy (2,5 mg) a hexózaminu (1,8 mg), ale obsahuje ve větším poměru vápník (Sabarwal et al. 1972). Při ohřevu mléka se snižuje obsah kyseliny sialové, hexózy a hexózaminu. Všechny tři frakce buvolího mléčného kaseinu mají pomalejší pohyblivost než kasein z kravského mléka. Celkové podíly byly α_{s1} - 40,6 %, α_{s2} - 6-9 %, β - 35 % a κ - 12 %. Obsah dusíku a fosforu v α_{s1} kaseinu je asi 15 % dusíku a 0,1 % fosforu. Aminokyselinové složení buvolího a kravského α_{s1} kaseinu je podobný. Buvolí κ -kasein je heterogenní s osmi sub-frakcemi, které jsou si podobné v obsahu fosforu, ale odlišné v obsahu sacharidů. Složení aminokyselin v buvolím κ -kaseinu je srovnatelné s kravským mlékem, ale je chudší na kyselinu sialovou. Celkově 95 % homologie existuje

v aminokyselinových sekvencích všech kaseinových tříd mezi kravským a buvolím mlékem (Ahmad et al. 2013a).

3.2.2.2 Syrovátkové bílkoviny

Podíl syrovátkových bílkovin v buvolím mléce je podobné tomu v kravském a aminokyselinové složení buvolího β -laktoglobulinu (β -LG) je totožné s kravským mlékem, kromě toho nevykazuje žádné genetické polymorfismy. Buvolí a kravský α -laktalbumin mají stejnou krystalickou formu a podobný obsah dusíku. Buvolí α -laktalbumin má jednu hlavní a tři menší frakce, ale všechny jsou aktivní při modifikaci aktivity galaktosyltransferázy při syntéze laktózy. Koncentrace imunoglobulinů je dosti vysoká v buvolím mlezivu, kde byly identifikovány 4 třídy (IgGA, IgA1, IgA2 a IgM). Obsah laktoferinu v buvolím mléce je mnohem vyšší než v kravském (Sahai 1996).

3.2.3 Minerální látky

Bylo zjištěno, že buvolí mléko obsahuje více minerálních látek než kravské mléko. Chemická forma, ve které jsou makro prvky a stopové prvky, které se nachází v mléce, nebo v jiných potravinách nebo doplňcích stravy, je velmi důležitá, protože dost ovlivňuje stupeň absorpce a utilizace ve střevě, transport, buněčnou asimilaci a přeměnu na aktivní formy a biologickou dostupnost. Buvolí mléko se vyznačuje vysokým obsahem vápníku, má vyšší obsah než kravské, kozí a velbloudí mléko. Většina vápníku se nachází v nerozpustné formě, kvůli vysokému obsahu kaseinu, který má velký význam, díky kterým je buvolí mléko jedinečné. Na základě dostupných údajů nerozpustný vápník představuje 67,6-82,6 % celkového vápníku. Odhaduje se, že v buvolím mléce je 4,5 % micelárního vápníku v kaseinu ve srovnání s 3,4 % v kaseinu v kravském mléce (Ahmad et al. 2008). Ionizovatelný vápník z buvolího mléka představuje 34,6 % rozpustného vápníku. Buvolí mléko je také bohaté na obsah fosforu. Fosfor je rozdělen mezi koloidní anorganický fosfát (42,4 % z celkového množství), rozpustný anorganický fosfát (30,0 % z celkového množství) a estery fosforu (9,2 % z celkového množství). Rozpustný hořčík představuje 50 % celkového hořčíku a rozpustný citrát představuje 85 % celkového citrátu, zatímco sodík, draslík a chlorid jsou téměř úplně přítomné jako rozpustné soli (Ahmad et al. 2013a).

Velká variabilita koncentrací stopových prvků v buvolím mléce odráží rozdílnou proměnnou složení mléka a použité metody analýzy. Obsahu zinku, železa a mědi byla věnována zvláštní pozornost. Bór se nachází v buvolím mléce jako 44,8 % rozpustný, 37,6 % spojený s tukem a 17,6 % spojený s kaseinem. Takto rozložen je i zinek, který je z 18 % rozpustný, ze 72 % spojený s tukem a 10 % je spojeno s kaseinem. Železo v mléce je z 36,5 % rozpustné, z 42,5 % je spojené s tukem a z 10 % spojené s kaseinem, tento prvek je nejvíce zastoupen ve smetaně. Při sekreci jsou některé stopové prvky ovlivňovány hormonálně. Například oxytocin zvyšuje hladinu mědi a manganu a snižuje obsah hořčíku, železa a zinku, na koncentraci vápníku nemá vliv (Ahmad et al. 2013a).

3.2.4 Mléčný tuk

Hlavní funkcí lipidů, je sloužit jako zdroj energie pro novorozence a obsah tuku v mléce do značné míry odráží energetické požadavky druhů, například suchozemská zvířata pocházející z chladného prostředí a mořští savci vylučují vysokou hladinu lipidů ve svém mléce. Mléčný tuk je také důležitý jako zdroj esenciálních mastných kyselin (tj. mastných kyselin, které nemohou syntetizovat vyšší živočichové, zejména kyselinu linolovou, C18:2) (Fox et al. 2015). V neposlední řadě mléčný tuk také dodává chuť (Mihaylova & Peeva 2007). Díky své široké škále mastných kyselin je chuť mléčného tuku lepší než chuť ostatních tuků. V některých produktech a po určitých procesech slouží mastné kyseliny jako prekurzory sensoricky aktivních sloučenin, jako jsou methylketony a laktony. Lipidy bohužel také slouží jako prekurzory sloučenin, které způsobují vady chuti (hydrolytické a oxidační žluknutí). Lipidy fungují jako rozpouštědlo pro sloučeniny v prostředí, které mohou způsobit nežádoucí aroma (Fox et al. 2015).

Až donedávna byla ekonomická hodnota mléka založena převážně nebo úplně na obsahu tuku, což v některých případech stále platí. Tato praxe byla uspokojivá, když se mléko používalo hlavně nebo výhradně k výrobě másla. Důvodem pro platbu za mléko na základě jeho obsahu tuku, kromě hodnoty pro produkci másla, je pravděpodobně to, že pro tuk byly vyvinuty relativně jednoduché kvantitativní analytické metody dříve než pro bílkoviny, nebo laktózu (Fox et al. 2015).

Triacylglyceroly představují 97-98 % celkových lipidů v mléce. Diglyceridy pravděpodobně představují ve většině případů neúplně syntetizované lipidy. Ačkoliv fosfolipidy představují méně jak 1 % obsahu všech lipidů, hrají obzvláště důležitou roli, jsou přítomny v membránách mléčného tuku a jiném membránovém materiálu v mléce. Hlavními fosfolipidy jsou fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin a sfingomyelin. Je také přítomno stopové množství jiných polárních lipidů, včetně aramidů, cerebrosidů a gangliosidů. Fosfolipidy představují značnou část celkového množství lipidů v podmásle a odstředěného mléka, což odráží přítomnost úměrně většího množství membránového materiálu v těchto výrobcích (Fox et al. 2015).

Buvolí mléko je téměř dvakrát tak bohaté na tuky než ve srovnání s kravským mlékem, tuk je nejdůležitější frakcí zodpovědný za jeho vysokou energetickou a výživovou hodnotu. Buvolí mléko má průměrné množství tuku okolo 8,3 %, ale může také dosáhnout až 15 % za normálních podmínek. Výtěžnost tuku tedy je $90,1 \pm 24,6 \text{ g.kg}^{-1}$ (Ahmad et al. 2013a).

3.2.4.1 Složky související s tuky

Složení mastných kyselin u buvolího mléčného tuku se liší od složení v kravském mléčném tuku. Někteří vědci uvádějí změny v obsahu mastných kyselin buvolího mléka jako vlastnost plemene, v jaké jsou laktační fázi, jaká je sezóna a podle složení krmiva. Rozdíly ve složení tuku a koncentraci mastných kyselin nejsou přítomny jen mezi druhy, ale také uvnitř druhu, tj. mezi plemeny buvolů. (Ahmad et al. 2013a). Talpur et al. (2006) studovali hlavní dvě plemena v Pákistánu, tj. Nili-Ravi a Khundi na tuk. Bylo zjištěno, že mléčný tuk buvola Kundi

obsahuje výrazně nižší množství nasycených mastných kyselin než buvoli Nili-Ravi (66,96 % a 69,09 %) a celkové transmastné kyseliny (3,48 % vs 2,48 %). V jiné studii se zjistilo, že mléčné plemeno buvola Nili-Ravi produkuje mléko, které je velmi podobné mléku, které produkují mléčná plemena skotu a podobají se ve složení kardioprotektivních mastných kyselin s nejvyšší koncentrací kyseliny olejové (C18:1 cis-9, 29,47 g/100 g). Dvě hypercholesterolemické mastné kyseliny (C12:0 a C14:0) byly spojeny s větší stavbou těla. Poměry mastných kyselin C4, C16, C17 a C18 (FA) jsou vyšší, ale mastné kyseliny C6, C8, C10, C12, C14 a C14:1 jsou obsaženy méně v buvolím, než v kravském mléku. Buvolí mléčný tuk má větší podíl triglyceridů s vysokou teplotou tání než tuky v kravském mléce. Frakce triglyceridů s vysokou teplotou tání obsahují méně nenasycených mastných kyselin s krátkým řetězcem. Obsah vysoko, středně a nízkomolekulárního triglyceridů v buvolím mléce je 42 %, 17 % a 41 % z celkového počtu. Buvolí mléčný tuk obsahuje více tetraenových a pentanových, zato méně dienových a trienových mastných kyselin, než tuk z kravského mléka. Buvolí mléčný tuk má vyšší teplotu tání, hustotu, měrnou hmotnost a hodnotu zmýdelnění, ale nižší index lomu, hodnota aktivní kyselosti a jódového čísla než tuk v kravském mléce, i když jsou ovlivněny fází laktace, sezónou, krmivem a tepelnou oxidací. Buvolí mléko a ghí obsahují méně volných mastných kyselin, než ghí a mléko od krav (Ahmad et al. 2013a).

Hladiny cholesterolu (celkový a volný) v buvolím mléčném tuku jsou nižší než v kravském mléčném tuku. Mlezivo a mastitidní mléko obsahuje více cholesterolu než klasické mléko. Esterifikovaný cholesterol byl však vyšší u buvolího než u kravského mléka (64 a 48 mg/100 g). Obsah fosfolipidů v mléce je funkcí obsahu tuku a velikosti tukových kuliček. Obsah fosfolipidů v buvolím mléce je vyšší v letním období (29,6 mg/ml) než v zimním období (24,7 mg/ml). Obsah fosfolipidů v buvolím mléce, máslu a ghí v jednom gramu tuku je mnohem nižší než v jednom gramu tuku kravského mléka. V buvolím mléce jsou obsaženy gangliosidy, které nejsou přítomny v kravském mléku (Berger et al. 2003). Lipolytické gangliosidy z buvolího mléka mají protizánětlivé vlastnosti. Mléčný tuk obsahuje širokou škálu sloučenin karbonylu a jejich prekurzory keto-glyceridy jsou součástí jemného chuťového systému mléčného tuku (Ahmad et al. 2013a).

3.2.4.2 Mastné kyseliny a jejich vliv na zdraví

V USA se přijme okolo 24 % nasycených mastných kyselin právě z mléčných výrobků (mimo másla), zatímco v Evropě je to 25-30 %. Dogma, že by konzumace nasycených mastných kyselin (SFA) měla být minimalizována, aby se snížilo riziko metabolického syndromu a kardiovaskulárních onemocnění, dominuje výživovým doporučením po celá desetiletí a vysoký obsah SFA v mléčném tuku (asi dvě třetiny veškerých mastných kyselin) se používá jako argument v dnešní době pro spojování spotřeby mléčných výrobků a zvýšeným výskytem těchto patologických stavů. Nedávné vědecké studie však nedávají důvod pro zachování těchto dogmat. Aktuální výzkum nepodporuje souvislost mezi biomarkery příjmu mléčného tuku s rizikem cukrovky nebo kardiovaskulárních chorob (Gómez-Cortés et al. 2018).

V minulosti se považovalo, že příjem kyseliny laurové, kyseliny myristové a kyseliny palmitové se zdá být nezdravý v nadměrném množství. Nicméně záleží také, v jakém matrixu

jsou tyto SFA obsaženy, protože to může ovlivnit zdravotní výsledek. Nedávné studie ukázaly, že několik komponentů v matrixu, hlavně vápník, peptidy, fosfor a membrány tukových kuliček, modifikují reakci krevních lipidů (např. cholesterol) na příjem SFA. Výsledkem studií bylo to, že tyto mastné kyseliny byly považovány za hypercholesterolemické (C12:0, C14:0 a C16:0) a nebudou mít žádný dopad na kardiovaskulární zdraví, pokud jsou podávány v mléčné matrixi. Na druhou stranu je taky prokázáno, že sacharidy ve stravě regulují syntézu a metabolismus nasycených mastných kyselin (Gómez-Cortés et al. 2018).

Mléčný tuk je přirozeným a téměř výlučným zdrojem některých mastných kyselin s potencionálními benefity pro lidské zdraví. Některé mastné kyseliny nejsou ve významnějším množství jinde, než právě v mléčných výrobcích a právě nízkotučné, nebo odtučněné výrobky limitují jejich příjem. Například je mléčný tuk téměř jediným zdrojem kyseliny máselné (C4:0), CLA, stejně jako mastných kyselin s rozvětveným řetězcem, v lidské výživě. Ačkoliv tyto mastné kyseliny tvoří pouze malé procento mléčného tuku, tak i malá množství mohou být stále biologicky relevantní, buď samostatně, nebo v mléčné matrixi (Kratz et al. 2013).

3.2.4.2.1 Krátké a středně dlouhé mastné kyseliny

SFA s počtem 2-6 uhlíků v řetězci jsou klasifikovány jako krátké nasycené mastné kyseliny (SCSFA), zatímco ty, které mají 7-12 uhlíků v řetězci, jsou definovány jako středně dlouhé nasycené mastné kyseliny (MCSFA). SCSFA a MCSFA jsou lehce stravitelné a mají nízkou tendenci být ukládány v tukové tkáni (Schönfeld & Wojtczak 2016).

Mléčný tuk je hlavním zdrojem SCSFA v lidské výživě, ostatní potraviny, včetně masa přežvýkavců, obsahují spíše SFA s dlouhým řetězcem. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem mohou vyvíjet antimikrobiální aktivitu a ovlivňovat patogenezu různých nemocí. Kyselina máselná je nejdůležitější z SCSFA v mléčných výrobcích a vykonává více funkcí v lidském organismu. Kyselina máselná je primárním zdrojem energie pro buňky ve střevním epitelu a hraje zásadní roli při udržování homeostázy a zdraví tlustého střeva. Dále také má důležité poslání a to zachování fyziologické funkce sliznice tlustého střeva (bariéra tvořená muciny), která je považována za první linii obrany v boji proti patogenům a škodlivým látkám. Sekrece mucinu pozitivně ovlivňuje adhezi probiotik, jako jsou bifidobakterie a laktobacily, zatímco inhibuje začlenění patogenních bakterií. Přítomnost kyseliny máselné stimuluje produkci mucinů prostřednictvím regulace genové exprese, která je prospěšná pro adhezi mikrobioty na vrstvu hlenu. Nízká koncentrace kyseliny máselné může inhibovat v širokém rozsahu růst rakovinotvorných buněk a to zejména v tlustém střevě, ale je třeba poznamenat, že tyto vlastnosti má ve spojení s jinými sloučeninami ze střevní mikrobioty a vlákninou.

Na rozdíl od SCSFA jsou MCSFA esterifikovány v jiných polohách, které by pomohly vysvětlit odpověď lidského organismu na ně. Obsah MCSFA ve stravě souvisí s potlačením ukládání tuku prostřednictvím termogeneze a oxidace tuků. Konzumace MCSFA má také za následek pozitivní účinky při regulaci hmotnosti a metabolismu lipidů (Gómez-Cortés et al. 2018). Bohl et al. (2017) uvádí, že obézním dospělým, kteří konzumují mléčné výrobky s přírodním obsahem MCSFA, se zvýšil obsah svalové hmoty, která by chránila před ukládáním

tuků, ale nebyly pozorovány žádné změny v inzulínové rezistenci, krevním tlaku, nebo koncentraci cholesterolu (Gómez-Cortés et al. 2018).

3.2.4.2.2 Nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem

Důležitá část lipidů, které jsou obsaženy v mléčném tuku, jsou nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCSFA) s více než 12 atomy uhlíku, které se přednostně ukládají jako tělesný tuk. Z kvantitativního hlediska se tři ze čtyř nejhojnějších mastných kyselin v mléčných výrobcích řadí mezi LCSFA, je to kyselina myristová, kyselina palmitová a kyselina stearová. Jak je zmíněno výše, ukládání tuků je ovlivněno množstvím jednoduchých sacharidů ve stravě, proto dopad LCSFA je úzce spjatý s rovnováhou mezi příjmem sacharidů a tuků (Ruiz-Núñez et al. 2016).

Další metabolické funkce jsou vyvíjeny pomocí kyseliny myristové, která zlepšuje parametry kardiovaskulárního zdraví. Menší příjem kyseliny myristové z mléčných výrobků, která se hlavně nachází v pozici sn-2 triacylglycerolu (TAG), zvyšuje hladinu omega-3 mastných kyselin s dlouhým řetězcem (kyselina eikosapentaenová a kyselina dokosaheptaenová) v plazmatické membráně fosfolipidů. Další výzkum naznačil, že kyselina myristová z mléčného tuku ovlivňuje biomarkery tuku zvýšením HDL (lipoprotein s vysokou hustotou) cholesterolu a snížením hladin TAG, zatímco hladiny LDL (lipoprotein s nízkou hustotou) nejsou ovlivněny. S přihlédnutím na nejnovější poznaty a oblasti účinků SFA z mléčného tuku, by byl znepokojivý pouze nadbytek kyseliny palmitové ve stravě (více než 8-10 % denní energie), protože ovlivňuje hladinu cholesterolu a riziko kardiovaskulárních onemocnění (Gómez-Cortés et al. 2018).

Účinky kyseliny stearové (18:0), která reprezentuje okolo 10 % veškerých mastných kyselin v mléčném tuku, více souvisí s kyselinou olejovou (cis-9 C18:1) než s ostatními SFA. Kyselina olejová je druhou nejčastější mastnou kyselinou v mléčném tuku, což představuje 15-25 % z veškerých mastných kyselin. Je dobře známá jako antiaterogenní prostředek a podporuje pozitivní účinky na lidské zdraví (Gómez-Cortés et al. 2018).

3.2.4.2.3 Nasycené mastné kyseliny s rozvětveným řetězcem

Nasycené mastné kyseliny s rozvětveným řetězcem (BCSFA) jsou hlavním lipidem v bakteriálních membránách a jsou obsaženy v mléce v důsledku působení bachorových bakterií, BCSFA tvoří asi 2 % všech mastných kyselin v mléčném tuku. Nejčastěji zastoupené BCSFA jsou *iso*-C16:0, *anteiso*-C15:0, *iso*-C17:0 a *anteiso*-C17:0, ale jsou nalézány i jiné BCSFA v nižších koncentracích. BCSFA jsou hlavně v mléčných výrobcích a chybí v rybách, kuřecím a vepřovém mase (Gómez-Cortés et al. 2018).

BCSFA jsou pro lidské tkáň vzácné, ale jsou to důležité bioaktivní látky a mají zásadní roli ve střevech. BCSFA jsou hlavním komponentem ve střevech novorozeňat. Vernix, který je voskový povlak na kůži novorozeňat, je složen asi z 30 % BCSFA. Vernix v plodové vodě je normálně pohlcen plodem, tím více čím se blíží porod, a vystavuje střeva plodu právě těmto BCSFA. Proto gastrointestinální trakt novorozence obsahuje BCSFA, což naznačuje, že tyto mastné kyseliny převzaté z vernixu podporují kolonizaci specifických mikroorganismů ve střevech (Gómez-Cortés et al. 2018).

Kromě příznivých účinků na střevní mikrobiotu, byly prokázány u BCSFA také pozitivní účinky proti několika chronickým onemocněním. Indikují apoptózu v buňkách, které tvoří rakovinu prsu a inhibují růst nádorových buněk (Gómez-Cortés et al. 2018). Cai et al. (2013) uvedli, že *iso*-C15:0 má inhibiční účinky na T-buněčné lymfomy *in vivo* u myši. Mika et al. (2016) zjistili, že nízký obsah *iso*-BCSFA může přispět ke zvýšení hladin TGA v séru u obézních jedinců, zatímco Yan et al. (2017) poprvé prokázali redukci zánětlivých markerů působením BCSFA v lidských buňkách.

3.2.4.2.4 Nasycené mastné kyseliny s lichým počtem atomů uhlíků

Další skupinou SFA, která je obsažena v mléčných výrobcích, jsou nasycené mastné kyseliny s lichým počtem atomů uhlíků (OCSFA). Nejvíce zastoupené FA jsou kyselina pentadekanová (C15:0) a kyselina heptadekanová (C17:0) jejichž součet je odhadem 1,5 % z celkového množství mléčného tuku a jsou právě používány jako jeho indikátory příjmu. Tyto FA mohou být endogenně syntetizovány pomocí α -oxidace a působí pozitivně v lidském těle. Několik studií jasně ukázalo inverzní asociaci mezi koncentrací C15:0 a C17:0 v plazmatických membránách tvořených z fosfolipidů a rizikem diabetu 2. typu. Další studie ukázaly vliv na kardiovaskulární nemoci a patologické stavy, kdy plazmatické koncentrace OCSFA jsou spojeny s nižším rizikem těchto onemocnění (Gómez-Cortés et al. 2018).

3.2.4.2.5 Trans mastné kyseliny

V roce 1990 společnost Mensink & Katan poprvé popsala nárůst hladiny celkového obsahu LDL cholesterolu v séru se současným poklesem HDL cholesterolu díky bohaté stravě na trans mastné kyseliny (TFA). Od té doby řada klinických studií potvrdila to, že TFA jsou zodpovědné za zvýšené riziko srdečního onemocnění více než jakákoli jiná makroživina ve srovnání s ostatními. Největší nevýhoda TFA spočívá ve schopnosti narušovat membrány buněk. Složení FA má zásadní vliv na tekutost membrány. Tekutost definuje, do jaké míry jsou molekuly transportovány a v jaké míře mohou být přenášeny buněčné signály přes membránu. Tento fakt široce ukazuje metabolické důsledky v tělesných funkcích a ve vývoji kardiovaskulárních nemocí (Gómez-Cortés et al. 2018).

Hlavním zdrojem TFA v lidské výživě byly částečně hydrogenované rostlinné oleje nebo tuky (PHVO), ale také se přirozeně vyskytují v potravinách z přežvýkavců v důsledku částečné biohydrogenace PUFA bachorovými mikroorganismy. Mnoho vědeckých důkazů poukázalo na nepříznivé účinky TFA z průmyslových PHVO na kardiovaskulární nemoci. Průměrně je obsah TFA v mléce okolo 5 % z celkového FA a dnes je denní energetický příjem TFA obecně celosvětově pod 1 %. Monoeny s 18 atomy uhlíku jsou nejvýznamnější TFA v lidské výživě. Během průmyslové hydrogenace rostlinných olejů nebo tuků, široká škála mononenasycených TFA jsou generovány a hlavní isomery jsou *trans*-9 18:1 (kyselina elaidová) a *trans*-10 18:1. Naopak hlavní TFA v mléčném tuku je kyselina vakcenová (*trans*-11 C18:1, VA) a její obsah může být ovlivněn režimem krmení zvířat. Při konvenčním krmení přežvýkavců je obsah VA v mléce přibližně 40-50 % z celkového množství tuků. Konzumace mléčného tuku představuje

velmi malý příjem *trans*-9 a *trans*-10 C18:1 isomerů, zatímco je to dostatečným zdrojem VA, který je často označován za „přírodní TFA“ (Gómez-Cortés et al. 2018).

Trans MUFA isomery, mimo C18:1, mohou být také nalezeny ve stopovém množství, ale jejich působení na lidské zdraví není příliš známo. Pouze *trans*-9 C16:1, přírodní biomarker mléčného tuku, byl více prozkoumán. Tento isomer C16:1 byl nepřímo spojen s výskytem diabetu, úmrtností související s kardiovaskulárním onemocněním a náhlou srdeční smrtí (Gómez-Cortés et al. 2018).

3.2.4.2.6 Konjugovaná kyselina linolová

Zájem o nutričně hodnotnější mléčné výrobky z buvolího mléka mírně roste, kvůli vyšší koncentraci bílkovin, tuku, laktózy, minerálů a vitamínů než v kravském mléce. Kromě toho může být buvolí mléko a produkty z něj získané dobrým zdrojem konjugované kyseliny linolové (CLA) pro člověka. CLA odkazuje na skupinu polynenasycených mastných kyselin (PUFA), které existují jako polohové a stereoisomery konjugované kyseliny linolové (C18:2). Převládajícím isomerem v potravinách je *cis*-9, *trans*-11-CLA, která se také nazývá kyselina rumenová a *trans*-10, *cis*-12-CLA kyselina linolová, která se nachází především ve výrobcích obsahující hovězí maso nebo mléčné výrobky. Syntetické směsi CLA lze také považovat jako za doplňky výživy a jsou složeny převážně z isomerů *cis*-9, *trans*-11-CLA a *trans*-10, *cis*-12-CLA isomery. Skupině CLA byla připsána řada potencionálních fyziologických účinků, včetně těch, které souvisejí s jejími antiadipogenními, antidiabetickými, antikarcinogenními a aniaterosklerotickými vlastnostmi (Gómez-Cortés et al. 2018; Tonhati et al. 2011).

3.2.4.2.6.1 Vliv na složení mléčného tuku

Obsah CLA je mnohem vyšší v potravinách pocházejících z přežvýkavců než v potravinách nepřežvýkavců a vyšší obsah CLA byl zaznamenán v mléce než v mase, a to díky schopnosti přežvýkavců biohydrogenovat dietní nenasycené mastné kyseliny pomocí bakterií přítomných v batoru. V mléčných výrobcích se koncentrace CLA obvykle pohybuje od 2,9 do 8,92 mg CLA/g tuku a *cis*9, *trans*11 CLA isomery tvoří mezi 73-93 % celkového CLA. Obsah CLA v kravském mléce se pohybuje od 3,38 do 6,39 mg CLA/g tuku. Množství CLA nalezené v mléčných výrobcích a v hovězím mase je přímým odrazem stravy, kterou jsou zvířata krmena. Obsah CLA se lineárně zvyšuje, když jsou zvířata pasena a klesá, když se snižuje příjem trávy. Obsah CLA v mléčném tuku může být ovlivněn krměním některým typem doplňku stravy a také je proměnlivý po celý rok. Podávání krmné dávky, která obsahuje kukuřičný olej nebo slunečnicový olej, obsahující polynenasycené mastné kyseliny, podstatně zvyšuje obsah CLA v mléčném tuku. (Han et al. 2012).

Tabulka 5: Obsah mastných kyselin (mg/g) v průběhu roku ($\bar{x} \pm SD$) (Han et al. 2012)

	Mastné kyseliny												Průměr
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
C10:0	7,5±0,0	13,0±0,2	12,6±0,5	7,3±0,3	5,4±0,2	6,3±0,0	5,5±0,2	6,0±0,0	4,6±0,1	12,5±0,1	19,2±0,1	11,0±0,1	9,24
C12:0	16,9±0,2	20,5±0,3	19,8±0,6	15,6±0,0	16,0±0,2	15,1±0,4	17,6±0,0	20,4±0,3	17,0±0,1	23,9±0,1	30,3±0,2	22,8±0,1	19,66
C14:0	80,1±0,1	88,2±0,4	84,4±0,5	69,5±0,6	75,0±0,2	79,0±0,6	91,5±0,1	106,0±1,1	85,0±0,0	94,0±0,2	114,4±0,4	90,0±0,2	88,09
C14:1	5,6±0,6	4,6±0,0	4,6±0,1	4,0±0,1	4,4±0,1	4,0±0,1	3,2±0,1	4,6±0,0	4,2±0,0	5,1±0,1	6,9±0,0	5,6±0,0	4,73
C15:0	10,8±0,6	11,2±0,0	9,8±0,0	8,7±0,2	8,8±0,0	8,9±0,1	9,2±0,1	10,2±0,3	9,7±0,0	9,1±0,1	11,7±0,0	9,9±0,0	9,83
C16:0	210,0±1,6	228,5±2,6	255,2±3,0	190,2±5,3	207,4±1,9	215,5±0,9	256,4±1,7	316,0±11,0	234,8±0,7	243,1±0,8	287,4±0,8	228,3±1,5	239,4
C16:1	10,4±0,0	10,3±0,0	10,5±0,8	8,8±0,2	9,9±0,1	8,3±0,0	12,7±0,3	11,2±0,1	9,8±0,0	10,4±0,1	14,0±0,1	11,9±0,7	10,68
C17:0	4,6±0,0	5,5±0,1	4,7±0,0	4,1±0,0	3,9±0,2	4,5±0,1	5,08±0,1	5,8±1,5	4,4±0,1	4,1±0,1	4,9±0,1	4,3±0,1	4,66
C18:0	108,6±1,3	122,4±1,2	127,0±2,7	110,4±3,4	111,3±1,8	109,7±1,5	111,5±0,8	111,3±3,7	91,3±0,1	99,2±0,5	105,7±0,3	93,3±1,0	108,48
C18:1	190,5±1,4	198,4±1,6	198,2±2,5	174,3±4,3	187,6±4,0	173,5±2,5	165,4±1,2	162,5±5,8	142,2±0,1	152,0±1,0	183,3±3,8	158,4±1,8	173,86
C18:2	12,2±0,1	11,4±0,1	12,8±0,5	11,2±0,5	13,3±0,2	9,5±0,0	9,3±0,0	10,7±0,3	11,3±0,8	12,3±0,1	11,7±0,1	10,3±0,1	11,33
CLA	6,2±0,1	6,2±0,1	4,9±0,4	6,2±0,1	6,6±0,1	7,6±0,1	4,7±0,1	4,8±0,2	4,4±0,0	5,9±0,0	5,9±0,1	5,5±0,1	5,91
C18:3	3,1±0,0	4,0±0,0	3,3±0,3	2,8±0,1	3,6±0,4	3,3±0,1	3,7±0,0	3,3±0,1	3,1±0,0	4,3±0,1	3,0±0,0	2,9±0,0	3,37

3.2.5 Vitamíny

Buvolí mléko obsahuje pouze stopové množství karotenu, ale vyšší obsah vitamínu A než kravské mléko. V různých ročních obdobích se mění koncentrace karotenu a vitamínu A v mléce. Kvůli absenci karotenoidů a vysokému obsahu tuku, je celková účinnost vitamínu A na jednotku hmotnosti tuku nižší než účinnost karotenoidů v kravském mléce. Buvoli mají, díky zkrmování bavňkových semen, zvýšený obsah vitamínu A v mléčném tuku. Záhřevem mléka dochází k poklesu obsahu vitamínu A (Sharma et al. 2007). Buvolí mléko také obsahuje vysoké hladiny přírodního antioxidantu tokoferolu (Ahmad et al. 2013a).

Několik studií uvádí, že buvolí mléko obsahuje více kyseliny askorbové (vitamin C) než kravské mléko. Obsah thiaminu v buvolím mléce se pohybuje od 38,7 do 53,0 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Také obsahuje méně riboflavinu než kravské mléko a riboflavin jak v mléce kravském, tak i buvolím výrazně klesá při vystavení slunečního záření, zatímco fluorescenční světlo má menší účinek. Buvolí mléko obsahuje průměrně 158,8 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ riboflavinu (rozmezí je 146,4 až 183 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ na jetelové a ovesné stravě. Buvolí mléko pocházející z indických plemen obsahuje mnohem méně kyseliny listové než kravské a kozí mléko. Vázaný a celkový folát se snížil z 22,7 a 54,7 ng/ml první den po otelení na 18,2 a 37,8 ng/ml . Průměrný obsah niacinu, biotinu a B12 v buvolím mléce je 1,3 $\text{mg}/100\text{ g}$, 6,7 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ a 1,9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ sušiny. Buvolí mléko obsahuje čtyřnásobně více vitamínu B12 (21,7 ppb) ve srovnání s kravským mlékem (4,9 ppb) (Sharma et al. 2007).

Syrové buvolí mléko obsahovalo více riboflavinu, B6 a kyseliny listové a méně thiaminu než syrové kravské mléko. Tepelným ošetřením mléka dojde ke snížení 7-37 % thiaminu, 8,35 % B6, 8-45 % kyseliny listové a 0,4-4 % riboflavinu. Ztráty všech vitamínů byly vyšší u kravského mléka než u buvolího. Ztráty byly nižší při pasterizaci, než při mikrovlném ohřevu, nebo konvenčním varu a sterilizaci v láhvi. Peroxidázová aktivita je obvykle 2–4krát vyšší než u kravského mléka (Ahmad et al. 2013a).

3.2.6 Enzymy

Mléko obsahuje řadu minoritních bílkovin, které mají fyziologické účinky. Tyto minoritní bílkoviny zahrnují enzymy, bílkoviny vázající kovy, inihobotry enzymů, bílkoviny vázající vitaminy a četné růstové faktory. Například lysozym je základní bílkovina s nízkou molekulovou hmotností a důležitá složka antibakteriálního systému v mléce. Buvolí mléko obsahuje pětikrát více lysozymové aktivity než zralé kravské mléko. Lysozym v buvolím mléce je aktivní v celém rozsahu pH a jeho aktivitu silně ovlivňuje molarita média. Aktivita lysozymu není ovlivněna paritou ani stádiem laktace. Ahmad et. al. (2013a) uvádějí, že během zimních a letních extrémů se zvýšila koncentrace lysozymu. Vyšší aktivita lysozymu v buvolím mléce je pravděpodobně jedním z faktorů zodpovědných za menší výskyt infekcí vemene u buvolů. Tele buvola získá mlezivem během prvních několika dní po narození větší množství lysozymu, který vykazuje

pětkrát větší aktivitu než ve zralém mléce. Jeden z hlavních účinků je prevence před enterickými infekcemi (Ahmad et al. 2013a). Lysozym našel uplatnění v potravinách jako konzervant. Vaječný lysozym se již úspěšně používá jako antimikrobiální látka v mnoha potravinách, zejména v sýrech (Benkerroum 2008). Lysozym v buvolím mléce je během skladování a při tepelném zpracování stabilnější než v kravském mléce. Laktoperoxidáza byla důkladně prostudována v buvolím mléce. Vědci zjistili, že laktoperoxidáza je stabilnější v syrovátce. Laktoperoxidáza je nejhojnější enzym v buvolím mléce, má také antimikrobiální vlastnosti a díky nim se používá pro své bakteriostatické a baktericidní vlastnosti. Má široké využití ve spoustě komerčních aplikací, zejména zaměřených na patogeny v dutině ústní. U buvolů se aktivita xanthinoxidázy v mlezivu postupně zvyšuje a poté klesá s přechodem na sekreci mléka. Xanthinoxidáza je negativně korelována s obsahem tuku v mléce. Činnost částečně oxidované xanthinoxidázy z globulí z buvolího mléčného tuku byla optimální při pH 7,6. V přítomnosti fosfolipidů, zejména fosfatidylserinu a fosfatidylinositolu je v závislosti na teplotě inaktivace xanthinoxidázy snížena, což naznačuje, že fosfolipidy mají ochranný účinek pro xanthinoxidázu (Ahmad et al. 2013a).

3.3 Plynová chromatografie

Chromatografie vznikla na přelomu tisíciletí, když Ramsey (1905) odseparoval směs plynů a par na absorbentu, kterým bylo dřevěné uhlí a Michael Tswett (1906) separoval rostlinné pigmenty pomocí kapalinové chromatografie. Tswettovi je připisován titul „otec chromatografie“, protože zavedl termín chromatografie (doslova to znamená „barvopis“) a vědecky popsal tento proces. V dnešní době většina chromatografických analýz jsou vyhodnocovány nebarevně (McNair et. al. 2019).

3.3.1 Složení chromatografu

Plynový chromatograf (GC) je složen z několika následujících hlavních částí:

- Zdroj nosného plynu, který zajišťuje kontinuální průtok mobilní fáze skrz kolonu. Od té doby, kdy mobilní fáze přenesou vzorek skrz kolonu, se často nazývá nosný plyn. Nejčastěji se používá jako nosný plyn helium, vodík a dusík.
- Injektor je zařízení, které zavádí plynný, nebo kapalnou vzorek do hlavy kolony. Plynné vzorky jsou běžně vstříkovány plynotěsnou stříkačkou, nebo plynovými ventily, zatímco kapalnou vzorky jsou zavedeny mikrolitrovou stříkačkou (Engewald & Dettmer-Wilde 2014), ale musí být následně zplyněny (McNair et. al. 2019). Moderní stroje jsou vybaveny autosamplerem, který nepotřebuje obsluhu, aby zpracoval větší množství vzorků (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).
- Kolona je často považována za srdce GC systému. Jsou používány náplňové, nebo kapilární kolony s kapalnou, nebo pevnou stacionární fází.
- Kolonová pec je část, v které je umístěna kolona. Pec je vzdušný termostat, který zařizuje konstantní, nebo definovanou teplotu kolony. Kolonová pec je vždy

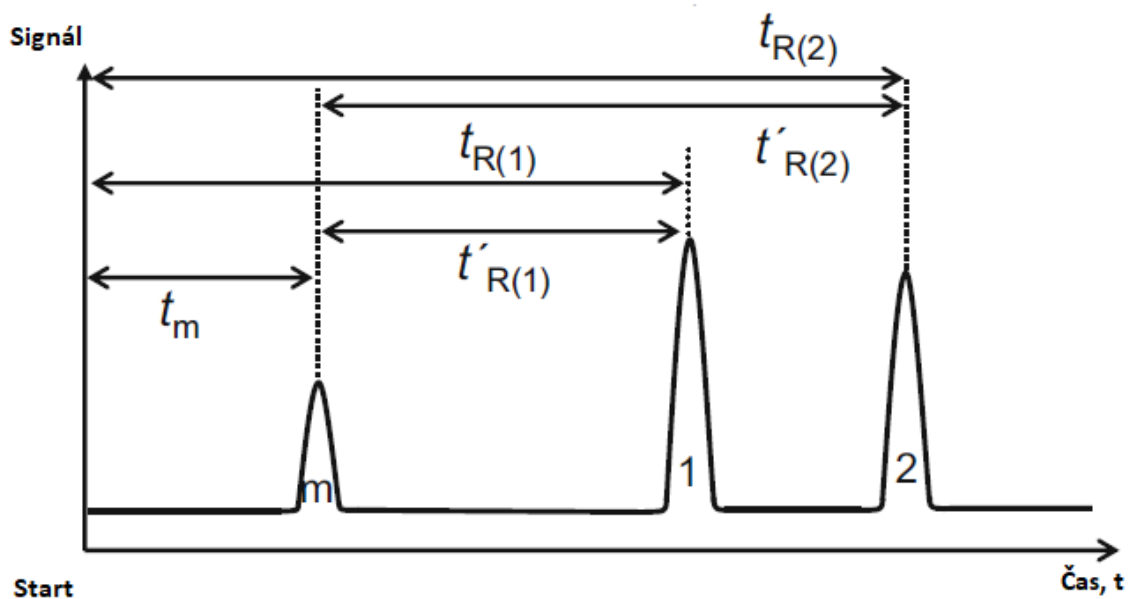
vybavena ventilátorem, který garantuje silnou vzdušnou cirkulaci, protože vzduch má špatnou tepelnou vodivost.

- Detektor je zařízení, které nahrává vzorek, který opouští kolonu. Při opouštění kolony vznikne elektrický signál, který se zesílí a je poté odeslán do datového systému.
- Sběr dat je používán k registraci, ukládání a analyzování naměřených hodnot (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).

3.3.2 Princip

Jak bylo zmíněno výše, „srdcem“ každé chromatografie je kolona. Obsahuje stacionární fázi, která je kontinuálně čištěna mobilní fází. Chromatografická separace se odehrává v koloně. Vzorek je převeden do injektoru, je-li třeba, tak je zplyněn a transportován mobilní fází do kolony. V hlavě kolony se vzorek rozdělí mezi stacionární fázi a není dostupný pro transport mobilní fází. Distribuce vzorku mezi stacionární fází a mobilní fází závisí na tlaku par mobilní fáze (a polaritě stacionární fáze). Čím vyšší je tlak mobilní fáze, tím více bude vzorek transportován mobilní fází skrz kolonu. Na své cestě kolonou vzorek několikanásobně reaguje se stacionární fází (několikanásobné zkapalnění, odpaření nebo adsorpce, nebo desorpce), což má za následek různé doby prodlevy jednotlivých analytů při výstupu z kolony. Ideálně by každý z analytů opouštěl kolonu jeden po druhém a poté by dosáhly detektoru, který by později převedl analyt na signál, který by byl zdigitaliován a uložen pro pozdější analýzu (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).

Graf 1: Hypotetický chromatogram pro dva analyty 1 a 2 (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).



T_m -doba zdržení se rovná době retenčního času nezadržené sloučeniny
 t_r -celkový retenční čas
 t'_R -upravený retenční čas

Osa x představuje čas (retenční čas) a osa y představuje sílu signálu. Jestli nosný plyn dosáhne detektoru, tak je nahrána jen plochá čára, která se nazývá základní linie. Běžně tato čára není rovná, ale tvoří fluktuaci, která se nazývá šum. Rostoucí signál indikuje, že vzorek opustil kolonu a dosáhnul detektoru. Ideálně by se vzorek rozdělil a každý analyt měl svůj peak, který by vypadal jako typická Gaussovská křivka. Tyto signály se nazývají peaky. Peak je charakterizován svou pozicí v chromatogramu, svou šířkou a výškou, vyjádřený jako retenční čas. Počáteční peaky představují analyty, které jsou ve stacionární fázi zdrženy jen minimálně. Čím déle se analyty zdrží ve stacionární fázi, tím déle se objeví v chromatogramu. Pozice peaku (retenční čas) v chromatogramu udává informaci o identitě separovaného analytu, zatímco velikost peaku (výška, či oblast) je měřítko pro relativní koncentraci, či množství analytu. Šířka a tvar peaku indikuje výkon a kondici kolony (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).

3.3.3 Teoretické patro

Teoretické patro rozděluje kontinuální separační proces do několika individuálních kroků. Kolona se skládá z mnoha po sobě jdoucích segmentů, které se nazývají teoretická patra a pro každé patro se předpokládá, že je zde rovnováha mezi látkou ve stacionární fázi a mobilní fázi. Čím menší je segment, nebo výška teoretického patra, tím je více pater na metr kolony. Díky tomu lze provést více distribučních kroků, což má za následek menší relativní rozšíření peaku (Engewald & Dettmer-Wilde 2014).

3.4 Hmotnostní spektrometr

Hmotností spektrometrie je mikroanalytická technika, která může být použita selektivně pro detekci a determinaci množství daného analytu. Hmotnosti spektrometrie se také používá ke stanovení elementárního složení a zjištění molekulární struktury analytu. Tyto úkony jsou splněny pomocí experimentálního měření hmotnosti iontů plynné fáze, které jsou vytvářeny z analytu. Jedinečné vlastnosti hmotnostní spektrometrie zahrnují možnost přímého stanovení nominální hmotnosti (v některých případech molární hmotnosti) analytu a produkci a detekci fragmentů molekuly. Tato metoda má schopnost generovat více strukturních informací na jednotku množství analytu, než lze určit jakoukoliv jinou analytickou metodou (Watson & Sparkman 2008). Hmotnostní spektrometr se často spojuje s další metodou (např. plynová chromatografie) (Friedrich et. al. 1998).

Velká část hmotnostní spektrometrie (MS) se zabývá hmotnostmi isotopů prvků, nikoli atomovou hmotností prvků. MS přímo neučuje hmotnost, ale určuje poměr hmotnosti a náboje (m/z) iontů (Watson & Sparkman 2008).

Základním požadavkem hmotností spektrometrie je, aby šly oddělit jednotlivé ionty a následně detekovat, tak musí být v plynné fázi (Watson & Sparkman 2008).

Ionty jsou nabitě částice a jejich pozice v prostoru může být ovlivněna pomocí elektrického nebo magnetického pole. Jsou-li přítomny pouze jednotlivé ionty, lze je seskupit podle jejich individuálních vlastností (hmotnost a počet nábojů) a přesouvat z jednoho bodu do druhého. Aby jednotlivé ionty mohly být analyzovány, musí se analyzovat ve vakuu. MS využívá ionty v plynné fázi při nízkém tlaku pro jejich oddělení a detekci podle jejich poměru hmotnosti a náboje – hmotnost iontu na atomové stupnici děleno počtem nábojů, které iont má. Tato definice pojmu m/z je důležitá pro pochopení hmotnostní spektrometrie. Je třeba poznamenat, že hodnota m/z je bezrozměrné číslo. Záznam počtu iontů (množství) dané hodnoty m/z je hmotnostní spektrum. V hmotnostní spektrometrii jsou detekovány pouze ionty. Částice, které nejsou iontové (molekuly nebo radikály), jsou odstraněny z hmotnostního spektrometru pomocí vakua. Hmotnostní složka, která tvoří bezrozměrnou jednotku m/z , je založena spíše na atomovém měřítku, než na fyzickém měřítku (Watson & Sparkman 2008).

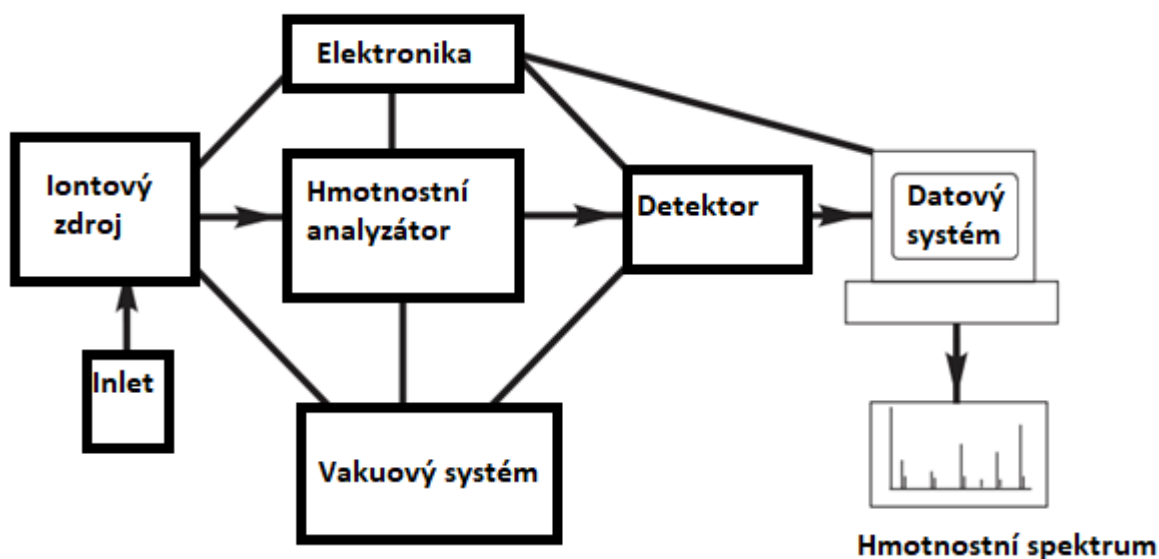
MS se v zásadě skládá z iontového zdroje, jednoho nebo několika hmotnostních analyzátorů pro separaci iontů podle jejich hmotnosti, detektor pro počítání iontů a počítač s příslušenstvím (de Hoffmann 2005).

3.4.1 Princip

MS měří ionty, protože na rozdíl od neutrálních druhů je snadné s nimi manipulovat a detekovat směr a pohyb. Analýza pomocí MS zahrnuje tři základní kroky. První krok je ionizace, která konvertuje molekuly analytu, nebo atomy do iontové formy v plynné fázi. Tento krok vyžaduje přidání nebo odebrání elektronu, nebo protonu. Přebytek energie přenesený během ionizace může rozdělit molekulu na charakteristické fragmenty. Další krokem je separace a analýza hmotnosti molekulárních iontů a jejich nabitých fragmentů na principu m/z . Nakonec se iont změní, zesílí a zobrazí ve formě hmotnostního spektra (de Hoffmann 2005).

První dva kroky jsou prováděny ve vakuu, které dovolí iontům se pohybovat volně v prostoru bez kolizí a interakcí s ostatní hmotou. Pokud by vznikla kolize, tak to může vést k fragmentaci molekulárních iontů, které mohou produkovat různé druhy prostřednictvím reakcí iontů a molekul. Tyto procesy snižují citlivost, zvýší nejednoznačnost měření a sníží rozlišení (de Hoffmann 2005).

Obrázek 1: Schéma MS (de Hoffmann 2005)



Jednoduchý MS je složen z těchto komponentů:

- Inlet převádí vzorek do iontového zdroje. Základním požadavkem je udržovat integritu molekul vzorku během jejich přenosu z atmosférického tlaku do vakua iontového zdroje.
- Iontový zdroj konvertuje neutrální molekuly z plynné fáze na ionty. Několik ionizačních technik bylo vynalezeno pro tento účel.
- Hmotnostní analyzátor separuje a analyzuje hmotnost iontových druhů. Magnetické nebo elektrické pole ovlivňuje pohyb iontů. Nejvíce se používají time-of-flight, kvadrupólový analyzátor, orbitrap a záchytové analyzátor s Fourierovou transformací.
- Detektor měří a zesiluje iontový proud hmotnostně rozlišených iontů.
- Datový systém zaznamenává, zpracovává, ukládá a zobrazuje data ve formě, kterou může lidské oko snadno rozpoznat (obrazovka počítače, nebo tištěný výstup).
- Vakuový systém udržuje velmi nízký tlak v hmotnostním spektrometru. Oblast zdroje iontů bývá obvykle udržována na tlaku 4-10 torr a v oblasti hmotnostního analyzátoru je vyžadován tlak kolem 8-10 torr. Většina nástrojů používána k udržení optimálního vakua, funguje na systému diferenciálního čerpání.
- Elektronika řídí provoz různých jednotek (de Hoffmann 2005).

3.5 Milkoscan

Milkoscan je založen na principu infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací a měří širokou škálu složení vzorků jako je tuk, bílkoviny, laktóza, sušina, kaseinový dusík, močovina, bod mrznutí a volné mastné kyseliny (Sánchez et al. 2007).

Infračervená (ir) spektroskopie je metoda založená na vibraci atomů molekuly. Ir spektrum se běžně získá průchodem ir záření skrz vzorek a determinuje se, jaká frakce dopadajícího záření byla absorbována při konkrétní vlnové délce. Energie, při které se objeví jakýkoliv peak absorpčního spektra, odpovídá frekvenci vibrací části molekuly vzorku (Stuart 2005).

Aby mohla molekula vykazovat ir absorpci, tak musí mít určité vlastnosti. Musí se měnit elektrický dipólový moment během pohybu molekuly. Interakce ir záření s látkou lze chápat ve smyslu změn molekulárních dipólů, tj. vibrace a rotace. Atomy v molekule se mohou pohybovat jinak než ostatní atomy, tj. délka vazeb se může lišit, nebo se jeden atom může pohybovat mimo svou rovinu. Vibrace zahrnují změnu délky vazby (roztahování) nebo úhel vazby (ohyb). Některé vazby se mohou protahovat ve fázi (symetrické protahování), nebo mimo fázi (asymetrické protahování). Pokud má molekula různé koncové atomy, pak tyto fáze protahování neplatí a atomy budou mít různé proporce specifické pro jejich skupinu (Stuart 2005).

Bude existovat mnoho různých vibrací i pro poměrně jednoduché molekuly. Složitost ir spektra vzniká spojením vibrací velké části molekuly, nebo celé molekuly. Tyto vibrace odpovídají oblasti otisku palce (fingerprint) celé molekuly, než jednotlivých skupin v ní.

Furierova transformace je založena na myšlence interference záření mezi dvěma paprsky za vzniku interferogramu. Interferogram je signál vytvářený jako funkce změny délky dráhy mezi dvěma paprsky. Tyto dvě domény vzdálenosti a frekvence jsou vzájemně přeměnitelné matematickou metodou Furierovy transformace (Sánchez et al. 2007).

Ve FTIR spektrometru je záření vycházející ze zdroje vedeno do vzorku přes interferometr a poté dosáhne detektoru. Po zesílení signálu, ve kterém se pomocí filtru eliminuje vysokofrekvenční záření, jsou data převedena do digitální podoby pomocí převodníku a přenesa do počítače pro Furieovu transformaci (Sánchez et al. 2007).

4 Metodika

V praktické části této práce byl zkoumán profil mastných kyselin pomocí plynového chromatografu s hmotnostním detektorem a následně se kvantitativně vyhodnocovaly. Pro analyzování složek mléka byl použit přístroj Milkoscan FT 120.

4.1 Popis použitých vzorků

Vzorky pocházely z farmy Ohař. Pro analýzu bylo odebráno 5 vzorků od jednotlivých buvolic v jednom termínu a 5 vzorků směsných z celého stáda.

Jednotlivé vzorky mléka byly nadojené do tanku a převedeny do předem připravených sterilních skleněných lahví. Vzorky byly poté zchlazeny a převezeny do laboratoře KKBP ČZU. Pro porovnání byl odebrán vzorek kravského mléka od dojnice holštýnského plemene ze zemědělského družstva Dolní Hořice.

Tabulka 6: Přehled použitých vzorků.

Název	Jednotlivci Směsi	Brie září	Nody prosinec	Lindabel leden	Twin únor	Halfhorn březen	Kravské
-------	----------------------	--------------	------------------	-------------------	--------------	--------------------	---------

Vzorky pocházely z farmy Ohař, která se věnuje chovu buvolů od roku 2015. Chová se zde 20 buvolů a z nich se průměrně 6 buvolic dojilo během experimentu. Farma Ohař je ekologická farma, zaměřená na pastevní chov buvolů. Přes léto se pasou s doplňkem minerálního lizu. V období od října-listopadu buvoli přecházejí z volné pastvy do zimoviště, kde jsou krmeni senáží a senem v poměru 2:1, dále biogranulemi s doplňkem minerálního lizu. Buvolice se dojí dvakrát denně a ke konci laktace pouze jednou denně, jejich průměrná délka laktace je 8–9 měsíců a průměrný nádoj je kolem 7 litrů. Po otelení je tele buvola 3–4 dny s matkou a poté přechází do izolace, kde je krmeno mlékem matky a od 4. dne má přístup k vodě, senu a biogranulám.

4.2 Chemikálie

- Hexan (≥ 95 %, VWR)
- Methanol ($\geq 99,9$ %, VWR)
- Methanolická báze ($\geq 99,9$ %, Sigma-Aldrich)
- Kyselina sírová (91 %, MILCOM a.s.)
- NaCl (≥ 98 %, VWR)
- FAME mix (Restek, USA)
- Amylalkohol (≥ 98 %, VWR)

4.3 Přístroje

- Odstředivka SuperVario-N (FunkerGerber, DE)
- Vodní lázeň (Strojobal, ČR)
- Odstředivka Universal 320 (Hettich, DE)
- Plynová chromatografie 7890A (Agilent, USA)
- Autosampler 7693A (Agilent, USA)
- Hmotnostní detektor 5975C (Agilent, USA)
- Kolona Rt-2560 (Restek, USA)
- Milkoscan FT 120 (FOSS, DNK)

4.4 Způsob přípravy vzorků

Pro odseparování tučné složky byla použita acidobutyrometrická metoda podle Gerbera. Do předem připravených butyrometrů zazátkovaných malou pryžovou zátkou se převedlo 10 ml kyseliny sírové Gerberové 91%. Poté se napipetovalo 10 ml mléka a pomocí sklopné pipety byl přidán 1 ml amylalkoholu pro ostré rozhraní a doplnilo se potřebným množstvím kyseliny sírové Gerberové a zazátkovalo se velkou pryžovou zátkou. Promíchalo se tak, aby se všechny složky mléka rozpustily kyselinou sírovou. Po řádném promíchání se butyrometr dal do odstředivky SuperVario-N na 1100 rpm, 65 °C a 5 minut. Po odstředění se butyrometr se vzorkem přendal do vodní lázně, vytemperované na 65 °C na 5 minut. Poté se butyrometr opatrně odzátkoval a pomocí injekční stříkačky se odebral rozpuštěný odstředěný tuk do Eppendorfovi mikrozkušavky, následně se odpipetoval 50 µl do kónické zkumavky – falkonky. Do falkonky se přidalo 0,5 ml methanolu a 0,5 ml methanolicke báze, protřepalo se a dalo se do vyhřáté vodní lázně na 65 °C na 1 minutu, poté se vyndalo, znovu se řádně protřepalo a vložilo se zpět do vodní lázně na 4 minuty. Po vyndání z vodní lázně se obsah falkonky zchlادil a přidalo se 1,5 ml hexanu a 10 ml předem připraveného nasyceného roztoku NaCl a protřepalo se. Poté se vzorek dal do odstředivky od firmy Universal 320 na 10 minut na 5000 rpm. Po odstředění se opatrně odpipetovalo pomocí automatické pipety 1 ml hexanové vrstvy do vialky. Takto připravené vzorky byly uloženy do mrazáku. Na plynové chromatografii byla měřena pak celá sada vzorků.

4.5 Analýza vzorků na GC x MS

Vzorky byly analyzovány v plynovém chromatografu 7890A s autosamplerem 7693A a vybaveném kolonou Rt-2560 s trojitým kvadrupólem hmotnostním detektorem 5975C.

Parametry plynového chromatografu:

- Nosný plyn – Helium
- Průtok nosného plynu 1 ml/min
- Vstupní tlak 32,275 psi
- Splitovací poměr 1:50
- Objem nastříkovaného vzorku 1 µl

- Kolona (100 m x 0,25 mm i. D., tloušťka filmu 0,20 μm)

Podmínky analýzy:

- teplota nástřiku 225 °C.
- počáteční teplota kolony 70 °C po dobu 2 min.
- 1. nárůst teploty 5 °C/min, horní isoterma 225 °C po dobu 10 min.
- 2. nárůst teploty 5 °C/min, horní isoterma 240 °C po dobu 25 min.
- Celková doba analýzy 71 min.
- Pro analýzu byl použit fullscan mode.

4.6 Analýza vzorků pomocí MilkoScan FT 120

Vzorek se vytemperoval na 40 °C ve vodní lázni, homogenizoval se promícháním a analyzoval pomocí Milkoscanu FT 120. Výstupem jsou hodnoty uvedené v procentech.

4.7 Zpracování výsledků

Záznamy byly vyhodnoceny pomocí programu Open Lab. Kvantifikace proběhla na základě retenčních časů známých ze standardu Food Industry FAME Mix od firmy RESTEK (Bellefonte, PA, USA). Výsledné obsahy mastných kyselin ve vzorcích mléka byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica 14.0. K určení statisticky významných rozdílů v obsahu jednotlivých mastných kyselin mezi vzorky byla použita metoda ANOVA s hladinou významnosti $p < 0,05$ a pro porovnání výsledků z Milkoscanu FT 120 byl použit Studentův t-test (2-výběrový), výsledky byly považovány za průkazné při $p < 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Celkový obsah složek mléka

Přehled celkového obsahu složek v jednotlivých vzorcích je zobrazeno v tabulce 7. Každý vzorek byl proměřen ve dvou opakování a z nich se spočítal průměr a spočítáno procentuální zastoupení ve vzorku.

Tabulka 7: Obsah složek mléka v jednotlivých vzorcích (\bar{x})

<u>Mléko</u>					
	Tuk [%]	Bílkoviny [%]	Laktóza [%]	Sušina [%]	Tukuprostá sušina [%]
Brie	16,41	3,65	4,52	25,5	9,35
Nody	7,08	3,95	4,79	16,88	9,9
Lindabel	7,65	5,78	4,25	18,97	11,32
Twin	11,51	4,46	4,41	21,55	10,09
Halfhorn	7,84	3,92	4,99	17,76	10,07
září	9,79	4,33	4,61	19,83	10,14
prosinec	6,25	3,79	5,07	16,14	10,01
leden	7,6	3,82	5,05	17,5	10,03
únor	7,01	3,9	5,09	17,04	10,15
březen	7,6	4,14	4,99	17,79	10,3
Kravské	3,95	3,44	4,6	13,08	9,15

Z tabulky 7 je patrné, že celkový obsah tuku mezi jednotlivými buvolky se značně lišil, kdy vzorek Brie obsahoval nejvíce tuku 16,41 % a nejméně vzorek Nody 7,08 %. Ze směsných vzorků obsahoval nejvíce tuku vzorek ze září a to 9,79 % a nejméně únorový vzorek 7,01 % v porovnání s kravským, které obsahovalo odhadem poloviční množství a to 3,95 %. Nejméně bílkovin obsahoval vzorek Brie s 3,65 % a nejvíce vzorek Lindabel 5,78 %. Nejmenší obsah bílkovin ze směsných vzorků obsahoval prosincový vzorek (3,79 %) a nejvíce vzorek ze září (4,33 %), kravské mléko obsahovalo podobné množství a to 3,44 % bílkovin. Nejmenší rozdíly ve vzorcích byly v obsahu laktózy, kdy u jednotlivých zvířat měl nejméně laktózy vzorek Lindabel 4,25 % a nejvíce vzorek Halfhorn 4,99 % a ze směsných vzorků nejvíce laktózy obsahoval únorový vzorek 5,09 % a nejméně ve vzorku ze září 4,61 %, obsah laktózy ve vzorku kravského mléka byl podobný, a to 4,6 %. Nejvyšší obsah sušiny byl obsažen ve vzorku Brie (25,5 %) a nejméně Nody (16,88 %). Nejvyšší obsah sušiny ze směsných vzorků byl obsažen v zářijovém vzorku (19,83 %) a nejméně v prosincovém vzorku (16,14 %) v porovnání s

kravským, které obsahovalo nejméně sušiny a to 13,08 %. V tabulce 8 jsou zobrazeny průměrné hodnoty z výsledků měření přístrojem Milkoscan FT 120.

Tabulka 8: Obsah složek mléka buvolího a kravského ($\bar{x} \pm SD$)

	Buvol	Kráva	Průkaznost
Tuk [%]	9,08±2,98	4,75±0,56	**
Bílkoviny [%]	4,20±0,61	3,41±0,03	**
Laktóza [%]	4,74±0,29	4,55±0,04	NS
Sušina [%]	19,10±2,74	13,79±0,50	***
Tukuprostá sušina [%]	10,13±0,49	9,06±0,06	***

Pravděpodobnost F - testu

* $p < 0,05$ (malý významný rozdíl)

** $p < 0,01$ (střední významný rozdíl)

*** $p < 0,001$ (velký významný rozdíl)

NS - žádný významný rozdíl

Tabulka 8: informuje o rozdílech mezi kravským a buvolím mlékem. Statisticky významný rozdíl byl průkazný v obsahu tuku, kdy buvolí mléko obsahovalo průměrně 9,08 % a kravské 4,75 % a bílkovin, kdy buvolí mléko obsahovalo 4,20 % a kravské 3,41 % ($p < 0,01$). Sušina u buvolího mléka byla v průměru zastoupena z 19,10 % a u kravského mléka z 13,79 %. Tyto rozdíly jsou rovněž statisticky významné ($p < 0,001$). V obsahu laktózy se vzorky z buvolího (4,74 %) a kravského mléka (4,55 %) nijak statisticky významně nelišily.

5.2 Profil mastných kyselin

5.2.1 Vzorky od jednotlivých buvolů

V tabulce 9 jsou uvedeny informace o statisticky významné rozdílnosti mezi vzorky jednotlivých zvířat.

Obsahy nejvíce zastoupené kyseliny palmitové se statisticky významně nelišily. Mezi vzorky jednotlivých buvolů se lišily s velkým významným rozdílem kyselina máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová, laurová, pentydecylová a heptadekanová. Do této skupiny s velkým významným rozdílem ($p < 0,001$) se také řadí tři ze čtyř nejvíce zastoupených MK a to kyselina myristová, olejová a stearová. Obsah kyseliny vakcenové, isoolejové a elaidové se středně významně lišil ($p < 0,01$).

Tabulka 9: Statistická analýza mastných kyselin vzorků Lindabel, Nody, Twin, Brie a Halfhorn

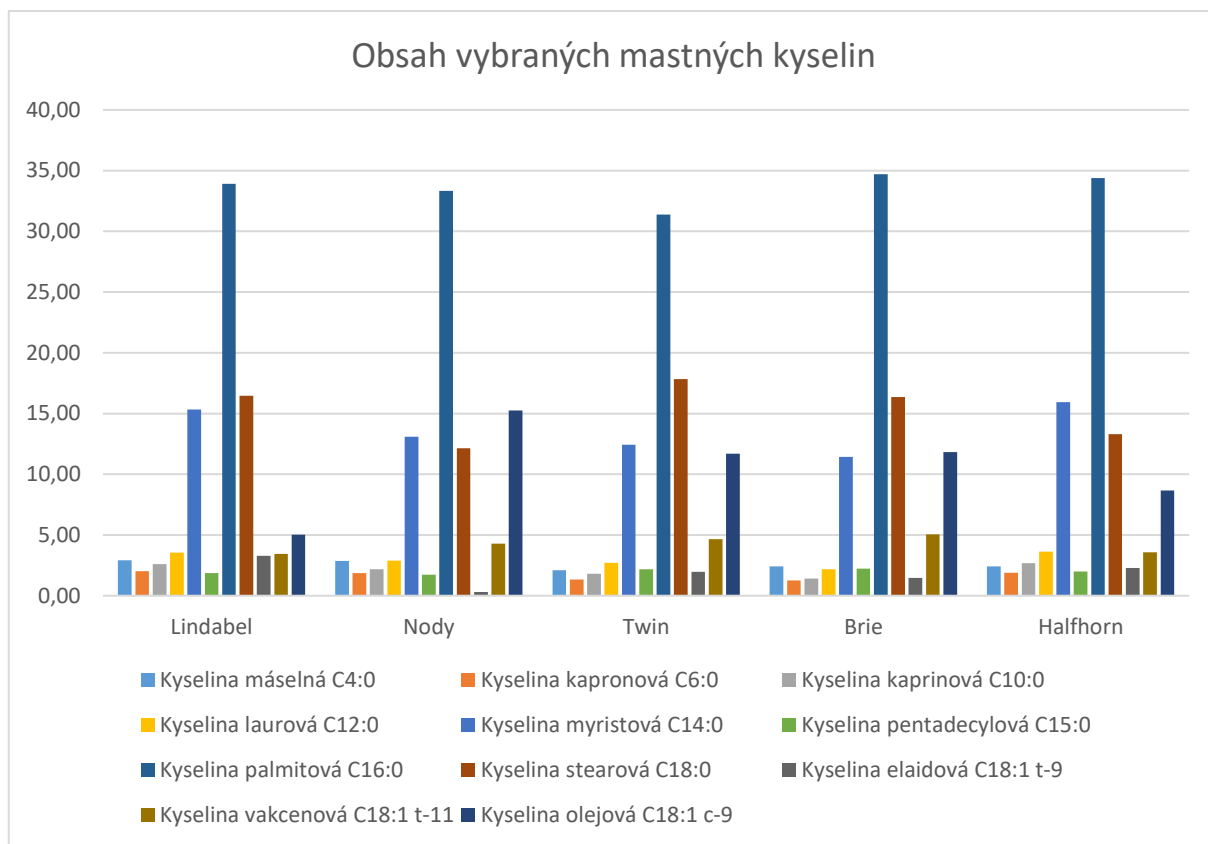
Mastné kyseliny	F	Průkaznost
Kyselina máselná C4:0	72,16	***
Kyselina kapronová C6:0	673,9	***
Kyselina kaprylová C8:0	1622,2	***
Kyselina kaprinová C10:0	741,2	***
Kyselina laurová C12:0	537,91	***
Kyselina tridecylová C13:0	40,61	***
Kyselina 12-methyl tridekanová	356,35	***
Kyselina myristová C14:0	136,68	***
Kyselina 13-methyl tetradekanová	81,63	***
Kyselina 12-methyl Sarcinová	81,63	***
Kyselina myristoolejová C14:1 c-9	28,8575	**
Kyselina pentadecylová C15:0	86,08	***
Kyselina 14-methyl isopalmitová	98,46	***
Kyselina palmitová C16:0	4,53	NS
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	277,361	***
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	27,5155	**
Kyselina fytanová	138,778	***
Kyselina heptadekanová C17:0	142,39	***
Kyselina stearová C18:0	138,34	***
Kyselina elaidová C18:1 t-9	10,49	**
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	7,0974	**
Kyselina vakcenová C18:1 t-11	8,917	**
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	10,8466	**
Kyselina olejová C18:1 c-9	12,4582	***
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	4,437	NS
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	9,1604	*
Kyselina arachidová C20:0	2435,4	***
Kyselina α -Linolenová C18:3 c-9, c-12, c-15	9,3493	*
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	35,531	***

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, NS - neliší se

V příloze I a II jsou uvedeny obsahy jednotlivých mastných kyselin v buvolím mléce, které byly odebrány od jednotlivých buvolů.

Z grafu 2 lze usuzovat, že nejvíce zastoupenou kyselinou v mléčném tuku je kyselina palmitová. Tuto kyselinu obsahoval nejvíce vzorek Brie (34,71 %). Mastná kyselina myristová byla nejvíce obsažena ve vzorku Halfhorn. Obsah kyseliny olejové ve vzorku Nody (15,95 %) byl skoro trojnásobný, než ve vzorku Lindabel (5,04 %), naopak Nody obsahoval nejméně kyseliny stearové (12,14 %). Největší množství této kyseliny obsahoval vzorek Twin (17,83 %). Vysoká variabilita se projevila u obsahu kyseliny elaidové. Vzorek Lindabel obsahoval 11x větší množství této kyseliny (3,29 %), než vzorek Nody (0,30 %). Obsah nejkratší kyseliny máselné se pohyboval v rozmezí 2,1–2,91 %.

Graf 2: Obsah vybraných mastných kyselin ze vzorků jednotlivých buvolic



5.2.2 Směsné vzorky

V tabulce 10 jsou informace o statisticky významných rozdílech v obsahu vybraných mastných kyselin mezi vzorky v průběhu roku. Z tabulky je patrné, že obsah kyseliny elaidové a isoolejové se významně statisticky neliší. Obsahy kyseliny heptadekanové a pentadecylové vykazovaly statisticky malý významný rozdíl (p<0,05). Středně významný rozdíl v obsahu mastných kyselin v průběhu roku vykazovala kyselina máselná, kapronová, kaprylová, laurová a vakcenová. Změny v obsahu kyseliny palmitové, myristové a olejové se v průběhu roku také středně statisticky významně liší (p<0,01). Nejvíce se statisticky významně liší obsah kyseliny stearové a kaprinové (p<0,001).

Tabulka 10: Statistická analýza mastných kyselin směsných buvolích vzorků září

Mastné kyseliny	F	Průkaznost
Kyselina máselná C4:0	23,351	**
Kyselina kapronová C6:0	38,318	**
Kyselina kaprylová C8:0	50,172	**
Kyselina kaprinová C10:0	58,336	***
Kyselina laurová C12:0	47,703	**
Kyselina tridecylová C13:0	59,292	***
Kyselina 12-methyl tridekanová	5,98	NS
Kyselina myristová C14:0	26,615	**
Kyselina 13-methyl tetradekanová	109,99	***
Kyselina 12-methyl Sarcinová	6,536	NS
Kyselina myristoolejová C14:1 c-9	1,55684	NS
Kyselina pentadecylová C15:0	6,666	*
Kyselina 14-methyl isopalmitová	1,707	NS
Kyselina palmitová C16:0	27,588	**
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	0,78503	NS
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	53,4145	**
Kyselina fytanová	161,2152	***
Kyselina heptadekanová C17:0	6,997	*
Kyselina stearová C18:0	95,311	***
Kyselina elaidová C18:1 t-9	5,3339	NS
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	3,6881	NS
Kyselina vakcenová C18:1 t-11	37,3098	**
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	16,745	**
Kyselina olejová C18:1 c-9	34,933	**
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	1,0908	NS
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	12,5184	*
Kyselina arachidová C20:0	2,192	NS
Kyselina α -Linolenová C18:3 c-9, c-12, c-15	2,00306	NS
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	176,237	***

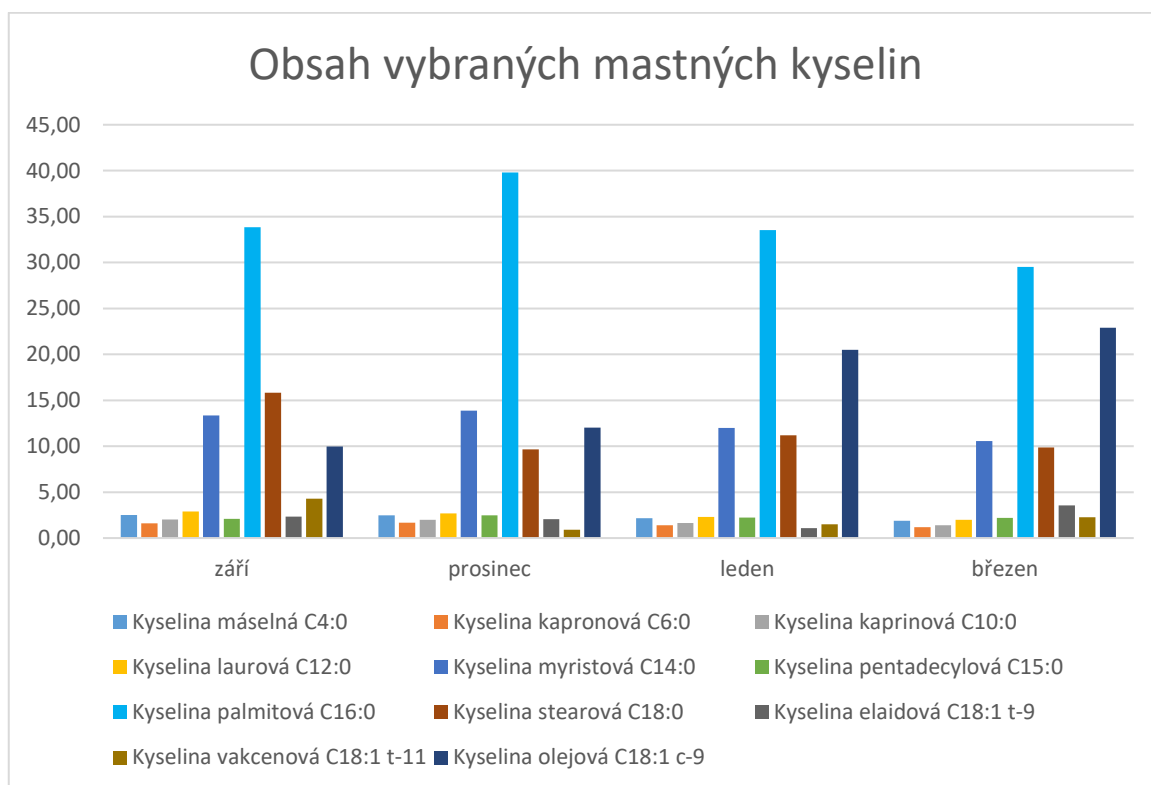
* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, NS-neliší se

Příloha III informuje o procentuálním obsahu mastných kyselin ve vzorcích odebraných ze září, prosince, ledna a března.

Z grafu 3 lze posuzovat, že v průběhu zimy obsah kyseliny palmitové klesá, kdy v prosinci byl nejvyšší obsah (39,81 %) a nejnižší v březnu (29,52 %). Stejný trend měl obsah kyseliny myristové. Obsah kyseliny olejové měl opačný trend a to rostoucí, kdy vzorek z března vykazuje dvojnásobnou hodnotu této MK (22,91 %) než v září. Nejvyšší zastoupení kyseliny stearové bylo naměřeno v září (15,83 %), v průběhu roku byly obsahy této kyseliny menší o třetinu. Obsah nejkratší kyseliny máselné se v průběhu roku snižoval z 2,51 % na 1,87 %.

Nejnižší obsah kyseliny vakcenové byl naměřen ve vzorku z prosince, který obsahoval 0,92 %, oproti tomu v září byly vykazovány čtyřnásobné hodnoty 4,27 %. Průměrné obsahy kyseliny pentadecylové se pohybovaly v rozmezí 2,08–2,48 %.

Graf 3: Obsah vybraných mastných kyselin ze směsných vzorků.



5.2.3 Rozdíl mezi kravským a buvolím mlékem.

Tabulka 11 obsahuje informace ohledně rozdílů mezi vzorky *Bubalus bubalis*, *Bos taurus* holštýnského plemene, které byly převzaty z literárního zdroje a vzorku *Bubalus bubalis* odebraného na farmě Ohař.

Z tabulky je patrné, že nejnižší obsah kyseliny palmitové je ve vzorku kravského mléka, oproti tomu tento vzorek obsahoval nejvíce kyseliny olejové (22,12±1,65 %). Vzorek buvolího mléka z farmy Ohař vykazoval nejvyšší hodnoty v obsahu kyseliny stearové (13,63±2,92 %) a vzorek z buvolího mléka (Ahmad et al. 2008) obsahoval nejnížší množství této mastné kyseliny (9,85±0,17 %). Obsah kyseliny vakcenové v buvolím mléce z farmy Ohař byl 3,33±1,39 % oproti tomu, v kravském mléce bylo poloviční množství (1,43±0,06 %). Obsah kyseliny másečné v buvolím a kravském mléce se výrazně nelišil.

Tabulka 11: Průměrné obsahy mastných kyselin ve všech analyzovaných vzorcích ($\bar{x} \pm SD$) a průměrné hodnoty získané z literatury (Ahmad et al. 2008)

Mastná kyselina	Buvol Ohař	Buvol (Ahmad et al. 2008)	Kráva (Ahmad et al. 2008)
Kyselina máselná C4:0	2,41±0,32	2,80±0,49	2,53±0,49
Kyselina Kapronová C6:0	1,57±0,29	1,85±0,35	2,10±0,44
Kyselina Kaprylová C8:0	0,93±0,2	1,08±0,18	1,35±0,23
Kyselina Kaprinová C10:0	1,97±0,44	1,8±0,21	2,52±0,33
Kyselina Laurová C12:0	2,76±0,54	2,3±0,15	2,87±0,16
Kyselina myristová C14:0	13,11±1,67	11,77±0,15	11,14±0,44
Kyselina Pentadecylová C15:0	2,12±0,22	1,74±0,08	1,16±0,03
Kyselina palmitová C16:0	33,83±2,72	36,02±1,24	33,80±0,93
kyselina heptadekanová C17:0	1,10±0,10	0,84±0,02	0,61±0,05
Kyselina stearová C18:0	13,63±2,92	9,85±0,17	11,07±0,85
Kyselina vakcenová C18:1 t-11	3,33±1,39	2,00±0,08	1,43±0,06
Kyselina olejová C18:1 c-9	13,09±5,43	20,25±0,65	22,12±1,65

Únorový vzorek byl připraven acidobutyrometrickou metodou, bohužel nebyl analyzován pomocí plynového chromatografu. K této chybě došlo v důsledku chyby lidského faktoru. Vzorek kravského mléka ze zemědělského družstva Dolní Hořice byl analyzován ve dvou opakování s velkými rozdíly mezi oběma měřeními, proto tento vzorek nelze považovat za relevantní. Hodnoty jsou uvedeny v příloze IV, ale do zpracování výsledků nebyly zahrnuty.

6 Diskuze

6.1 Celkový obsah složek mléka

Buvolí mléko je nutričně bohatší než kravské mléko, ale je konzumováno a používáno méně. V průběhu laktace se mění celkové množství nadojeného mléka, ale i jeho složení. Yadav et. Al (2013) tvrdí, že v průběhu laktace je laktóza nejméně variabilní a to od 4,46 % do 4,55 %. Výsledky z Milkoscanu FT 120 vykazovaly hodnoty od 4,25 % do 5,09 %. Z těchto výsledků je patrné, že obsah laktózy se i u zkoumaných vzorků buvolího mléka nelišil i podle statistického testu. Yadav et. Al. (2013) také tvrdí, že obsah tuku se v průběhu laktace zvyšuje a je nejvyšší v poslední fázi laktace. Z těchto výsledků lze usuzovat, že buvolice Nody, Lindabel a Halfhorn byly na začátku laktace a Twin a Brie byly ve fázi spíše ke konci. Obsah tuku se také mění vlivem stáří, krmení, ročního období, člověka a stresem. Patbandha et. Al (2015) tvrdí, že na obsah bílkovin v mléce nejvíce působí počasí a sezónní vlivy. V naměřených výsledcích můžeme pozorovat v průběhu sezóny trend kolísavý, nejvíce bílkovin obsahl vzorek ze září (4,33 %). Obsah bílkovin ve vzorcích od jednotlivých buvolic je proměnlivý. Nejvyšší obsah bílkovin obsahoval vzorek Lindabel (5,78 %) a nejnižší Brie (3,65 %). Toto je nejspíše způsobeno fází laktace, což potvrzuje i Patbandha et. Al (2015), který tvrdí i to, že obsah sušiny se mění v průběhu laktace. Podle statistických testů je průkazné ($p < 0,01$), že obsah tuku v buvolím mléce ($9,08 \pm 2,98$ %) je vyšší než v kravském ($4,75 \pm 0,56$ %). Tento fakt přispívá tomu, že má buvolí mléko vysokou energetickou a výživovou hodnotu. V obsahu bílkovin se buvolí a kravské mléko také liší. Kravské mléko obsahuje $3,41 \pm 0,03$ % a buvolí $4,20 \pm 0,61$ % a je i statisticky průkazné ($p < 0,01$), že se tyto obsahy liší. Obsah laktózy není mezi těmito vzorky statisticky průkazný, ale podle procentuálního zastoupení buvol zнову obsahuje více laktózy ($4,74 \pm 0,29$ %), než kravské mléko ($4,55 \pm 0,04$ %). Taktéž obsah sušiny a tukuprosté sušiny ($19,10 \pm 2,74$ %, $10,13 \pm 0,49$ %) je vyšší než u kravského mléka ($13,79 \pm 0,50$ %, $9,06 \pm 0,06$ %). Tyto obsahy jsou statisticky průkazné, že se liší s průkazností $p < 0,001$.

Patbandha et. al. (2015) tvrdí, že celkový profil mastných kyselin v buvolím mléce se mění v průběhu roku, fází laktace, počasím, dále taky tvrdí, že v zimním období buvolí mléko obsahuje nižší podíl tučné složky, než v letním období. Toto tvrzení potvrzují naměřené výsledky, kdy zářijový vzorek obsahoval 9,79 % tuku a vzorek z prosince 6,25 %, ledna 7,6 %, února 7,01 a března 7,6 %.

6.2 Profil mastných kyselin

6.2.1 Vzorky od jednotlivých buvolů

Vzorek Lindabel obsahoval nejvíce kyseliny máselné, kapronové, kaprylové, fytanové, elaidové, isoolejové a oktadecenové t-12, zatímco v tomto vzorku bylo obsaženo nejméně kyseliny myristoolejové, palmitoolejové, vakcenové, olejové, oktadecenové t-13, linolové, α -linolenové a dokosadienové. Tyto skutečnosti by mohly být způsobené věkem dojnice a nejpozdnějším datem otelení (16.09.2020), jelikož buvolice Lindabel je nejstarší ze všech

buvolic, od kterých se odebíraly vzorky. Vzorek Nody obsahoval trojnásobně více mastné kyseliny olejové než vzorek Lindabel. Nejvíce kyseliny myristoolejové, palmitoolejové, linolové a α -linolenové, by mohlo být způsobeno dřívějším otelením (25.07.2020). Obdobně se otelila i buvolice Twin (22.07.0020). Mléko této buvolice obsahovalo nejvíce kyseliny stearové, arachidové, dokosadienové, sarcinové, 13–methyl tetradekanové a tridecylové. Rozdílné obsahy mastných kyselin od vzorku Nody, by také mohly být způsobeny věkem a pořadím laktace. Brie a Halfhorn jsou obdobně staré i v podobné datum se otelily. Jsou zde ale velké rozdíly, kdy Brie obsahuje nejméně kyseliny Kaprinové ($1,42 \pm 0,03$ %) a Brie nejvíce ($2,68 \pm 0,01$ %). Stejně tak jako u kyseliny laurové, tridecylové a myristové. Tyto výsledky by mohly poukazovat na to, že genetická výbava ovlivňuje složení tuku.

Je statisticky průkazné, že se obsah mastných kyselin u všech buvolů prokazatelně liší $p < 0,001$. Kyseliny myristoolejová, palmitoolejová, elaidová, isoolejová, vakcenová a oktadecenová se také prokazatelně lišily $p < 0,01$. Kyseliny $p < 0,001$. Kyselina α -Linolenová a linolová se statisticky lišily s pravděpodobností $p < 0,05$. Natož obsah kyseliny palmitové, která je nejvíce zastoupená v buvolím mléce, se statisticky významně nelišila, stejně tak jako obsah kyseliny oktadecenové t-13. Tyto odlišnosti by mohly být způsobeny rozdílným věkem a datem otelení jednotlivých buvolic. Tyto faktory ovlivňují složení mléčného tuku a celkově i mléka.

6.2.2 Směsné vzorky

Zářijový vzorek obsahoval nejvíce kyseliny máselné, kaprylové, laurové, 12–methyl tridekanové, 14 – methyl isopalmitové, stearové, vakcenové a α -Linolenové a nejméně kyseliny olejové. Tyto rozdíly by mohly napovídat o změně složení profilu mastných kyselin, kvůli teplejšímu počasí a změně krmiva, kdy v tuto dobu byli buvoli volně na pastvě, kdy nebyli krmeni senáží, ale jen pastvou a minerálním lizem. Obsahy kyseliny sarcinové, vakcenové a olejové se v průběhu zimních měsíců zvyšují. Nejvyšší obsah kyseliny palmitové byl naměřen v prosincovém vzorku a v dalších měsících tento obsah klesal až k $29,52 \pm 1,34$ %, které byly naměřeny v březnovém vzorku. Naopak obsah kyseliny olejové vzrůstal od prosince až do března z $12,02 \pm 1,37$ % až na $22,91 \pm 1,64$ %. Ahmad et. al. (2013b) ve své studii zjistil stejně rostoucí trend. Obdobný trend měla kyselina vakcenová. Jedna z nejvíce zastoupených MK, kyselina myristová, byla nejvíce obsažena v prosincovém vzorku a dále v průběhu dalších měsíců tento obsah klesá, stejně jako obsah kyseliny kaprylové, kaprinové, laurové. Ahmad et. al. (2013b) dále uvádí, že obsah kyseliny myristové v průběhu zimy kolísá.

Obsah kyseliny máselné, kaprinové, laurové a α -Linolenové má klesající trend v průběhu doby odběrů vzorků. Obsah kyseliny 12–methyl sarcinové a olejové vzrůstá v průběhu těchto 7 měsíců. Kyselina kapronová, tridecylová, 13–methyl tetradekanová, methyl (Z)–11 hexadecenová, palmitoolejová, fytanová, stearová, isoolejová a oktadecenová t-13 mají kolísavý trend v průběhu měsíců. Obsah kyseliny kaprylové, 12 – methyl tridekanové, myristové, myristoolejové, pentadecylové, 14–methyl isopalmitové, palmitové, heptadekanové, vakcenové, oktadecenové t-12, linolové, arachidové a dokosadienové je nestálý.

V průběhu roku se obsah MK statisticky nelišil u kyseliny 12–methyl tridekanové, 12–methyl sracinové, myristoolejové, 14–methyl isopalmitové, methyl (Z)–11 hexadecenové, elaidové, isoolejové, oktadecenové t-13, arachidové a α -Linolenové. Tedy u mastných kyselin, které byly minoritně zastoupené v buvolím mléce. Nejvíce obsažené mastné kyseliny, myristová, palmitová, stearová a olejová se statisticky významně lišily v průběhu roku ($p < 0,01$), kdy kyselina stearová se statisticky lišila nejvíce ($p < 0,001$). SFCA jako jsou kyselina máselná, kapronová a kaprylová se také statisticky významně lišily v průběhu roku méně ($p < 0,01$), stejně tak i kyselina laurová, palmitová, palmitolejová, vakcenová a oktadecenová t-12. Méně zastoupené kyseliny fytanová, dokosadienová, 13–methyl tetradekanová, tridecylová a kaprinová se významně statisticky lišily v průběhu roku ($p < 0,001$). Nejméně se v průběhu roku statisticky lišila kyselina pentadecylová, heptadekanová a linolová ($p < 0,05$).

6.3 Porovnání obsahu MK mezi buvolím a kravským mlékem

Pro všechny vzorky byly majoritními mastnými kyselinami tyto kyseliny: kyselina palmitová, olejová, myristová a stearová. Ménard et al. (2010) potvrzují tuto skutečnost.

Průměrná hodnota ve všech analyzovaných vzorcích a hodnoty buvolího mléka převzatého z literatury (Ahmad et al. 2008) obsahovaly více nasycených mastných kyselin, ale méně nenasyčených mastných kyselin, než kravské mléko. Obsah krátkých nasycených mastných kyselin v buvolím mléce z farmy Ohař byl menší než u kravského mléka, ale obsah SCSFA u vzorku buvola (Ahmad et al. 2008) byl nejvyšší ze všech tří výsledků. Z tabulky 11 lze vyčíst, že kravské mléko obsahuje nejvíce MCSFA a to kyselinu kaprinovou, kaprylovou a laurovou, tato skutečnost může vypovídat o stravitelnosti kravského a buvolího mléka. Vzorky z farmy Ohař vykazovaly větší množství kyseliny kaprinové a laurové, než naměřili Ahmad et al. (2008), ale menší množství kyseliny kaprylové. Tyto MCSFA potlačují ukládání tuku pomocí termogeneze a napomáhají obezním lidem zvýšit procentuální obsah svalové hmoty (Gómez-Cortés et al. 2018). Jedna z hlavních mastných kyselin v mléce je kyselina myristová. Tato MK byla nejvíce zastoupena ve vzorku z farmy Ohař, stejně jako kyselina pentadecylová, heptadekanová a vakcenová. Ahmad et al. (2008) uvádí podobné výsledky, kdy buvol obsahoval větší zastoupení těchto MK než kráva. Obsahy kyseliny olejové byly u obou vzorků buvolů nižší než u kravského a to u naměřeného vzorku z farmy Ohař $13,09 \pm 5,43$ % a u buvola Ahmad et al. (2008) $20,25 \pm 0,65$ % a u kravského mléka nejvyšší zastoupení $22,12 \pm 1,65$ %. Tento velký rozdíl mezi obsahy obou vzorků buvolů může být vlivem několika faktorů. Mezi tyto faktory patří věk, stáří, stádium laktace, pořadí laktace, genotyp, krmení, vliv člověka, stres a některé zdroje uvádí i počasí jestli je slunečné, nebo deštivé Patbandha et al. (2015). Nejvyšší zastoupení ve všech vzorcích měla kyselina palmitová. Nejvyšší průměrné obsahy byly ve vzorcích buvolů, kdy ve vzorku z farmy Ohař kyselina palmitová dosahovala $33,83 \pm 2,72$ % a kráva $33,80 \pm 0,93$ %. Tyto výsledky si jsou podobné, tudíž se může odhadovat, že v obou vzorcích mléka je podobné množství kyseliny palmitové. Gómez-Cortés et al. (2018) tvrdí, že vysoký obsah kyseliny palmitové není nezdravý, pokud je rozpuštěný ve vhodném matrixu. Tuto skutečnost ovlivňuje hlavně obsah vápníku v mléce. Nejvyšší obsah mononenasyčené kyseliny olejové je obsažen v kravském mléce $22,12 \pm 1,65$ %, zatímco v námi naměřeném

vzorku pouze $13,09 \pm 5,43$ % a naměřeném buvolu Ahmad et al. (2008) $20,25 \pm 0,65$ % tyto vyšší obsahy kyseliny olejové v mléčné matrici působí kardioprotektivně.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo stanovit profil mastných kyselin v buvolím mléce odebraného z farmy Ohař a porovnat ho s profilem mastných kyselin v kravském mléce. Hypotéza zněla, že buvolí mléko obsahuje více nenasycených mastných kyselin a celkově více volných mastných kyselin než tuk u kravského mléka. Hypotéza byla zamítnuta pomocí výsledků této práce.

Celkový obsah tuku buvolího mléka dosahoval dvojnásobných hodnot $9,08 \pm 2,98$ % než obsah tuku kravské mléka $4,75 \pm 0,56$ %. Na celkovém obsahu tuku se podílí mnoho faktorů. Z naměřených výsledků je patrné, že krmení, fáze laktce, pořadí laktace a stáří jsou určující faktory ovlivňující celkový obsah.

Tyto faktory mimo krmení ovlivňují také složení tuku. Celkový profil mastných kyselin mezi jedinci je velmi variabilní. Nejvíce zastoupená mastná kyselina palmitová se v jednotlivých vzorcích mléka statisticky nelišila a vykazovala hodnoty v intervalu 31,38 - 34,71 %. Ostatní obsahy mastných kyselin ve vzorcích se statisticky významně lišily. Největší rozdíly byly v obsahu kyseliny olejové, kdy vzorek Lindabel vykazoval hodnotu trojnásobně nižší, než vzorek Nody. Naopak vzorek Lindabel ($3,29 \pm 0,48$ %) obsahoval jedenáctinásobně vyšší obsah kyseliny elaidové než vzorek Nody ($0,30 \pm 0,01$ %). Obsahy kyseliny máselné ve vzorcích si byly podobné a pohybovaly se v rozmezí 2,10 – 2,91 %.

Profil mastných kyselin v průběhu roku se měnil. Z nejvíce zastoupených mastných kyselin byla naměřena nejvyšší hodnota pro kyselinu olejovou v březnu ($22,91 \pm 1,64$ %), stearové v září ($15,83 \pm 0,14$ %) a v prosinci palmitové ($39,81 \pm 0,86$ %) a myristové ($13,86 \pm 0,20$ %). Hodnoty kyseliny vakcenové se nejvíce lišily mezi vzorkem ze září ($4,27 \pm 0,07$ %) a z prosince ($0,92 \pm 0,05$ %), kde zářijová hodnota byla čtyřikrát vyšší. V průběhu zimy tento obsah kyseliny vakcenové měl rostoucí trend. Obsah mastné kyseliny palmitové a myristové měl v průběhu zimy naopak klesající trend, zatímco obsah kyseliny olejové měl trend opět rostoucí. Obsah kyseliny máselné se pohyboval v rozmezí 1,87 – 2,51 %.

Z naměřených dat se dá usuzovat to, že buvolí mléčný tuk obsahuje méně nenasycených mastných kyselin než tukový podíl kravského mléka, ale vyšší obsah nasycených mastných kyselin. Buvolí mléko není pro lidské zdraví z pohledu obsahu nenasycených mastných kyselin přínosnější než kravské mléko. Jelikož buvolí mléko vykazuje vyšší tučnost než mléko kravské, je třeba zvážit jeho technologické využití pro některé mléčné výrobky např. máslo.

Metoda stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynového chromatografu s hmotnostním detektorem se ukázala být jako účinná, ale je třeba tuto metodu dále zdokonalovat, aby výsledky jednotlivých mastných kyselin byly přesnější.

8 Literatura

- Abd El -Fattah AM, Abd Rabo FHR, EL-Dieb SM, Elkashef HAS. 2012. Changes in composition of colostrum of Egyptian buffaloes and Holstein cows. *BMC Veterinary Research* **8**:1–7.
- Adam AC, Rubio-Teixeira M, Polaina J. 2004. Lactose: The milk sugar from a biotechnological perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44**:553-557
- Ahmad S. 2010. Understanding of the molecular changes in casein micelles of buffalo milk as a function of physicochemical conditions: a comparison with cow milk. AGROCAMPUS OUEST.
- Ahmad S, Anjum FM, Huma N, Sameen A, Zahoor T. 2013a. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences* **23**:62–74.
- Ahmad S, Gaucher I, Rousseau F, Beaucher E, Piot M, Grongnet JF, Gaucheron F. 2008. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. *Food Chemistry* **106**:11–17.
- Ahmad S, Zhang T, Lee F, Liu Y, Li X, Guo M. 2013b. Seasonal variations in chemical composition of buffalo milk. *Buffalo Bull* **32**:1324-1329.
- Benkerroum N. 2008. Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *African Journal of Biotechnology* **7**:4856–4867.
- Berger A, Turini ME, Colarow L. 2005. Buffalo milk gangliosides. U.S. Patent Application, USA. No 10/498,946.
- Bohl M, Bjørnshave A, Larsen MK, Gregersen S, Hermansen K. 2017. The effects of proteins and medium-chain fatty acids from milk on body composition, insulin sensitivity and blood pressure in abdominally obese adults. *European Journal of Clinical Nutrition* **71**:76–82.
- Borghese A, Rasmussen M, Thomas CS. 2007. Milking management of dairy buffalo. *Italian Journal of Animal Science*. **6**:39-50.
- Cai Q, Huang H, Qian D, Chen K, Luo J, Tian Y, Lin T, Lin T. 2013. 13-Methyltetradecanoic Acid Exhibits Anti-Tumor Activity on T-Cell Lymphomas In Vitro and In Vivo by Down-Regulating p-AKT and Activating Caspase-3. *PLoS ONE* **8**:e65308.
- de Hoffmann E. 2005. Mass Spectrometry. Page Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Engewald W, Dettmer-Wilde K. 2014. Theory of Gas Chromatography. Pages 21–57 Practical Gas Chromatography. Springer Berlin Heidelberg.
- Fox PF, Uniacke-Lowe T, McSweeney PLH, O'Mahony JA. 2015. Dairy chemistry and biochemistry, second edition. Springer, London.
- Friedrich, J.E., Acree, T.E. 1998. Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products. *International Dairy Journal*. **8**:235–241.
- Gómez-Cortés P, Juárez M, de la Fuente MA. 2018. Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. *Trends in Food Science and Technology* **81**:1–9.
- Gopal PK, Gill HS. 2000. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *British Journal of Nutrition* **84**:69–74.
- Han BZ, Meng Y, Li M, Yang YX, Ren FZ, Zeng QK, Robert Nout MJ. 2007. A survey on the microbiological and chemical composition of buffalo milk in China. *Food Control* **18**:742–746.
- Han X, Lee FL, Zhang L, Guo MR. 2012. Chemical composition of water buffalo milk and its low-fat symbiotic yogurt development. *Functional Foods in Health and Disease* **2**:86–106.

- Kapaj A, Deci E. 2017. World milk production and socio-economic factors effecting its consumption. Pages 107–115 Dairy in Human Health and Disease across the Lifespan. Academic press, San Diego.
- Keenan TW, Patton S. 1995. The Structure of Milk: Implications for Sampling and Storage. Pages 5–50 Handbook of Milk Composition. Academic press, San Diego.
- Khedkar CD, Kalyankar SD, Deosarkar SS. 2015. Buffalo Milk. Pages 522–528 Encyclopedia of Food and Health. Elsevier Inc.
- Kratz M, Baars T, Guyenet S. 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *European Journal of Nutrition* **52**:1–24.
- Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. 2000. Oligosaccharides in human milk: Structural, functional, and metabolic aspects. *Annual Review of Nutrition* **20**:699–722.
- Maier HG. 1972. Milk proteins. Chemistry and Molecular Biology. Bd. 1. Herausgeg. von H. A. McKenzie. Academic Press, New York-London 1970, 1. Aufl., XVII, 519 S., zahlr. Abb., geb. \$ 28.50. *Angewandte Chemie* **84**:368–368.
- Ménard O, Ahmad S, Rousseau F, Briard-Bion V, Gaucheron F, Lopez C. 2010. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chemistry* **120**:544–551.
- Michelizzi VN, Dodson M V., Pan Z, Amaral MEJ, Michal JJ, McLean DJ, Womack JE, Jiang Z. Michelizzi VN, Dodson M V., Pan Z, Amaral MEJ, Michal JJ, McLean DJ, Womack JE, Jiang Z. 2010. Water buffalo genome science comes of age. *International Journal of Biological Sciences* **6**:333–349
- Mihaylova, G., Peeva, T. 2007. Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo milk. *Italian Journal of Animal Science*. **6**:1056–1059.
- Mika A, Stepnowski P, Kaska L, Proczko M, Wisniewski P, Sledzinski M, Sledzinski T. 2016. A comprehensive study of serum odd- and branched-chain fatty acids in patients with excess weight. *Obesity* **24**:1669–1676.
- Moioli B, Borghese A. 2005. Buffalo Breeds and Management Systems. *Buffalo Production and Research*:51–108.
- Ruiz-Núñez B, Dijck-Brouwer DAJ, Muskiet FAJ. 2016. The relation of saturated fatty acids with low-grade inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* **36**:1–20.
- Sabarwal P, Oomen S, Ganguli N. 1972. Inorganic constituents of casein micelles from cow and buffalo milk **9**:144–146.
- Sahai D. 1996. Buffalo milk: chemistry and processing technology. Buffalo milk: chemistry and processing technology. S.I. Publications, Karnal.
- Sánchez A, Sierra D, Luengo C, Corrales JC, De La Fe C, Morales CT, Contreras A, Gonzalo C. 2007. Evaluation of the MilkoScan FT 6000 milk analyzer for determining the freezing point of goat's milk under different analytical conditions. *Journal of Dairy Science* **90**:3153–3161.
- Schönfeld P, Wojtczak L. 2016. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: The cellular perspective. *Journal of Lipid Research* **57**:943–954.
- Sharma R, Rajput YS, Dogra G, Tomar SK. 2007. Estimation of vitamin B12 by ELISA and its status in milk. *Milchwissenschaft* **62**:127–130.
- Soliman GZA. 2005. Comparison Of Chemical And Mineral Content Of Milk From Human, Cow, Buffalo, Camel And Goat In Egypt. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. **21**:116-130.
- Stuart B. 2005. Infrared Spectroscopy. Page Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

- Talpur FN, Bhanger MI, Khuhawar MY. 2006. Comparison of fatty acids and cholesterol content in the milk of Pakistani cow breeds. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**:698–703.
- Tonhati, H., Lima, A.L.F., Lanna, D.P.D., De Camargo, G.M.F., Baldi, F., De Albuquerque, L.G., Montrezor, J.M.C.D. 2011. Milk fatty acid characterization and genetic parameter estimates for milk conjugated linoleic acid in buffaloes. *Journal of Dairy Research*. **78**:178–183.
- Varricchio, M.L., Di Francia, A., Masucci, F., Romano, R., Proto, V. 2007. Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. *Italian Journal of Animal Science*. **6**:509-511.
- Varricchio ML, Francia A Di, Masucci F, Romano R, Proto V. 2016. Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. *Italian Journal of Animal Science* **6**:509–511.
- Vesa TH, Korpela R, Marteau P. 2000. Lactose Intolerance. *Journal of the American College of Nutrition* **19**:165S-175S.
- Watson JT, Sparkman OD. 2008. Introduction. Pages 1–52 *Introduction to Mass Spectrometry*. John Wiley & Sons, Ltd. Hoboken, NJ, USA. Yan Y, Wang Z, Greenwald J, Kothapalli KSD, Park HG, Liu R, Mendralla E, Lawrence P, Wang X, Brenna JT. 2017. BCFA suppresses LPS induced IL-8 mRNA expression in human intestinal epithelial cells. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **116**:27–31.
- Zicarelli L. 2020. Current Trends in Buffalo Milk Production. *Journal of Buffalo Science*, **9**:000-000.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

β -LG - β -laktoglobulin

CLA – konjugovaná kyselina linolová

FA – mastná kyselina

SFA – nasycená mastná kyselina

SCSFA – krátká nasycená mastná kyselina

MCSFA – středně dlouhá nasycená mastná kyselina

LCSFA – nasycená mastná kyselina s dlouhým řetězcem

TAG – triacylglycerol

HDL – lipoprotein s vysokou hustotou

LDL – lipoprotein s nízkou hustotou

BCSFA – nasycená mastná kyselina s rozvětveným řetězcem

OCSFA – nasycená mastná kyselina s lichým počtem atomů uhlíků

TFA – trans mastná kyselina

PHVO – částečně hydrogenované rostlinné oleje nebo tuky

MUFA – mononenasycená mastná kyselina

PUFA – polynenasycená mastná kyselina

MS – hmotnostní spektrometrie

GC – plynová chromatografie

IR – infračervená

KKBP – Katedra kvality a bezpečnosti potravin

ČZU – Česká zemědělská univerzita

10 Samostatné přílohy

Příloha I (% \pm SMODCH)

Mastné kyseliny	Lindabel	Nody	Twin
Kyselina máselná C4:0	2,91 \pm 0,06	2,85 \pm 0,03	2,10 \pm 0,05
Kyselina Kapronová C6:0	2,02 \pm 0,01	1,85 \pm 0,00	1,35 \pm 0,02
Kyselina Kaprylová C8:0	1,23 \pm 0,00	1,07 \pm 0,00	0,82 \pm 0,00
Kyselina Kaprinová C10:0	2,61 \pm 0,02	2,17 \pm 0,02	1,80 \pm 0,00
Kyselina Laurová C12:0	3,56 \pm 0,02	2,90 \pm 0,02	2,71 \pm 0,02
Kyselina tridecylová C13:0	0,11 \pm 0,00	0,10 \pm 0,00	0,12 \pm 0,00
Kyselina 12-methyl tridekanová	0,25 \pm 0,00	0,21 \pm 0,00	0,33 \pm 0,00
Kyselina myristová C14:0	15,33 \pm 0,07	13,10 \pm 0,08	12,44 \pm 0,17
Kyselina 13-methyl tetradekanová	0,54 \pm 0,00	0,47 \pm 0,00	0,70 \pm 0,02
Kyselina 12-methyl Sarcinová	0,81 \pm 0,00	0,74 \pm 0,00	1,06 \pm 0,01
Kyselina Myristoolejová C14:1 c-9	0,07 \pm 0,01	0,60 \pm 0,00	0,27 \pm 0,06
Kyselina Pentadecylová C15:0	1,87 \pm 0,00	1,72 \pm 0,01	2,19 \pm 0,01
Kyselina 14-methyl isopalmitová	0,42 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,49 \pm 0,01
Kyselina palmitová C16:0	33,92 \pm 0,08	33,33 \pm 0,10	31,38 \pm 0,69
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	0,15 \pm 0,01	0,69 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	0,53 \pm 0,02	1,64 \pm 0,05	0,75 \pm 0,12
Kyselina Fytanová	0,45 \pm 0,02	0,31 \pm 0,01	0,20 \pm 0,00
Kyselina Heptadekanová C17:0	1,12 \pm 0,00	0,87 \pm 0,00	1,13 \pm 0,00
Kyselina stearová C18:0	16,47 \pm 0,06	12,14 \pm 0,01	17,83 \pm 0,21
Kyselina elaidová C18:1 t-9	3,29 \pm 0,48	0,30 \pm 0,01	1,98 \pm 0,43
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	1,98 \pm 0,27	0,32 \pm 0,00	1,10 \pm 0,38
Kyselina Vakcenová C18:1 t-11	3,44 \pm 0,00	4,29 \pm 0,04	4,67 \pm 0,08
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	0,66 \pm 0,09	0,26 \pm 0,00	0,48 \pm 0,00
Kyselina olejová C18:1 c-9	5,04 \pm 0,48	15,24 \pm 0,15	11,69 \pm 1,56
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	0,31 \pm 0,03	0,36 \pm 0,00	0,38 \pm 0,01
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	0,37 \pm 0,06	0,96 \pm 0,02	0,78 \pm 0,10
Kyselina Arachidová C20:0	0,30 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	0,39 \pm 0,00
Kyselina α -Linolenová C18:3 c-9, c-12, c-15	0,20 \pm 0,03	0,76 \pm 0,01	0,61 \pm 0,11
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	0,05 \pm 0,01	0,11 \pm 0,00	0,14 \pm 0,01

Příloha čII (%±SMODCH)

Mastné kyseliny	Brie	Halfhorn
Kyselina máselná C4:0	2,40±0,03	2,41±0,02
Kyselina Kapronová C6:0	1,25±0,02	1,84±0,01
Kyselina Kaprylová C8:0	0,68±0,02	1,22±0,00
Kyselina Kaprinová C10:0	1,42±0,03	2,68±0,01
Kyselina Laurová C12:0	2,19±0,04	3,64±0,02
Kyselina tridecylová C13:0	0,10±0,00	0,12±0,00
Kyselina 12-methyl tridekanová	0,34±0,00	0,23±0,00
Kyselina myristová C14:0	11,43±0,31	15,95±0,03
Kyselina 13-methyl tetradekanová	0,67±0,02	0,54±0,01
Kyselina 12-methyl Sarcinová	1,07±0,02	0,81±0,01
Kyselina Myristoolejová C14:1 c-9	0,28±0,05	0,26±0,01
Kyselina Pentadecylová C15:0	2,24±0,05	2,01±0,01
Kyselina 14-methyl isopalmitová	0,51±0,00	0,52±0,00
Kyselina palmitová C16:0	34,71±1,19	34,40±0,06
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	0,12±0,02	0,17±0,00
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	0,84±0,14	0,64±0,01
Kyselina Fytanová	0,15±0,01	0,18±0,00
Kyselina Heptadekanová C17:0	1,10±0,02	1,07±0,01
Kyselina stearová C18:0	16,37±0,40	13,31±0,02
Kyselina elaidová C18:1 t-9	1,46±0,37	2,27±0,14
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	0,98±0,23	1,52±0,05
Kyselina Vakcenová C18:1 t-11	5,04±0,51	3,57±0,02
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	0,48±0,04	0,49±0,00
Kyselina olejová C18:1 c-9	11,84±1,79	8,66±0,09
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	0,42±0,03	0,35±0,00
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	0,85±0,14	0,50±0,00
Kyselina Arachidová C20:0	0,30±0,100	0,23±0,00
Kyselina α-Linolenová C18:3 c-9, c-12, c-15	0,70±0,14	0,30±0,01
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	0,07±0,01	0,08±0,00

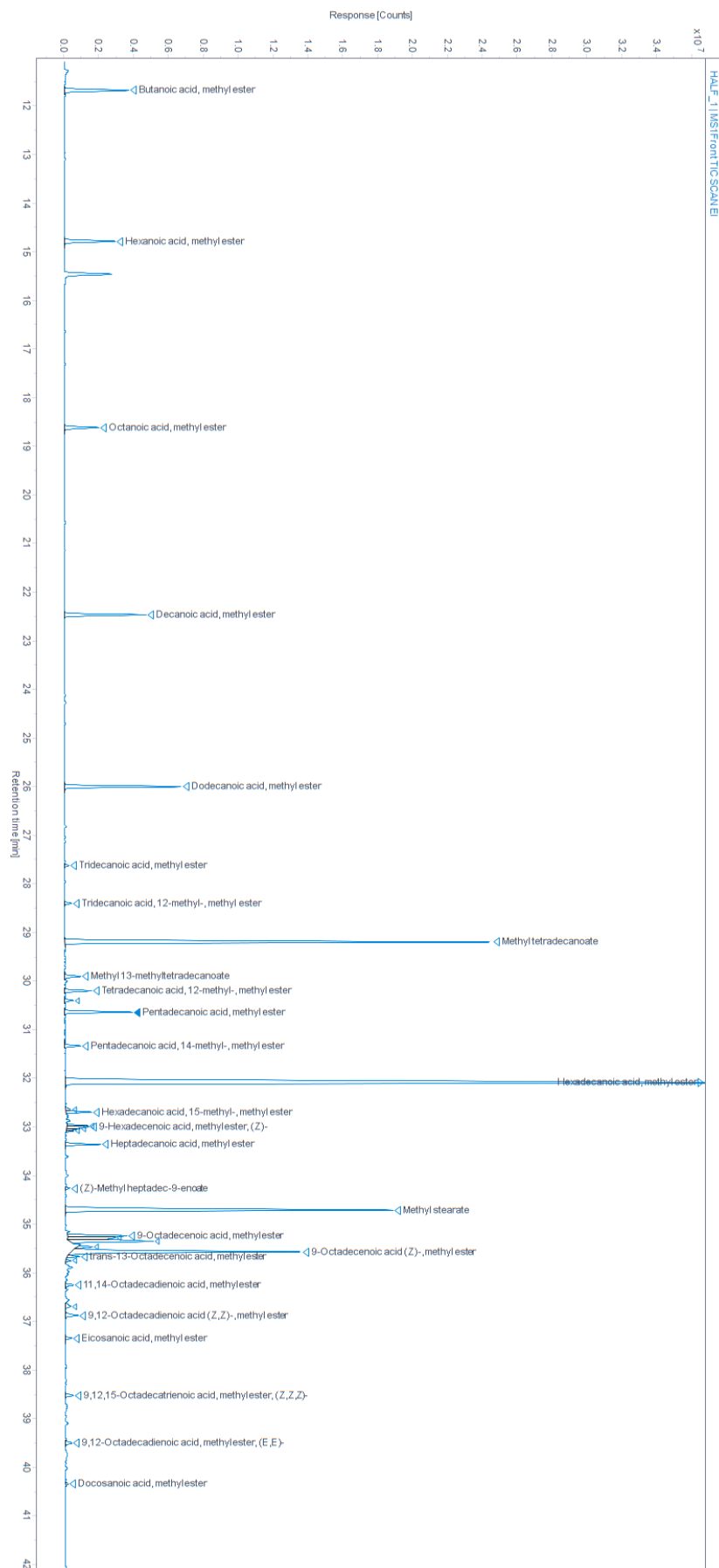
Příloha III (%±SMODCH)

Mastné kyseliny	září	prosinec	leden	březen
Kyselina máselná C4:0	2,51±0,05	2,47±0,00	2,15±0,01	1,87±0,11
Kyselina Kapronová C6:0	1,59±0,02	1,67±0,00	1,38±0,00	1,18±0,07
Kyselina Kaprylová C8:0	0,95±0,01	0,96±0,00	0,79±0,00	0,67±0,04
Kyselina Kaprinová C10:0	2,02±0,02	1,97±0,01	1,63±0,00	1,40±0,07
Kyselina Laurová C12:0	2,89±0,02	2,68±0,02	2,30±0,00	1,99±0,11
Kyselina tridecylová C13:0	0,11±0,00	0,15±0,00	0,11±0,00	0,14±0,00
Kyselina 12-methyl tridekanová	0,30±0,00	0,29±0,00	0,25±0,00	0,29±0,02
Kyselina myristová C14:0	13,36±0,03	13,86±0,20	11,99±0,03	10,57±0,54
Kyselina 13-methyl tetradekanová	0,63±0,01	0,77±0,01	0,67±0,00	0,78±0,01
Kyselina 12-methyl Sarcinová	0,96±0,01	1,05±0,01	1,12±0,00	1,15±0,07
Kyselina Myristoolejová C14:1 c-9	0,25±0,00	0,49±0,07	0,75±0,01	0,40±0,33
Kyselina Pentadecylová C15:0	2,08±0,00	2,48±0,03	2,24±0,00	2,21±0,13
Kyselina 14-methyl isopalmitová	0,49±0,00	0,45±0,01	0,43±0,00	0,48±0,04
Kyselina palmitová C16:0	33,84±0,27	39,81±0,86	33,53±0,07	29,52±1,34
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	0,14±0,01	0,21±0,02	0,08±0,00	0,22±0,14
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	0,78±0,00	1,50±0,16	0,96±0,04	2,25±0,07
Kyselina Fytanová	0,15±0,00	0,08±0,01	0,99±0,07	0,07±0,01
Kyselina Heptadekanová C17:0	1,09±0,00	1,27±0,01	1,19±0,00	1,10±0,06
Kyselina stearová C18:0	15,83±0,14	9,66±0,12	11,17±0,05	9,85±0,56
Kyselina elaidová C18:1 t-9	2,33±0,12	2,05±0,30	1,09±0,00	3,54±0,81
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	1,00±0,25	1,28±0,15	0,73±0,03	1,73±0,34
Kyselina Vakcenová C18:1 t-11	4,27±0,07	0,92±0,05	1,49±0,04	2,28±0,47
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	0,51±0,02	0,26±0,04	0,39±0,00	1,20±0,20
Kyselina olejová C18:1 c-9	9,96±0,13	12,02±1,37	20,50±0,03	22,91±1,64
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	0,40±0,02	0,34±0,01	0,47±0,01	0,42±0,10
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	0,68±0,03	0,61±0,07	0,89±0,00	1,11±0,10
Kyselina Arachidová C20:0	0,31±0,00	0,28±0,00	0,30±0,00	0,33±0,03
Kyselina α-Linolenová C18:3 c-9, c- 12, c-15	0,48±0,01	0,34±0,05	0,34±0,00	0,19±0,16
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	0,11±0,00	0,07±0,00	0,08±0,00	0,15±0,00

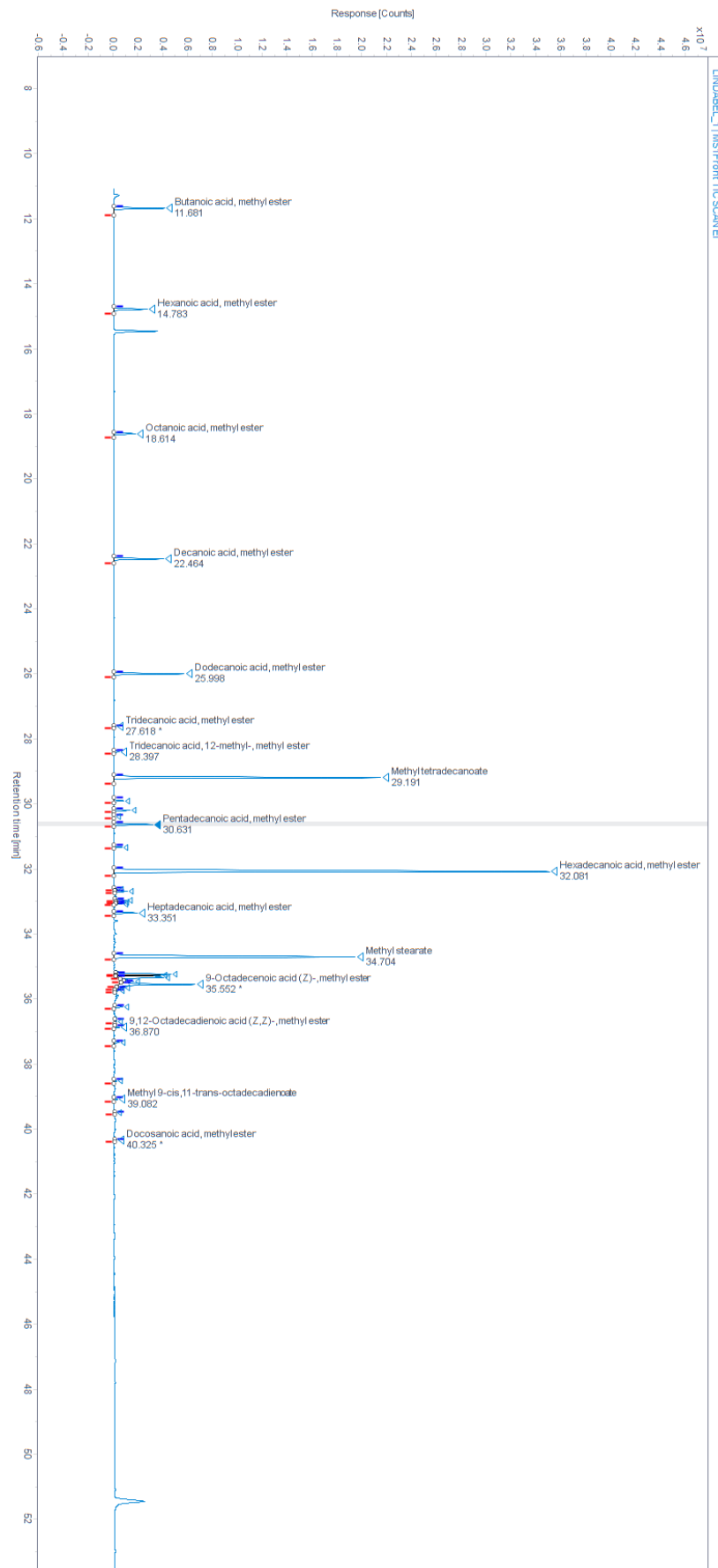
Příloha IV(%±SMODCH)

Mastné kyseliny	Kráva1	Kráva2
Kyselina máselná C4:0	1,88	5,16
Kyselina Kapronová C6:0	1,67	2,56
Kyselina Kaprylová C8:0	1,30	1,67
Kyselina Kaprinová C10:0	3,60	3,96
Kyselina Laurová C12:0	4,75	4,81
Kyselina tridecylová C13:0	0,19	0,18
Kyselina 12-methyl tridekanová	0,10	0,11
Kyselina myristová C14:0	13,99	13,75
Kyselina 13-methyl tetradekanová	0,18	0,20
Kyselina 12-methyl Sarcinová	0,45	0,39
Kyselina Myristoolejová C14:1 c-9	0,43	0,10
Kyselina Pentadecylová C15:0	1,81	1,72
Kyselina 14-methyl isopalmitová	0,27	0,27
Kyselina palmitová C16:0	35,40	36,68
Kyselina methyl (Z)-11 hexadecenová	0,26	0,40
Kyselina palmitoolejová C16:1 c-9	1,02	0,39
Kyselina Fytanová	0,09	0,33
Kyselina Heptadekanová C17:0	0,85	0,64
Kyselina stearová C18:0	11,34	10,01
Kyselina elaidová C18:1 t-9	3,00	5,42
Kyselina isoolejová C18:1 t-10	1,79	3,41
Kyselina Vakcenová C18:1 t-11	0,95	0,64
Kyselina oktadecenová C18:1 t-12	0,82	3,07
Kyselina olejová C18:1 c-9	11,84	3,16
Kyselina oktadecenová C18:1 t-13	0,74	0,71
Kyselina linolová C18:2 c-9, c-12	0,95	0,11
Kyselina Arachidová C20:0	0,17	0,11
Kyselina α-Linolenová C18:3 c-9, c-12, c-15	0,16	0,02
Kyselina dokosadienová C22:2 c-13, c-16	0,01	0,03

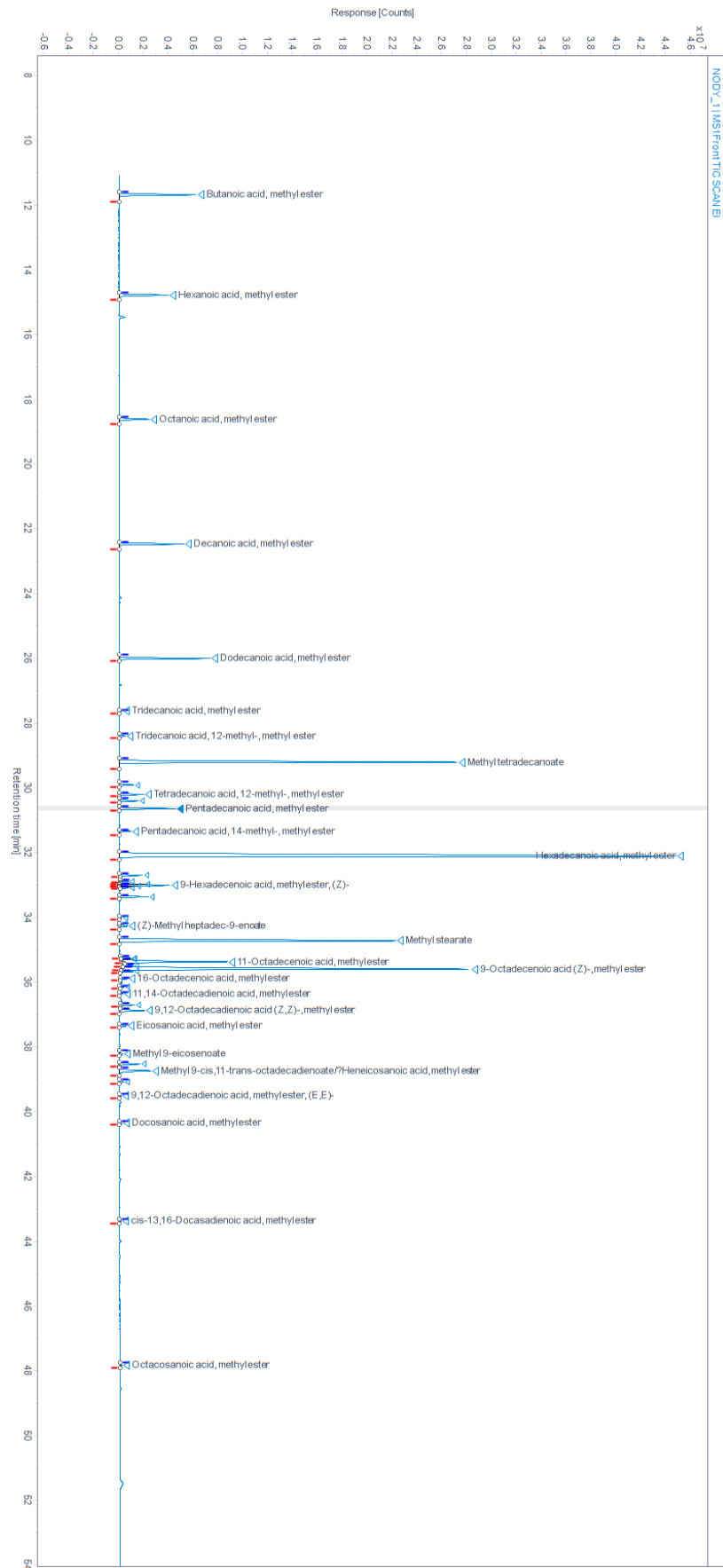
Příloha V



Příloha VI



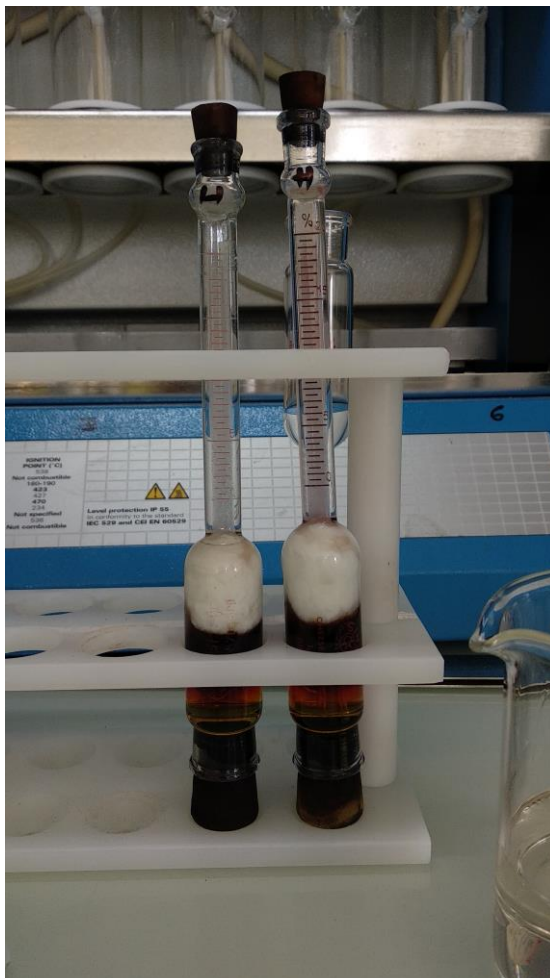
Příloha VII



Příloha VIII



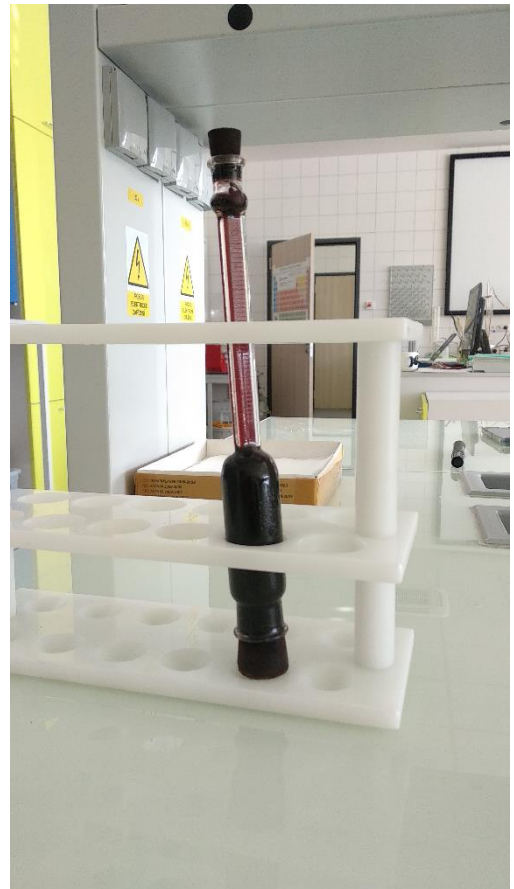
Příloha IX



Příloha X



Příloha XI



Příloha XII

