

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Ketolátky a volné mastné kyseliny v mléce vysokoužitkových krav

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Konzultant diplomové práce: Ing. Zuzana Křížová

Autor diplomové práce: Bc. Hana Nová

České Budějovice, 2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Hana NOVÁ**
Osobní číslo: **Z16310**
Studijní program: **N4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Název tématu: **Ketolátky a volné mastné kyseliny v mléce vysokoužitkových krav**
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Obsah volných mastných kyselin (VMK) v mléce souvisí s úrovní energetického metabolismu a enzymatickou aktivitou bakteriálních a nativních lipáz. Energetický deficit je u dojnic spojen s mobilizací rezervního tuku a vzestupem ketolátek v mléce (acetonu a kyseliny beta-hydroxymáselné - BHB).

Cílem diplomové práce je vyhodnotit obsah VMK a ketolátek v mléce v první fázi laktace a vyjádřit jejich závislost na užitkovosti, vybraných jakostních parametrech mléka a obsahem ketolátek.

Pro zpracování diplomové práce využijte výsledky laboratorního rozboru individuálních vzorků mléka dojnic z chovu s průměrnou užitkovostí 12000 l mléka za laktaci z období let 2015-2016. Vyhodnoňte zejména vztah mezi obsahem VMK v mléce, obsahem mléčného tuku, močoviny v mléce, obsahem acetonu a BHB. Vyjádřete dynamiku VMK, BHB v průběhu roku. Výsledky zpracujte statisticky, uveďte v tabulkách a grafech. V diskusi vysvětlete a zdůvodněte výsledky, zpracujte přehledný stručný závěr a doporučení pro praxi.

Rozsah grafických prací: 10 tabulek, 5 grafů
Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

Duffield, T. (2000): Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 16 (2):231-253.
Hanuš, O et al. (2013): Metaanalysis of ketosis milk indicators in terms of their threshold estimation. *Acta univ. agric. et. silvic. Medel. Brun.*, 61 (6): 929-937.
Hofírek, B. a kol. (2004): Produkční a preventivní medicína v chovech skotu. VFU Brno. 184 s.
Křížová, Z. a kol. 2016: Účinek monenzinu na mléčnou produkci a obsah kyseliny beta-hydroxymáselné v mléce dojnic. *Mlékařské listy, MILCOM a.s.*, 27 (5): 23-24.
Šlosárková, S., Fleischer, P., Skřivánek, M. (2015): Ketóza. Produkční poruchy dojnic v tranzitním období. Příloha měsíčníku *Náš chov*, 6-8.
Samková, E. a kol. (2012): Mléko, produkce a kvalita. JU v Č. Budějovicích. 240 s.
Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Agroweb, Agris, Scopus, Česká zemědělská a bibliografická databáze, příslušné odborné a vědecké časopisy.

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

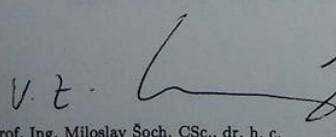
Katedra zootechnických věd

Konzultant diplomové práce: Ing. Zuzana Křížová

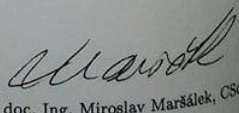
Katedra zootechnických věd

Datum zadání diplomové práce: 17. března 2017

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2018


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentůvě 1888, 370 05 České Budějovice


doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3. 5. 2018

.....

Bc. Hana Nová

Poděkování

Děkuji panu prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. za odborné a cenné rady, které mi poskytl v průběhu zpracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Zuzaně Křížové za poskytnuté rady a neméně bych chtěla poděkovat rodině za psychickou podporu po dobu psaní mé práce.

Diplomová práce vznikla za podpory projektu GAJU: 002/2016/Z „Genetika, zdraví zvířat a kvalita produktů jako základ konkurenceschopnosti“.

Pro zpracování diplomové práce byly využity výsledky kontroly užitečnosti a analýzy vybraných metabolických parametrů mléka, které byly stanoveny za podpory projektu NAZV: QJ1510336 „Výzkum a podpora produkce zdravotně a spotřebitelsky benefičních mléčných výrobků cílenou selekcí a modifikací profilu mastných kyselin mléčného tuku“.

Abstrakt

Cílem předkládané diplomové práce bylo vyhodnotit výskyt ketolátek a volných mastných kyselin v mléce vysokoužitkových krav. Ketóza je velmi časté metabolické onemocnění u dojnic, jejímž důsledkem je snížení produkce mléka, narušení plodnosti a častější výskyt dalších onemocnění. Ketózy jsou nejen závažnými zdravotními, ale i ekonomickými problémy, kterým lze předejít vyvážeností krmné dávky respektující fyziologické potřeby pokrytí energetického výdeje po porodu a v počátku laktace vysokoužitkových krav. Sledování proběhlo v roce 2016 v chovu Chyšná, který je jedním ze středisek Agrodružstva Košetice a. s. Celkem bylo sledováno 1 407 krav v průběhu 6 kontrol užitkovosti (od ledna do června 2016). Výskyt subklinických ketóz byl definován podle obsahu ketolátek v mléce (aceton a kyselina betahydroxymáselná). Kritické se ukázalo období prvních 12 dní laktace, kdy byl výskyt subklinických ketóz nejvyšší, výskyt tohoto onemocnění byl však nižší než v jiných chovech. V chovu Chyšná je nízký výskyt subklinických ketóz ovlivněn hlavně zootechnickou prací a spoluprací s krmivářským poradcem a firmou na výrobu krmných směsí. Mezi preventivní postupy lze doporučit pravidelné analýzy krmiv a vyšetření volných mastných kyselin a ketolátek v mléce.

Klíčová slova:

ketóza, kyselina betahydroxymáselná, aceton, volné mastné kyseliny

Abstract

The aim of this diploma thesis was to evaluate the occurrence of ketones and free fatty acids in milk of high-yielding cows. Ketosis is a very common metabolic disorder in dairy cows resulting in reduced milk production, fertility disturbance and more frequent occurrences of other diseases. Ketosis is not only a serious health problem, but also an economic problem, that can be avoided by balancing the feeding dose respecting the physiological needs of energy delivery after birth and at the beginning of lactation of high-yielding cows. The monitoring was carried out in 2016 at Chyšná, which is one of the centers of Agribusiness Košetice a.s. Overall were 1407 cows monitored during the 6 utility tests (from January to June 2016). The occurrence of subclinical ketosis was defined by the content of ketones in milk (acetone and beta-hydroxybutyric acid). Critical was the period of the first 12 days of lactation, when the occurrence of subclinical ketosis was the highest, the occurrence of this disease was lower than in other breeds. At Chyšná breeding, the low incidence of subclinical ketosis is mainly influenced by zootechnical work and by working with the feed consultant and the company for the production of compound feeds. As a precautionary process, regular feed analysis and examination of free fatty acids and ketones in milk can be recommended.

Key Words: ketosis, beta-hydroxybutyric acid, acetone, free fatty acids

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Cíl diplomové práce.....	10
3	Složení mléka.....	11
3.1	Dusíkaté látky mléka.....	11
3.2	Nebílkovinné dusíkaté látky.....	14
3.2.1	Močovina	15
3.3	Mléčný tuk	15
3.3.1	Prekurzory mléčného tuku	16
3.3.2	Chemické složení tuku	17
3.3.3	Mastné kyseliny	18
3.3.4	Metody stanovující mastné kyseliny a tuk v mléce	19
3.3.5	Acylglyceroly mléčného tuku	19
3.3.6	Složené lipidy mléčného tuku	20
3.4	Mléčný cukr	20
3.5	Vitamíny a minerální látky.....	21
3.6	Obsah acetonu v mléce.....	23
4	Ketóza	25
4.1	Patogeneze.....	26
4.2	Symptomy	27
4.3	Diagnóza	28
4.4	Terapie a prevence	28
4.5	Beta hydroxybutyrát.....	29
5	Volné mastné kyseliny.....	30
6	Materiál a metodika	32
7	Výsledky	34
7.1	Výskyt subklinických ketóz	34
7.2	Obsah ketolátek v mléce	36
7.3	Obsah volných mastných kyselin (VMK) v mléce	38
7.4	Vztah mezi ketolátkami, močovinou, mléčným tukem a volnými mastnými kyselinami v mléce	39
8	Diskuze	42
8.1	Výskyt subklinických ketóz	42

8.2	Výskyt subklinických ketóz v dalším období během laktace	42
8.3	Obsah ketolátek v mléce	43
8.4	Obsah volných mastných kyselin v mléce	44
8.5	Vztahy VMK ke klátkám a dalším parametrům	44
8.6	Vztahy BHB v mléce k acetonu v mléce	45
9	Závěr	46
10	Seznam tabulek a grafů	48
11	Seznam literatury	49
12	Přílohy	53

1 Úvod

Ketóza je běžné onemocnění vysokoužitkových krav po porodu a v počáteční fázi laktace. Je to akutní, chronicky nebo subklinicky probíhající onemocnění charakterizované hyperketonemií, hyperketolaktií, hyperglykemií a tukovou degradací jater. Ketóza se vyskytuje nejčastěji mezi druhým a šestým týdnem po porodu, kdy se velké množství tělesného tuku využívá k podpoře tvorby mléka. Odbourávání tělesného tuku vede k výrazné mobilizaci lipidů a k výraznému zvýšení neesterifikovaných mastných kyselin a ketonových látek v mléce. Významná je ekonomická stránka tohoto onemocnění, kdy dochází v důsledku snížené produkce mléka, narušení jeho kvality, zvýšených poruch reprodukce a snížené životaschopnosti telat k velkým ztrátám. Primární ketóza vzniká při neadekvátní výživě vysokoprodukčních dojnic a sekundární ketóza nastupuje při sníženém příjmu krmiva z jiných zdravotních důvodů a nesouvisí s krmnou dávkou.

Aceton a kyselina beta-hydroxymáselná jsou běžné látky vyskytující se v organismu. Jejich obsah v mléce dojnic indikuje metabolický stav ve vazbě odbourávajících tělesných rezerv ke krytí poporodního deficitu. Zamezit zvýšeným hladinám těchto metabolitů lze pouze řízenou výživou a maximálním pokrytím energetického deficitu krav upravenými krmnými dávkami či preventivním podáním preparátů.

Volné mastné kyseliny jsou těkavé a ovlivňují senzorické vlastnosti mléka a mléčných produktů. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou obsaženy v mléčné plazmě a mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou obsaženy v mléčném tuku, jejich změny vznikají v organismu a pokračují během dojení a zpracování mléka. Zvyšující se obsah volných mastných kyselin v mléce signalizuje lipolýzu, která je nežádoucím jevem.

2 Cíl diplomové práce

Cílem práce je vyhodnocení výskytu subklinických ketóz a zjištění hladiny ketolátek a volných mastných kyselin v mléce vysokoužitkových krav a posouzení jejich vzájemného vztahu.

3 Složení mléka

Mléko nemá stálé chemické složení ani výživnou hodnotu, mění se v průběhu dojení, v průběhu dne a laktace. Složení mléka závisí také na plemeni, složení krmiv, technice chovu, zdravotním stavu a způsobu dojení (Louda a kol, 1994). Základní složení mléka je dáno obsahem vody, lipidů, sacharidů, proteinů a minerálů (Reece, 1998). Obsah vody v kravském mléce je 87 – 91 % (Velíšek, 2002). Sušinu tvoří bílkoviny, mléčný tuk, laktóza, minerální látky, vitamíny a další látky (Grieger a kol, 1990). Podle Loudy a kol. (1994) je obsah tuku v kravském mléce 3,8 %, bílkovin 3,3 %, mléčného cukru 4,7 % a minerálních látek 0,7 %. Mléko je velmi komplikovaný disperzní systém, ve kterém kaseinové molekuly tvoří micelární disperze, globulární bílkoviny syrovátky koloidní disperze, tuk přítomný ve formě tukových kapek tvoří emulzi, částice lipoproteinů koloidní suspenzi, nízkomolekulární látky tvoří pravý roztok. Typické zbarvení souvisí s rozptylem a absorpcí světla na tukových částicích a micelách kaseinů, nažloutlé zbarvení mléka způsobují karotenoidní látky přítomné v tukové fázi a nazelenalé zbarvení syrovátky přítomný riboflavin (Velíšek, 2002).

Prekursorů složek mléka se v převážné míře vytvářejí v játrech ze živin vstřebaných v trávicím ústrojí. U přežvýkavců se některé prekursorů vytvářejí v předžaludku v důsledku kvasných procesů. Krví se prekursorů dostávají do sekrečních buněk mléčné žlázy a tvoří se mléko. K tvorbě mléka se využije látek přecházejících z krve přímo do mléka (minerální látky) nebo dochází k biosyntéze v sekrečních buňkách mléčné žlázy (kasein, laktóza, mastné kyseliny s krátkým řetězcem). Je nutné intenzivní zásobení mléčné žlázy krví (500 litrů krve na 1 litr mléka) a dostatečný obsah živin v krvi (Samková a kol, 2008).

3.1 Dusíkaté látky mléka

Dusíkaté látky jsou nejkomplexnější složka určující také základní fyzikální a chemické vlastnosti mléka. Součástí složitěho komplexu dusíkatých látek v mléce jsou bílkoviny, celkové bílkoviny zahrnují čisté bílkoviny a nebílkovinné dusíkaté látky (Samková a kol, 2012). Bílkoviny mléka představují asi 95 % všech dusíkatých látek v mléce. Kasein, laktoalbuminy a laktoglobuliny nejsou homogenní a tvoří se z více frakcí. Hlavními prekursorů mléčných bílkovin jsou volné aminokyseliny z krve a částečně aminokyseliny plazmatických bílkovin (Sova a kol, 1990).

Tabulka 1: Obsah dusíkatých látek v kravském mléce

Celkové bílkoviny 3,2 – 3,5 %	95 % N čisté bílkoviny 3,0 – 3,3 %	80 % kasein 2,4 – 26 %	α – kasein 44,2 % β – kasein 24,1 % γ – kasein 2,0 % κ – kasein 10,7%
		20 % sérové bílkoviny 0,5 % - 0,7 %	α – laktoalbumin 3,8 % β – laktoglobulin 9,6 % serumalbumin 0,9 % imunoglobuliny 1,8 % proteózo – peptony 2,9 %
	5 % N nebílkovinný dusík 25 – 35 mg ve 100 g	50 % močovina 20 – 30 mg ve 100 ml	50 % albumózy, peptony, kreatin, kreatinin, aj.

(Samková a kol, 2012)

Bílkoviny jsou rozděleny na 3 frakce, a to na kasein, laktoalbumin a laktoglobulin (Grieger a kol, 1990). Mléčné bílkoviny obsahují v průměru 15,67 % dusíku a technologicky nejhodnotnější složkou je kasein, který tvoří přes 75 % bílkovin (Doležal a kol, 2000). Kasein patří mezi složené proteiny, obsahuje velké množství esterově vázané kyseliny fosforečné, řadí se sem též lipoproteiny tukových kuliček a mléčné enzymy. Po oddělení kaseinu z mléka zůstanou v roztoku bílkoviny mléčného séra (syrovátkové bílkoviny) (Grieger a kol, 1990).

Většina mléčných bílkovin vzniká v buňkách sekrečního epitelu mléčné žlázy, jen málo jich proniká z krve. Nutričně významné čisté bílkoviny jsou tvořeny bílkovinnými polymorfními systémy alfa s1 kaseinem, beta kaseinem, kapa

kaseinem, beta laktoglobulinem a alfa laktoalbuminem. Vyskytují se v mléce především v podobě kaseinových micel (Doležal a kol, 2000).

Obsah bílkovin v mléce je ovlivňován řadou faktorů: výživa, plemeno, dojivost, sezóna, stadium laktace, pořadí laktace atd. Nejvyšší obsah bílkovin v mléce vykazují dojnice plemene Jersey (3,70 %) a nejnižší krávy plemene Holštýn (3,10 %). Tvorba bílkovin je energeticky velmi náročná, proto je možné dle jejich obsahu usuzovat na energetický a dusíkatý metabolismus krav (Doležal a kol, 2000).

Tabulka 2: Zastoupení jednotlivých bílkovin v celkových bílkovinách mléka

Bílkoviny mléka	Zastoupení v mléce (%)
Kasein	75 – 85 %
Syrovátkové bílkoviny	15 – 22 %
Imunoglobuliny	1,9 – 3,3 %
Proteózo-peptonová frakce	2 – 6 %
Bílkoviny tukových kuliček, enzymů aj.	0,2 %

(Grieger a kol, 1990)

Kasein je hlavní a nejvíce zastoupenou bílkovinou mléka, se kterou se jinde v tělních tekutinách nesetkáme. Vázaný fosfor řadí kasein k fosfoproteinům. Převážná část kaseinu (95 %) je ve správně ošetřeném mléce zdravých dojnic přítomna ve formě koloidních částic (micel) (Grieger a kol, 1990). Kasein je komplex frakcí fosfoproteinů, u kterých je známa aminokyselinová skladba a struktura. Kasein se z mléka vysráží okyselením při pH 4,6 a teplotě 20 °C. Kaseinový komplex je tvořen α_s - kaseiny (tvoří 45 – 55 % z čistých bílkovin) a β – kaseiny (tvoří 23 – 25 % z čistých bílkovin) (Samková a kol, 2012).

Syrovátkové neboli sérové bílkoviny zůstanou v roztoku po vysrážení kaseinu syřidlem nebo kyselinami při pH 4,6. Jejich zastoupení je asi 17 - 20 % ze všech bílkovin v mléce a koagulují při 60 až 70 °C. Vliv na zastoupení těchto bílkovin má hormonální status dojnice a laktační stádium (Grieger a kol, 1990). Mezi syrovátkové bílkoviny se řadí α – laktoalbumin, β – laktoglobulin, serumalbumin, imunoglobuliny a proteózo – peptony.

Tabulka 3: Syrovátkové bílkoviny mléka

Bílkovina	Podíl na veškerých bílkovinách mléka (%)	Původ
β – laktoglobulin	7 – 12	Mléčná žláza
α – laktoalbumin	2 – 5	Mléčná žláza
Sérumalbumin	0,7 – 1,3	Krev
Imunoglobuliny IgG ₁ , IgG ₂		Krev
Imunoglobuliny IgA, IgM		Mléčná žláza
Minoritní bílkoviny		

(Grieger a kol, 1990)

Enzymy mají podobné vlastnosti jako bílkoviny a jejich účinnost je značně specifická, u většiny enzymů je určené teplotní a pH optimum účinnosti. V mléce se nacházejí dvě velké skupiny enzymů, a to původní enzymy, které pocházejí z krve, leukocytů a z buněk mléčné žlázy a druhotné enzymy, které jsou produkty aktivity mikroorganismů v mléce. Dále můžeme enzymy dělit podle druhu účinku na hydrolytické, které štěpí hlavní složky mléka a oxidoredukční, které katalyzují štěpení jednodušších látek na jednoduché konečné produkty (Grieger a kol, 1990).

Aminokyseliny jsou stavební částice mléčných, syrovátkových a dalších bílkovin. V mléce a mléčných výrobcích se sleduje obsah esenciálních i ostatních aminokyselin. Nejvíce zastoupeny jsou kyselina glutamová (28 %), glycin (11,5 %) a prolin (4,2 %) (Grieger a kol, 1990).

3.2 Nebílkovinné dusíkaté látky

Nebílkovinné dusíkaté látky zůstávají v roztoku po vysrážení veškerých bílkovin mléka roztokem 12% kyseliny trichloroctové. Koncentrace nebílkovinných dusíkatých látek je 250 – 350 mg v litru mléka. Jedná se o produkty metabolismu a největší podíl představuje močovina (50 %). Dalšími nebílkovinnými dusíkatými látkami v mléce jsou volné aminokyseliny, kyselina močová, kreatin, kreatinin, kyselina orotová, nukleotidy, vitaminy B skupiny, amoniak aj. (Samková a kol, 2012).

3.2.1 Močovina

Močovina je konečným produktem metabolismu bílkovin a je obsažena v krvi, moči, slinách a mléku (Samková a kol, 2012). Močovina v mléce je odpadní látka bílkovinného metabolismu a může ovlivňovat bod mrznutí mléka. Nejlepší pro zjišťování močoviny v mléce jsou specifické ureolytické metody, kde se měří vznik reakčních produktů hydrolytického štěpení močoviny. Měření obsahu močoviny v mléce se stává součástí kontroly užitkovosti krav (Doležal a kol, 2000).

Močovina je přirozenou složkou mléka a za fyziologické se považují hodnoty v rozpětí 150 - 300 mg·l⁻¹ mléka, tj. 2,6 – 4,6 mmol·l⁻¹. Obsah v mléce je výsledkem energetického a dusíkatého metabolismu zvířete, který je zcela odvislý od úrovně výživy. Při nedostatečném příjmu sacharidů jsou v předžaludku dusíkaté látky nedostatečně využívány a játra syntetizují z resorbovaného amoniaku močovinu, a ta je pak vylučována močí a mlékem (Samková a kol, 2012). Nejdůležitější je sledování obsahu močoviny v mléce u vysokoužitkových krav v prvních pěti měsících laktace a v letním období. Nadměrný obsah močoviny v krvi vzniklý jaterní detoxikací přebytku amoniaku vzniklého bakteriálním štěpením proteinu krmiv v batoru odkazuje na přebytek dusíkatých látek nebo nedostatek pohotové energie v krmné dávce vzhledem k aktuální užitkovosti. Zvýšená hladina je doprovázena alkalizací batorového obsahu a následnými metabolickými poruchami, snížením užitkovosti, zhoršením reprodukčních ukazatelů, zhoršením technologických vlastností mléka a zpravidla sníženým obsahem bílkovin a tukuprosté sušiny. Naopak snížená hladina močoviny ukazuje většinou na nedostatek dusíkatých látek v krmné dávce (Doležal a kol, 2000).

3.3 Mléčný tuk

Tuk je jednou ze základních součástí mléka z nutričního i hospodářského hlediska (Grieger a kol, 1990). Je významným zdrojem esenciálních mastných kyselin, lipofilních vitaminů a látek způsobujících aroma mléka (Samková a kol, 2012). Obsah tuku v mléce závisí na plemeni krav, doživosti, sezóně, krmení a stádiu laktace. Nejvyšší obsah tuku v mléce mají plemena Jersey a Guernsey, střední obsah pak plemena s kombinovanou užitkovostí a nejnižší mléčná plemena skotu (Doležal a kol, 2000). Obsah a kvalita tuku ovlivňují smyslové vlastnosti mléka (Grieger a kol, 1990). Mléčný tuk se tvoří ze 75 % aktivní činností epitelu mléčné žlázy a

základním zdrojem pro syntézu mléčného tuku jsou mastné kyseliny. Tyto mastné kyseliny se tvoří zkvašováním sacharidů v předžaludcích mikrobiální činností a jsou resorbovány přímo v bachoru, dostávají se vrátničným oběhem do jater a krví jsou doprovázeny do vemene (Sova a kol, 1990).

Mléčný tuk je jedním z nejkomplicovanějších přírodních tukových komplexů a nachází se v mléce ve formě emulze. Tuk je v mléce v podobě tukových kuliček, jejich rozměry se pohybují od 0,1 do 15 μm a v 1 ml mléka je jich přibližně 15 miliard. Nejčastěji se však vyskytuje ve velikosti 2,5 – 3,5 μm a nejvíce (90 %) jsou zastoupeny tukové kapénky o průměrné velikosti 0,4 μm , hmotnostně nejvyšší podíl představují tukové kapénky o velikosti 3 – 4 μm (Samková a kol, 2012). Tukové kuličky jsou obaleny proteinovými membránami, protože jsou do mléka uvolňovány prostřednictvím apokrinní sekrece sekrečním epitelem alveolů mléčné žlázy (Doležal a kol, 2000). Tukové kuličky mají povrchovou vrstvu složenou z více částí, uhlovodíkové řetězce této vrstvy jsou zakotveny v jádru tukové kuličky. Fosfolipidová část této vrstvy obsahuje cholesterol, největší část karotenoidů a vitamin A, a hydrofilní části složených lipidů zasahují do části bílkovinné. Bílkovinná vrstva obklopuje vrstvu fosfolipidovou a je významná pro koloidně chemickou stabilitu emulze mléčného tuku. V bílkovinné části membrány se nachází enzymy, železo a měď ve spojení s bílkovinami, část solí a vázanou vodu (Grieger a kol, 1990). V jádru tukových kapének jsou převážně nepolární lipidy (triacylglyceroly), jeho povrch je chráněn tenkou membránou se složitou strukturou i složením, a to má vliv na nutriční a technologické vlastnosti mléčného tuku. Úkol membrány je například přispívat k zajištění stability tukových kapének, chránit je před lipolytickou hydrolýzou a zabránovat jejich vzájemnému splnutí (Samková a kol, 2012).

3.3.1 Prekurzory mléčného tuku

Mléčný tuk je výsledkem syntézy v mléčné žláze, kde je vytvářen z prekurzorů a mastných kyselin pocházejících z krmiva nebo neutrálního tuku triacylglycerolu (TAG) z jater a tukové tkáně. V krevní plazmě je transport mastných kyselin zajišťován ve formě lipoproteinů (komplex TAG), esterifikovaného a volného cholesterolu, fosfolipidů a apoproteinů. Obsah tuku v mléce závisí na stupni kvasných procesů v bachoru a produkci těkavých mastných kyselin,

za 24 hodin jich vznikne 4 – 7 kg. Základním a nejdůležitějším prekurzorem mléčného tuku je kyselina octová, která se tvoří při bacherové fermentaci ze sacharidů krmiva a beta oxidací mastných kyselin tukové tkáně dojnice. Mléčná žláza zachytí z krve přes 80 % kyseliny octové, čím více se tvoří kyseliny octové, tím vyšší je obsah tuku v mléce. Dalšími prekurzory mléčného tuku jsou kyseliny máselné, β – hydroxymáselné a propionové (Samková a kol, 2008).

3.3.2 *Chemické složení tuku*

Mléčný tuk se skládá převážně z triacylglycerolů, ostatní lipidy zahrnují malé množství fosfolipidů, cholesterolu, volných mastných kyselin, monoacylglycerolů a v tuku rozpustných vitamínů. Syntéza mléčného tuku vychází zejména z acetátu a butyrátu. Acetát tvoří 60 – 70 % z těkavých mastných kyselin vzniklých bacherovou fermentací (Reece, 1998). 1 až 2 % tvoří jiné lipidy jako je lecitin, cholesterol, karotenoidy a vitaminy rozpustné v tucích. V mléčném tuku se vyskytuje 11 hlavních mastných kyselin se sudým počtem atomů uhlíku. 33 % triglyceridů je tvořeno nenasycenými mastnými kyselinami a 67 % nasycenými. Většina mléčného tuku se tvoří v mléčné žláze z nízkomolekulárních mastných kyselin, které jsou produktem bacherového zkvašování cukernatých složek (Doležal a kol, 2000). Mléčný tuk obsahuje různé druhy mastných kyselin, kterých se v tuku nachází zhruba 92,5 % a glycerínu 7,5 % (Svoboda a kol, 1966). Kromě vlastního tuku (triacylglyceroly mastných kyselin) obsahuje mléčný tuk i některé složité tuky (fosfolipidy, cholesterol, aj.) V mléčném tuku jsou rozpuštěny vitamíny A, D, E, K a některá barviva (Grieger a kol, 1990).

Mléčný tuk vzniká syntézou z mastných kyselin. Hlavním zdrojem mastných kyselin, jak již bylo uvedeno, je kyselina octová vzniklá enzymatickou činností mikroflóry bacheru ze sacharidů v krmné dávce (Frelich, 2011). Zastoupení nasycených mastných kyselin v mléčném tuku je 60 – 70% a nejdůležitější jsou kyselina palmitová, stearová a myristová. Monoenové mastné kyseliny jsou zastoupeny 25 – 35% a nejdůležitější je kyselina olejová. Polyenové mastné kyseliny zaujímají 5% a nejvíce obsažena je kyselina linolová a alfa-linolenová (Jensen, 2002). Mléčný tuk je svým charakterem nasycený tuk, a je pro něj specifický vyšší obsah těkavých mastných kyselin, které obvykle chybějí v ostatních tucích (Samková a kol, 2012). V mléčném tuku se však nacházejí mastné kyseliny nasycené i nenasycené.

Nenasycené mastné kyseliny jsou málo stálé a snadno se slučují s kyslíkem a vodou a často polymerují. Nasycené mastné kyseliny jsou naopak stálé, nereagují při normální teplotě na přítomnost kyslíku a vody (Svoboda a kol, 1966). Svoboda a kol. (1966) uvádí, že jsou v mléčném tuku tyto nasycené mastné kyseliny: octová, máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová, laurová, myristová, palmitová, stearová, arachová, dioxystearová a z nasycených uvádí kyselinu decenovou, tetradecenovou, hexadecenovou a olejovou. A Louda a kol. (1994) uvádí, že nejvíce jsou v mléčném tuku zastoupeny kyseliny stearová, palmitová a olejová. Minimální obsah tuku podle ČSN 57 0529 333 je $33 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Doležal a kol, 2000). Objevuje se tzv. syndrom nízké tučnosti mléka, kdy obsah tuku klesne pod 3 %, který je zapříčiněn například prudkým poklesem množství vlákniny v krmné dávce dojnic (Louda a kol, 1994).

3.3.3 *Mastné kyseliny*

V organické chemii se jako mastné kyseliny označují karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. V názvosloví se vedle systematických názvů a schématických zkratk používají i triviální názvy. Zhruba polovina mastných kyselin vzniká v mléčné žláze. Nasycené mastné kyseliny obsahují 4 až 60 atomů uhlíku a nemají rozvětvený řetězec většinou se sudým počtem atomů uhlíku. Nasycené monoenové mastné kyseliny obsahují jednu dvojnou vazbu, jednotlivé kyseliny se od sebe odlišují počtem atomů uhlíku, polohou dvojně vazby a konfigurací. Nenasycené polyenové mastné kyseliny obsahují dvě a více dvojných vazeb a rozlišují se stejně jako monoenové (Samková a kol, 2008).

Mléčný tuk obsahuje přes 400 různých mastných kyselin, a při použití analytických metod jich lze identifikovat kolem 70. Značná část těchto mastných kyselin je zastoupena v mléčném tuku jen ve velmi nízkých koncentracích a jen asi 15 z nich má podíl vyšší než 1 %. V porovnání s ostatními tuky je mléčný tuk přežvýkavců unikátní vyšším obsahem mastných kyselin s krátkým řetězcem (Samková a kol, 2008). Dojnice po porodu často vstupují do fáze negativní energetické bilance, během které se využívání energetických rezerv odráží ve složení mastných kyselin (Vranković a kol, 2017).

3.3.4 *Metody stanovující mastné kyseliny a tuk v mléce*

Mezi metody, které se užívaly, patří například:

- Číslo Reichertovo-Meislovo závisí na množství těkavých nízkomolekulárních mastných kyselin ve vodě rozpustných, jako je například kyselina máselná, kapronová a méně kaprylová. Při této metodě se destiluje 5 g tuku s vodní párou a získaný destilát obsahující těkavé mastné kyseliny se v množství 110 ml neutralizuje 0,1 N louhem. Množství spotřebovaného louhu pak vyjadřuje číslo Reichertovo-Meislovo. U mléčného tuku je to 18,0 – 37,0.
- Číslo Polenského závisí na množství těkavých a ve vodě nerozpustných mastných kyselin, jako je například kyselina kaprylová, kapronová a méně laurová). Postup metody je podobný metodě Reichertovo-Meislovo a hodnota se pohybuje od 1,3 do 5,0.
- Číslo Hehnerovo vyjadřuje v gramech obsah ve vodě nerozpustných mastných kyselin ve 100 g tuku. Pohybuje se od 85,4 do 91,3.
- Číslo zmýdelnění odpovídá množství nízkomolekulárních mastných kyselin v tuku a vyjadřuje kolika mg louhu draselného bylo třeba ke zmýdelnění 1 g tuku. Při vyšším obsahu těchto kyselin je třeba ke zmýdelnění více louhu draselného. Číslo zmýdelnění u mléčného tuku se pohybuje v rozmezí 218 až 235.
- Číslo jódové závisí na množství nenasycených mastných kyselin v mléčném tuku Jód je totiž vázán mastnými kyselinami dvojných vazeb. U mléčného tuku je toto číslo 26 až 46 (Svoboda a kol, 1966).

K určení obsahu mléčného tuku se nejčastěji používají metody acidobutyrometrická podle Gerbera, extračně-gravimetrická podle Rose-Gotlieba a dále nepřímá automatizovaná infraanalýza mléka (Milko-Scan). Obsah tuku se v ČR vyjadřuje v objemových procentech $\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, jak je udává Gerberova metoda. Ve světě se vyjadřuje v hmotnostních procentech $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, jak je udává extrakční metoda nebo modifikovaná acidobutyrometrická metoda (Doležal a kol, 2000).

3.3.5 *Acylglyceroly mléčného tuku*

Jádro tukových kuliček je tvořeno triacylglyceroly různých mastných kyselin. Zastoupení jednotlivých kyselin není stálé, závisí to především na výživě dojnice.

Například vyšší obsah nasycených mastných kyselin způsobuje tužší konzistenci mléčného tuku, a naopak vyšší obsah nenasycených mastných kyselin vede k měkčí konzistenci. Mastné kyseliny mají velký význam pro aroma tuku (Grieger a kol, 1990).

3.3.6 Složené lipidy mléčného tuku

Fosfolipidy jsou zastoupeny v mléce lecitinem, kefalinem a sfingomyelinem a jeden litr mléka jich obsahuje 0,3 g. Fosfolipidy jsou poměrně nestálé pro obsah nenasycených mastných kyselin a přispívají k nečistému aroma mléčného tuku a másla. Lecitin a kefalin tvoří asi 75 % fosfolipidů (Grieger a kol, 1990). Nejběžnější jsou glycerolfosfatidy, ty mají na jednom z primárních atomů uhlíku glycerolového zbytku esterově vázanou kyselinu fosforečnou a tvoří v mléčném tuku 66 až 68% z celkového množství fosfolipidů. V mléčném tuku jsou fosfolipidy a sfingolipidy obsaženy v membránách tukových kapének. Fosfolipidy včetně sfingolipidů jsou v organismu složkou membrán svalových a nervových buněk. Obaly tukových kapének bohatých na fosfolipidy přecházejí v průběhu výroby másla do podmásli, kde způsobují typickou chuť (Samková a kol, 2012).

Cholesterol je sterol ze skupiny steroidů, je prekurzorem vitamínu D, žlučových kyselin, pohlavních hormonů a hormonů nadledvinek a je součástí buněčných membrán. V mléce se cholesterol vyskytuje volně nebo ve formě esterů s mastnými kyselinami. Odstředěním se koncentruje do másla, v plnotučném mléce je jeho obsah zhruba $140 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v másle je ho přibližně $2200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Samková a kol, 2012). Grieger a kol (1990) uvádí, že cholesterol je v mléčném tuku obsažen v množství 2 až 4 g v 1 kg mléka. Zdroj cholesterolu je buď endogenní (syntéza v játrech a kůře nadledvinek), který převažuje nebo exogenní (příjem potravou) (Samková a kol, 2012). Cholesterol nepodléhá zmýdelnění stejně jako ostatní steroly obsažené v mléku (Grieger a kol, 1990).

3.4 Mléčný cukr

Laktóza je unikátní sacharid a je jedním ze základních komponentů mléka a ovlivňuje jakost a výživnou hodnotu mléka. Hlavní roli hraje ve výživě novorozenců, kde je důležitá energetická hodnota a snadná stravitelnost. Obsah laktózy v mléce je málo proměnlivý a jen málo ovlivnitelný krměním, pořadím a stádiem laktace či jinými faktory (Samková a kol, 2012). Kravské mléko obsahuje

4,7 až 5,0 % mléčného cukru. Laktóza je redukující disacharid složený z jedné molekuly glukózy a jedné molekuly, galaktózy ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$) (Grieger a kol, 1990). Glukóza je základní sacharid organismu a galaktóza vzniká enzymatickou přeměnou molekuly glukózy v mléčné žláze. Spojení obou molekul dává laktóze specifické vlastnosti, které jsou odlišné od obou monosacharidů (Samková a kol, 2012).

3.5 Vitamíny a minerální látky

V mléce se nachází vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) a rozpustné ve vodě (C a skupina B) (Louda a kol, 1994). Obsah vitamínů v kravském mléce je popsán v tabulce 3 a 4. Vitamín A (retinol) je důležitý především v biochemii zrakového vjemu a při biosyntéze bílkovin je spojován s odolností proti infekčním onemocněním, zejména mastitidám. β karoten je přirozeným barvivem a způsobuje spolu s dalšími karotenoidy žluté zbarvení tukové fáze mléka. Vitamin E je přirozený antioxidant a chrání nenasycené lipidy před poškozením volnými radikály. Jeho obsah v mlezivu je 2 – 6 krát vyšší než v mléce a klesá čtvrtý den po porodu. Vitamín D je důležitý pro hospodaření s Ca a P a je antirachitický (Samková a kol, 2012). Vitamíny skupiny B a vitamin K se u přežvýkavců syntetizují a jejich koncentrace v mléce není ovlivněna dietou. Vitamíny A, D a E nejsou v bachoru syntetizovány, proto jejich přítomnost v mléce na dietě závisí a vitamin C není krmivem ovlivněn (Reece, 1998).

Tabulka 4: Obsah vitamínů rozpustných v tuku v kravském mléce

Vitamíny	Název	Obsah ($mg \cdot l^{-1}$)
A	Retinol	0,25 – 0,35
D	Kalciferol	0,001 – 0,002
E	Tokoferol	0,90
K	Fylochinon	0,17

(Grieger a kol, 1990)

Tabulka 5: Obsah vitamínů rozpustných ve vodě v kravském mléce

Vitamíny	Název	Obsah (mg·l ⁻¹)
B ₁	Triamin	0,25 – 0,40
B ₂	Riboflavin	1,80
PP	Niacin	0,20 – 1,20
B ₅	k. pantotenová	2,50 – 5,00
B ₆	Pyridoxin	0,40 – 1,20
B _c	k. listová	0,05
B ₁₂	Kobalamin	0,002 – 0,007
H	Biotin	0,03 – 0,05
C	k. askorbová	20

(Grieger a kol, 1990)

Minerální látky se dělí podle obsahu v organismu na makroelementy, které se vyskytují ve větším množství a jejich potřeba je > 50 mg na den, minoritní prvky, které tvoří přechod mezi majoritními a stopovými prvky a jako stopové se označují prvky, které jsou v organismu zastoupeny ve velmi malém množství (Samková a kol, 2012). Minerální látky se vyskytují v mléce v množství 7 g·l⁻¹, a to volně rozpuštěné nebo koloidně vázané. Rozpuštěné jsou v mléčném séru a vázány jsou na některé organické látky v mléce (Grieger a kol, 1990). Obsah minerálních látek je popsán v tab. 5. Minerální látky jsou přenášeny z krve do mléka, ale mění se jejich zastoupení (Samková a kol, 2012). Reece (1998) udává, že hlavní minerální látkou v mléce je vápník (0,12 %), fosfor (0,10 %), sodík (0,05 %), draslík (0,15 %) a chlór (0,11 %). Ostatní minerální látky se nachází jen ve stopovém množství a zahrnují hořčík, síru, měď, kobalt, železo, jód a zinek (Reece, 1998). Část prvků se vyskytuje ve více formách – koloidní suspenze nebo roztok a část se vyskytuje ve formě solí. Jednotlivé formy minerálních látek jsou mezi sebou ve vzájemné rovnováze a jsou i v rovnováze k ostatním složkám mléka. Hrají důležitou roli ve struktuře a stabilitě kaseinových micel, vystupují ve funkci aktivátorů enzymů nebo jejich složek a mají rozhodující význam pro udržení acidobazické rovnováhy v organismu (Samková a kol, 2012).

Tabulka 6: Průměrný obsah solí a makroelementů v mléce

Kationty	Obsah ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)
Vápník	1,20
Hořčík	0,13
Sodík	0,50
Draslík	1,45
Anionty	
Fosfor	0,95
Sírany	0,10
Uhličitany	0,20
Citronany	1,75
Chlor	1,00

(Grieger a kol, 1990)

3.6 Obsah acetonu v mléce

Obsah acetonu jako jedné z ketolátek indikuje metabolický stav dojnice ve vazbě na odbourávání tělesných rezerv, především tukových, ke krytí poporodního energetického rozdílu mezi příjmem v krmení a výdejem mléka. Tyto katabolické procesy mohou vyústit až v subklinické a klinické ketózy spojené s nechutenstvím ztrátou užitkovosti i závažnějšími komplikacemi. Aceton se tedy nejčastěji stanovuje u vysoce užitkových dojnic v období tří až čtyř měsíců po porodu. Mírně zvýšené mohou být hodnoty v zimním období při zkrmování konzervovaných objemných krmiv a snížení svalové námahy při pastevním chovu. Zvýšené výskyty souvisejí se ztrátou kondice a jsou doprovázeny poruchami reprodukčních funkcí (Doležal a kol, 2000).

Zamezit zvýšeným hladinám těchto metabolitů lze pouze řízenou výživou a maximálním pokrytím energetického deficitu krav po porodu a včasné laktaci upravenými krmnými dávkami, případně preventivním podáním energetických glukoplastických preparátů. Je potřeba také zabránit ztučnění krav ke konci laktace. Za mezní hladiny acetonu v mléce se považují obsahy maximálně $2 - 4 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ u bazénových vzorků a $4 - 7 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ u individuálních vzorků od krav v počátku laktace. Proto úroveň 7 až $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ lze brát jako signál pro úpravu krmné dávky

a podání preventivních dávek glukoplastických preparátů. Při hladině nad $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ je nutné podat terapeutickou dávku a upravit výživu (Doležal a kol, 2000).

4 Ketóza

Ketóza je velmi časté metabolické onemocnění u dojnic, jejímž důsledkem je nižší produkce mléka, narušení plodnosti a častější výskyt dalších onemocnění (Ježek a kol, 2017). Ketóza je akutní, chronicky nebo subklinicky probíhající porucha energetického metabolismu. Jejím charakteristickým znakem je hyperketonemie, hyperketolaktie, hyperglykemie a tuková degenerace jater (Reece, 2011). Pavlata a kol. (2008) uvádí, že se ketóza vyskytuje u vysokoprodukčních dojnic zejména v první třetině laktace, nejčastěji mezi druhým a šestým týdnem po porodu. Během tohoto období se velké množství tělesného tuku využívá k podpoře tvorby mléka, což vede k výrazné mobilizaci lipidů a výraznému zvýšení neesterifikovaných mastných kyselin a ketonových látek v mléce (Jeong a kol, 2018). Ketóza patří mezi nejčastější a ekonomicky nejvýznamnější onemocnění vysokoprodukčních dojnic v důsledku snížené produkce mléka, narušení jeho kvality, zvýšeného výskytu poruch reprodukčních funkcí, snížené vitality a odolnosti novorozených telat. Příčinou ketózy je vznik energetického deficitu, nedostatku propionátu, snížení glukoneogeneze a zvýšení ketogeneze (Hofírek a kol, 2009). Negativní energetická bilance vyplývá ze zvýšené poptávky po energii v souvislosti s produkcí mléka, zejména během vrcholové fáze laktace 3 – 6 týdnů po otelení a relativně nedostatečného příjmu krmiva během tohoto období. Všechny krávy obvykle prochází dobou negativní energetické bilance během vrcholové fáze laktace a nadměrnou mobilizací tělesného tuku, ale ne všechny vykazují hyperketonemii a méně rozvíjejí klinickou ketózu (1,5 – 4,0 % stáda) (Zhang a kol, 2016). Ketóza má plíživý a setrvalý charakter a může končit úhynem (Kulovaná, 2002). Z etiologického hlediska se ketóza dělí na dva typy – primární a sekundární.

Primární ketóza

Primární (produkční) ketóza vznikne při neadekvátní výživě vysokoprodukčních dojnic v období nástupu laktace (Kudrna a kol, 1998). Nejvíce jsou postiženy dojnice, které jsou před porodem ve velmi dobré až tučné kondici a mají vysoký genetický potenciál pro produkci mléka. Vznik energetického deficitu po porodu nastane, když dojnice není schopna přijmout dostatečné množství krmiva pro vytvoření energie na produkci mléka. Dochází k mobilizaci tělesných rezerv

a hubnutí zvířat, kdy určitý stupeň lipomobilizace je považován za fyziologický, ale když dojde k hromadění ketolátů v krvi a tělesné tkáni nejsou schopny je využít jako zdroj energie, vznikne ketóza. Jako samostatná forma ketózy je označována alimentární ketóza, která je způsobena nadměrným příjmem kyseliny máselné z konzervovaných krmiv a probíhá většinou subklinicky (Hofírek a kol, 2009).

Sekundární ketóza

Sekundární ketóza vzniká při sníženém příjmu krmiva a nesouvisí bezprostředně se složením krmné dávky. Patří sem všechny faktory, které snižují příjem krmiva dojnícemi, a tím následně vznikne energetický deficit a ketóza. Nejčastější příčiny sekundární ketózy jsou dislokace slezu, metritida, mastitida, traumatické procesy, onemocnění pohybového aparátu a infekční onemocnění spojené se zvýšenou teplotou. Ketóza může vzniknout také následkem acidózy bachorového obsahu a snížení příjmu krmiva (Hofírek a kol, 2009).

4.1 Patogeneze

Vznik energetického deficitu se liší u primární a sekundární ketózy, ale u obou působí stejné regulační mechanismy, které udržují odpovídající koncentraci glukózy. Inzulin je ústřední regulační hormon intermediálního metabolismu, který stimuluje využití glukózy v periferních tkáních, podporuje syntézu a skladování zásobních látek a stimuluje proteosyntézu. Při vzniku energetického deficitu dochází ke snížení hladiny inzulínu a zvyšuje se hladina glukagonu. Glukagon zvyšuje glukoneogenezi z propionátu, laktátu, pyruvátu a v tukové tkáni navozuje lipolýzu. Další hormon ovlivňující produkci mléka a má lipolytický účinek je somatotropní hormon (Hofírek a kol, 2009).

Při lipomobilizaci dochází k hydrolyze triacylglycerolů, uvolňují se neesterifikované mastné kyseliny (NEMK) a glycerol do krve. Glycerol se využívá v mléčné žláze a játrech pro glukoneogenezi a syntézu triacylglycerolů. V játrech vstupují NEMK do mitochondrií, kde jsou beta-oxidací postupně odštěpovány acetyl-CoA, který vstupuje do citrátového cyklu, kde může být oxidován nebo při vysokém stupni oxidace mastných kyselin zapojen do procesu ektogeneze. Při nedostatku propionátu se omezuje vstup acetyl-CoA do citrátového cyklu a stoupá ektogeneze, kdy je acetyl-CoA metabolizován přes acetoacetyl-CoA na acetoacetát a beta-

hydroxybutyrát. Obě tyto látky mohou být zdroj energie pro periferní tkáň, ale pokud je organismus nedokáže využít, dochází k hromadění, zvyšuje se koncentrace v moči a mléce a vzniká ketóza (Hofírek a kol, 2009).

4.2 Symptomy

Počátek ketózy bez zjevných vnějších příznaků onemocnění se nazývá subklinická ketóza (Zakian a kol, 2017). Subklinická forma ketózy je definována zvýšením ketonových složek (kyseliny beta-hydroxymáselné, acetoacetátu a acetonu) v krvi, moči nebo mléce, protože nejsou k dispozici zjevné klinické příznaky (Zhang a kol, 2016). U dojnic zjišťujeme sníženou produkci mléka, asi o 20 %, mléko má zvýšený obsah tuku, snížený obsah tukoprosté sušiny, nižší obsah kyseliny citronové a zvýšený obsah buněčných elementů. Dojnice jsou imunodeficitní a jsou náchylnější k výskytu infekčních onemocnění, především mastitid (Hofírek a kol, 2009). Subklinická ketóza je častější než klinická ketóza a je spojena se zvýšeným výskytem přemístění slezu nebo klinické ketózy (Zakyan a kol, 2017).

Klinickou ketózou trpí 2 – 15 % dojnic, zbytek je postižen ketózou subklinickou (Jeong a kol, 2018). Klinická ketóza může mít chronický i akutní průběh. Symptomy mohou být pestré a různě intenzivně vyjádřené, buď na trávicím aparátu (digestivní forma) nebo na nervovém aparátu (nervová forma). Digestivní forma má náhlý vznik a je doprovázena malátností, poklesem dojivosti a lízavkou. Dojnice odmítají krmivo, snižuje se přežvykování, činnost předžaludku a střev je zpomalená, výkaly jsou suché, formované a později dochází k průjmům. Kůže ztrácí elasticitu, játra jsou zvětšená a bolestivá (Hofírek a kol, 2009). U dojnic se projeví velká ztráta hmotnosti, zježená srst bez lesku, dehydratace, pach acetonu, a může dojít k ulehnutí a úhynu (Kulovaná, 2002). Nervová forma začíná podrážděností, neklidem, střídavým vstáváním a leháním, křížením končetin, lekavostí a postupně přejde v depresi a křečové stavy. Nechutenství je doprovázeno žvýkáním naprázdno, vzájemným olizováním, pohazováním hlavou a skřípáním zubů. Později dojde k apatii a ulehnutí v poloze připomínající porodní parézu, poté dojnice upadnou do kómatu a uhynou (Hofírek a kol, 2009). Ketóza se vyskytuje u 40 % krav ve stádě, ale její výskyt může být až 80 % (Viňa a kol, 2016). Produkce mléka při klinické ketóze klesá o 50 – 80 % a mléko má změněnou skladbu (Jagoš a kol, 1985).

4.3 Diagnóza

Diagnóza vychází z anamnézy, klinických příznaků a zhodnocení užítkovosti dojnic. U subklinických forem ketózy je nutné laboratorní vyšetření krve a moči, kdy se v krvi zvýší beta-hydroxybutyrát ($>0,80 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) a sníží koncentrace glukózy ($<3,0 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$), zvýšená je i koncentrace NEMK ($>0,35 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). Pro screeningové vyšetření je využíváno semikvantitativní stanovení ketolátek v moči diagnostickými papírky nebo vyšetřením mléka, kdy se použije ketotest nebo se stanoví aceton ($>0,4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) nebo beta-hydroxybutyrát ($>0,25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) (Hofírek a kol, 2009). Stájový mléčný test ketóz je nově vyvinutý ketotest k indikaci vyšších obsahů ketonů, respektive acetonu v mléce. Jde o semikvantitativní test s barevnou škálou podle obsahu ketonů reagujících od žluté po tmavě zelenou během 15 minut. Výskyt a stupeň ketózy lze určit podle hladiny ketonů, respektive acetonu v tělních tekutinách (krev, moč, mléko). Jde o produkty, které při stavu energetického deficitu vzniknou při rozkladu tuků zpravidla v počátku laktace. Tento stav ohrožuje funkci jater, kdy aceton v mléce roste z 5 na více než $20 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ (Kulovaná, 2002).

4.4 Terapie a prevence

Terapie primární ketózy závisí na intenzitě klinických příznaků a koncentraci ketolátek v krvi. Při sekundárních ketózách je nutné zaměřit se na primární onemocnění. Při terapii se soustředíme na kvalitní krmiva, dostatek hrubé vlákniny, dostatek sacharidů, vyloučení ektogenních krmiv, zařazení lehce stravitelných sacharidů a krátkodobě se podává melasa ve formě nápoje. Dále se může podat 3 – 5 litrů bachorové tekutiny zdravé dojnice, podávají se preparáty s obsahem propionátů na podporu trávení. Ve formě nápojů se podává propylenglykol, propionát sodný nebo vápenatý. Aplikují se také intravenózní infuze roztoků glukózy o koncentraci 20 – 40 % a glukokortikoidy a ACTH zvyšující glukoneogenezi (Hofírek a kol, 2009).

V současné době se uplatňuje aplikace ionoforu monenzinu v podobě intraruminálních bolusů, z nichž se monenzim postupně uvolňuje (Šlosárková a kol, 2015). Monenzin ovlivňuje bachorovou fermentaci ve prospěch bakterií produkujících kyselinu propionovou, která je nezbytná pro obnovu glukózy a stabilizuje energetický metabolismus (Duffield a kol, 2008). Po intraruminální aplikaci bolusu monenzinu se projevil pozitivní vliv na tvorbu ketolátek a na

ukazatele produkčních parametrů u prvotelek i krav na 2. až 4. laktaci, výskyt ketóz se zde snížil na 8 – 9% dojnic (Křížová a kol, 2016).

Prevence primární ketózy spočívá v zabránění vzniku negativní energetické bilance u krav v období vysoké laktace, kdy se zaměřujeme na krmiva s vysokou koncentrací živin. Ohroženým zvířatům se nezkrmuje siláž se zvýšeným obsahem kyseliny máselné a je nutné podávání krmiva podle výše užitekosti a fáze reprodukčního cyklu, aby nedocházelo k velkým výkyvům hmotnosti dojnic. Prevence sekundární ketózy závisí na určení příčin sníženého příjmu krmiva a včas zahájit terapii (Hofírek a kol, 2009). Z dosavadních poznatků, je mnohem důležitá prevence a je efektivnější než léčba. K účinné prevenci je výhodná včasná diagnostika a monitoring, kdy se analyzují tělní tekutiny. Při analýze krve a moči jde o invazivní zákrok, ale chovatelé lépe dostupná a méně invazivní je analýza vzorků mléka. Testy se provádí u vysoce dojných krav těsně po porodu a v počátku laktace (Kulovaná, 2002).

4.5 Beta hydroxybutyrát

Beta-hydroxybutyrát (BHB) je nejvíce zastoupený a nejstabilnější ketonová látka a je považována za nejlepší ukazatel pro subklinickou ketózu. V plazmě krav byla pro subklinickou ketózu udána hodnota BHB 1,2 – 1,4 mmol·l⁻¹ (Zakian a kol, 2017). Mezní hodnota pro určení subklinické ketózy je 1200 – 1400 μmol·l⁻¹ BHB v krvi. Při klinické ketóze koncentrace BHB v krvi stoupá na hodnotu 3000 μmol·l⁻¹ a více (Zhang a kol, 2016). Přesné detekování hladiny BHB je cenným nástrojem pro rychlou diagnostiku hyperketemie (Sailer a kol, 2018).

5 Volné mastné kyseliny

Malý podíl mastných kyselin v mléce, které nejsou esterifikovány v triacylglycerolech, je volně rozptýlen v tukové a vodní fázi a je označován za volné mastné kyseliny. Běžný obsah volných mastných kyselin (VMK) u mléčného tuku je $0,5 - 1,2 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ a maximální povolený obsah je $13,0 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Hanuš, 2010). Volné mastné kyseliny jsou v mléce obsaženy v množství $0,1 - 0,4\%$ z mléčného tuku (Akers, 2002). Jsou těkavé a ovlivňují sensorické vlastnosti mléka a mléčných produktů. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou obsaženy v mléčné plazmě a mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou obsaženy v mléčném tuku (Samková a kol., 2008). Změny mléčného tuku vzniknou v organismu a pokračují během dojení a zpracování mléka. Volné mastné kyseliny nejsou vybaveny membránou jako kuličky mléčného tuku. Při vyšší koncentraci mají negativní účinky. Mohou způsobit štiplavou, hořkou a žluklou chuť mléka (Nehasilová, 2003).

Volné mastné kyseliny byly prokázány v čerstvém mléčném tuku i v odstředěném mléce. Jejich podíl může být ovlivněn aktivitou původních i druhotných lipáz a záleží tedy na stáří mléka a způsobu jeho ošetřování (Grieger a kol, 1990).

Zvyšuje-li se obsah VMK v mléce, jde o lipolýzu, která je nežádoucí. Tento proces urychlovaný lipoproteinovou lipázou je způsoben hydrolýzou triacylglycerolů tukových kapének (Samková a kol, 2008). Po nadojení se z nejrůznějších důvodů obsah VMK zvyšuje. Obsah VMK se v mléce stanovuje dvěma metodami – extračně-titrační a stlukem. Vyjadřuje se v $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ mléčného tuku, ČSN 57 0529 stanovuje maximální obsah těchto kyselin v mléce $32,0 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ pro první a $13 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ pro druhou jmenovanou metodu. Při normální, ale zejména neadekvátně zvýšené bakteriální kontaminaci mléka, především psychrotrofními mikroorganismy může dojít k lipolýze i vlivem termostabilních lipáz po pasteraci mléka (Doležal a kol, 2000).

Při hladinách VMK v mléce 49 a $20 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku dochází k sensorickým vadám mléka, a to ke zhoršení chuťových vlastností. Nárůst VMK může způsobit i neadekvátní výživa a odbourávání tukových rezerv dojníc. Prevencí je tedy kvalitní výživa krav, dobrá hygiena dojení, správné uložení mléka a omezení mechanického a tepelného namáhání mléka (Doležal a kol, 2000).

Mléčný tuk je charakteristický vysokým obsahem těžkých mastných kyselin (máselná, kapronová, kaprylová, kaprinová), které se v ostatních tucích nevyskytují a jsou zastoupeny v průměru 8 až 9 % (Grieger a kol, 1990).

6 Materiál a metodika

Odběr vzorků pro mou diplomovou práci byl proveden ve velkokapacitním kravíně (VKK) Chyšná, které je jedním ze středisek Agrodružstva Košetice a. s. Chyšná se nachází v okrese Pelhřimov na Vysočině. Podnik má 2874 ha zemědělské půdy, z toho 2377 ha orné půdy. Zatížení na 1 ha orné a zemědělské půdy je 0,67 dobytčí jednotky na hektar.

V agrodružstvu se chová skot plemene holštýn - 1007 dojnic, 334 jalovic, 294 býků na výkrm a 483 telat do tří měsíců. Ve VKK Chyšná je průměrně 438 ks dojnic H100. Průměrná délka života dojnice je 3,8 let a chov je IBR prostý. Brakace dosahuje 30 % a důvody jsou hlavně: nízká užitkovost, onemocnění vemene (těžké mastitidy), nemoci paznehtů, nízká plodnost nebo těžké porody.

Krmné dávky jsou sestavovány pro kategorie krav: nástup do laktace, vrchol laktace, konec laktace, suchostojné a březí jalovice těsně před porodem. Dojnice na vrcholu a na konci laktace jsou krmeny dvakrát denně, suchostojné a březí jalovice jsou krmeny jednou denně. Krmení je zakládáno vždy na krmnou chodbu, naváží se krmným vozem a délka žlabu je optimální (750 mm). Procento přežvykujících krav je kolem 95 %. Krmná dávka je sestavena z vlastních objemných a jadrných krmiv a doplňkových minerálních směsí a minerálních doplňků ve spolupráci s firmou Fremis Čechtice a výživovým poradcem Ing. Brabencem. Napáječky jsou rozmístěny pravidelně v dostatečném množství (30 dojnic na 1 metr napajedla) a v rámci welfare zvířat je ve stáji umístěné škrabátko. Dojnice jsou ustájeny volně ve stlaných boxech a porodna je vystlána hlubokou podestýlkou. Podlaha stáji je tvořena rošty.

Průměrný denní nádoj byl v roce 2017 28,6 litrů na dojnici. Průměrná užitkovost v roce 2017 byla 10 932 litrů/laktaci a maximální zjištěná užitkovost je 16 400 litrů/laktaci. Dojení probíhá v rybinové dojárně, která má kapacitu 2 x 12 míst a dojí se 3x denně (3.30 – 9.30, 10.00 – 16.00 a 16.30 – 22.00). Dojnice, které trpí mastitidou, jsou v sekci s ostatními, ale při dojení se mléko vylévá a dojnice jsou označeny červenými páskami na končetinách nebo červeně obarveným vemenem. Přesun krav na porodnu probíhá 21 dnů před porodem a zasušení probíhá 54 dnů před porodem pomocí antibiotik (Orbenin Extra a Orbeseal jako zátka).

Mezi nejčastější zdravotní problémy patří reprodukční poruchy (retence sekundin, endometritis, metritis). Z metabolického hlediska tvoří problémy poporodní ulehnutí (parézy), ketózy, acidózy bachorového obsahu a levostranná dislokace slezu. Paznehty jsou postiženy dermatitis digitalis a vředy paznehtů, ale díky dostatečné prevenci se vyskytují méně v porovnání s jinými chovy v kraji Vysočina. Další problémy tvoří mastitis a vzácněji obtížné porody a aborty.

Preventivně se vakcinuje proti BRSV (bovinní respirační syncyriální virus), PI3 (virus bovinní parainfluenzy), Rispoval 3 (lyofilizát pro přípravu suspenze s rozpouštědlem), roční jalovice jalovice před otelením, každý rok při zaprahnutí a dojnice, které nezabřeznou do 120. dne se vakcinují proti BVD (Pregsure BVD). Telata se vakcinují při příchodu na centrální teletník v Košetících proti Trichophytonverrucosum (Trichoben). Probíhá zde i tuberkulóza Mycobacteriumbovic (Bovitubal). Jedenkrát ročně se preventivně odebírá krev na prevenci paratuberkulózy a brucelózy, vždy se odběr provede u zmetalek. V chovu je opatření ke snižování tepelného stresu a kontrolují se ketolátky v mléce. Dvakrát ročně probíhá úprava paznehtů specializovanými pracovníky a při akutních individuálních problémech úpravu zabezpečí zootechnik. Paznehty jsou ošetřovány jednou měsíčně procházením ve velkém bazénu s formalínem a dvakrát týdně na dojrně v průchozích uličkách s formalínem, hypermanganem nebo modrou skalicí. Antiparazitární program zde chybí.

Pro zpracování diplomové práce byly využity údaje z protokolů o kontrole mléčné užitkovosti prováděné v chovu Chyšná Českomoravským svazem chovatelů a. s. (ČMSCH a.s.). Kontrola byla rozšířena o vybrané parametry metabolického profilu mléka (kyselina betahydroxymáselná, aceton a volné mastné kyseliny v mléce), které byly stanoveny za podpory projektu NAZV: QJ1510336 „Výzkum a podpora produkce zdravotně a spotřebitelsky benefitních mléčných výrobků cílenou selekcí a modifikací profilu mastných kyselin mléčného tuku.“

Data byla statisticky zpracována pomocí programů: MS EXEL a STATISTICA 12, výsledky byly následně zpracovány do tabulek a grafů.

Jako vybraná statistická charakteristika byl použit:

- r – korelační koeficient – zjišťuje míru vztahu dvou metrických proměnných

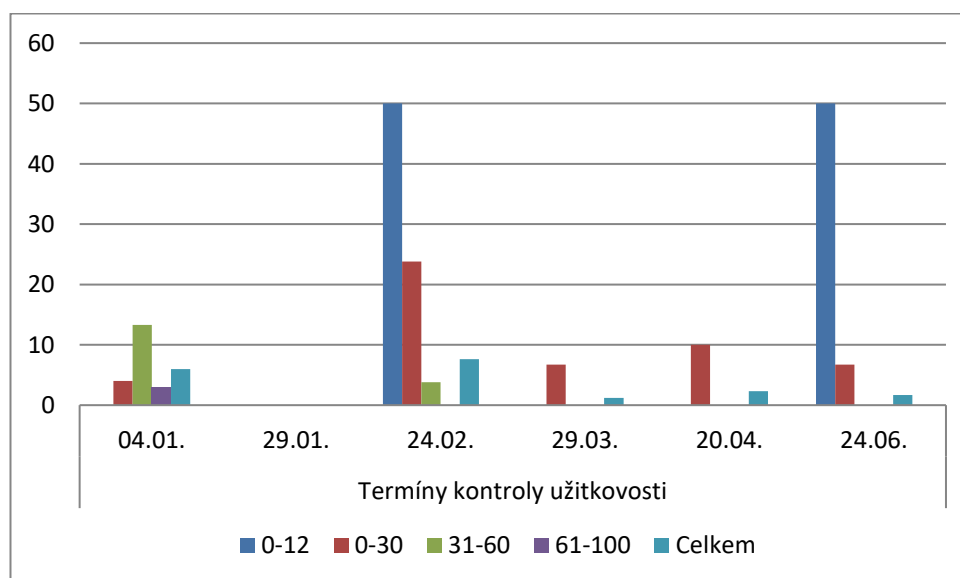
7 Výsledky

7.1 Výskyt subklinických ketóz

Tabulka 7: Výskyt subklinických ketóz v % v průběhu prvních 100 dnů laktace (podle termínů KU)

Dny laktace	Termíny kontroly užítkovosti					
	4.1.2016	29.1.2016	24.2.2016	29.3.2016	20.4.2016	24.6.2016
0-12	0,0	0,0	50,0	0,0	0,0	50,0
0-30	4,0	0,0	23,8	6,7	10,0	6,7
31-60	13,3	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0
61-100	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Celkem	6,0	0,0	7,6	1,2	2,3	1,7

Graf 1: Výskyt subklinických ketóz v průběhu prvních 100 dnů laktace (%)

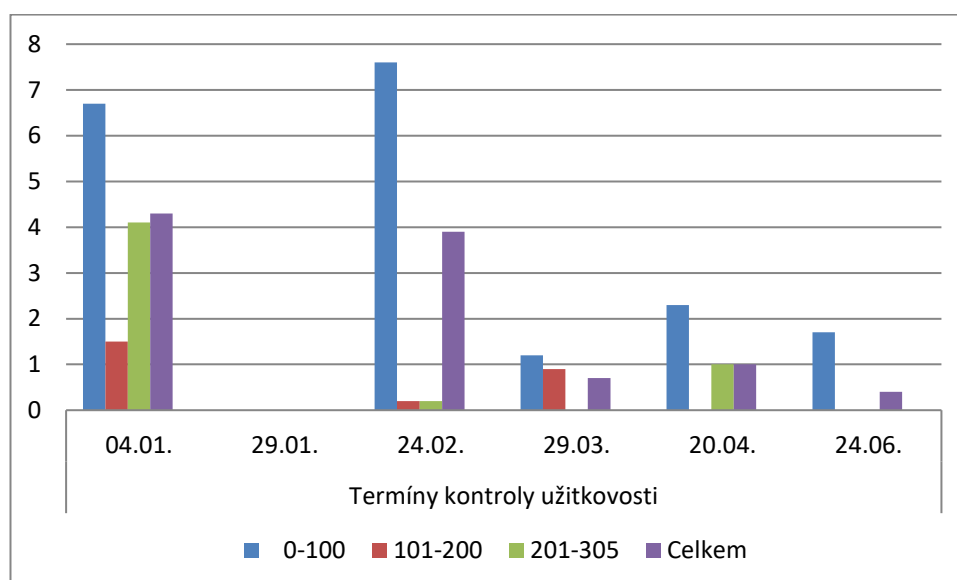


V tabulce 7 a grafu 1 je uveden přehled a dynamika výskytu subklinických ketóz v průběhu první 100 dnů laktace. Nejčastější výskyt byl v prvních 30ti dnech, kdy se po porodu rychle zvyšuje produkce mléka a dosáhne se vrcholu laktace. 24.2. a 24.6.2016 byl velmi vysoký výskyt již v prvních 12 dnech laktace, kdy se subklinická ketóza zjistila u 50 % dojnic. Nejčastější výskyt ketóz byl zjištěn v průběhu kontroly užítkovosti dne 24.2. 2016 a naopak žádná ketóza nebyla zjištěna 29.1.2016.

Tabulka 8: Výskyt subklinických ketóz v % v průběhu 305 denní laktace (podle termínů KU)

Dny laktace	Termíny kontroly užítkovosti					
	4.1.2016	29.1.2016	24.2.2016	29.3.2016	20.4.2016	24.6.2016
0-100	6,7	0,0	7,6	1,2	2,3	1,7
101-200	1,5	0,0	0,2	0,9	0,0	0,0
201-305	4,1	0,0	0,2	0,0	1,0	0,0
Celkem	4,3	0,0	3,9	0,7	1,0	0,4

Graf 2: Výskyt subklinických ketóz v průběhu 305 denní laktace (%)



Výskyt subklinických ketóz v průběhu celé laktace byl zjištěn zejména 4.1.2016, kdy se ketóza prokázala ve všech fázích laktace a jak je vidět v grafu č. 2, v první fázi laktace se prokázala téměř u 7 % dojnic. 24.2. 2016 se výskyt tohoto onemocnění zvýšil až na 7,6 %.

V tabulce 9 je uveden souhrnný výskyt subklinických ketóz v průběhu 305 denní laktace ze všech období kontroly užítkovosti (celkem 6 kontrol užítkovosti). Tabulka potvrzuje předcházející výsledky. Nejvyšší relativní výskyt subklinických ketóz byl v první 12 dnech laktace (13,0 %) v průběhu prvních dnů byl výskyt 8,5 % a v následujícím měsíci laktace (31-60 dní laktace) 3,3 %. V prvních 100 dnech

laktace byl za celé sledované období výskyt subklinických ketóz za celé sledované období 3.0 %.

Tabulka 9: Výskyt subklinických ketóz v % v období leden2016 - červen 2016

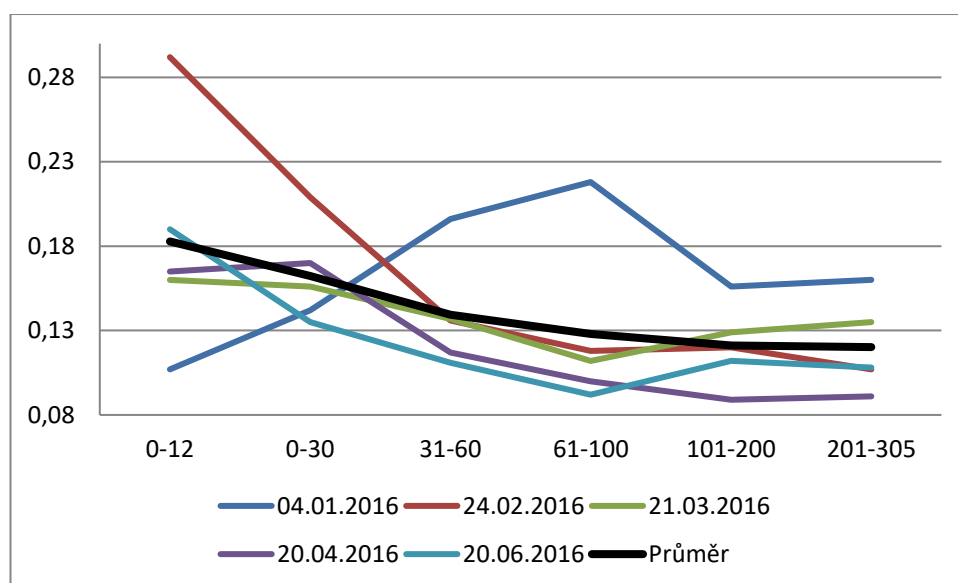
	Dny laktace						
	0-12	0-30	31-60	61-100	0-100	101-200	201-305
Počet dojnic (n)	23	117	165	250	533	582	587
Subklinické ketózy (n)	3	10	5	1	16	4	8
Subklinické ketózy (%)	13,0	8,5	3,03	0,4	3,0	0,7	1,4

Tabulka č. 9 ukazuje průběh subklinických ketóz v průběhu laktace. V prvních 12 dnech se subklinická ketóza projevila u 13 % dojnic, což ukazuje na vysoký výdej energie po otelení a nedostatečné vyrovnání energie z krmiva. Postupně se výskyt ketóz snižuje a ke konci laktace se opět ketózy prokázaly, to ale ukazuje na jiné zdravotní problémy nebo špatně složenou krmnou dávku.

7.2 Obsah ketolátek v mléce

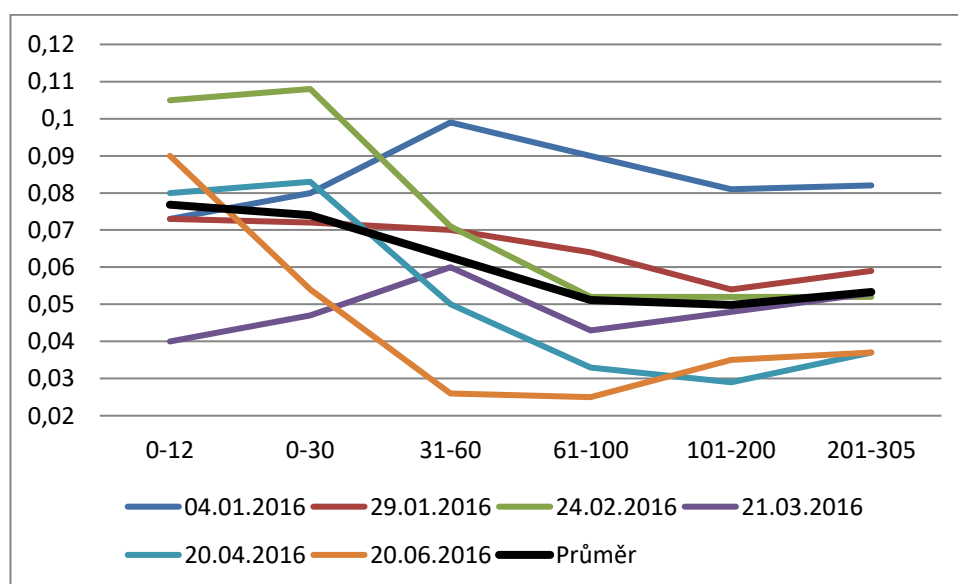
V grafu 3 je uveden obsah acetonu v mléce v $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ a v grafu 4 obsah kyseliny beta-hydroxymáselné v $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Graf 3: Obsah acetonu v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)



Z grafu č. 3 vyplývá, že obsah acetonu v mléce s postupem klesající laktace také klesá, jen v jednom případě (KU 4.1.2016) vyšetření se aceton zvyšoval až do 100 dnů laktace, a poté rychle poklesl. V jednom případě (24.2.2016) obsah acetonu na počátku laktace v průměru velmi vysoký ($0,29 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) a nejnižší zjištěná průměrná hodnota byla na počátku laktace $0,089 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Graf 4: Obsah BHB v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)

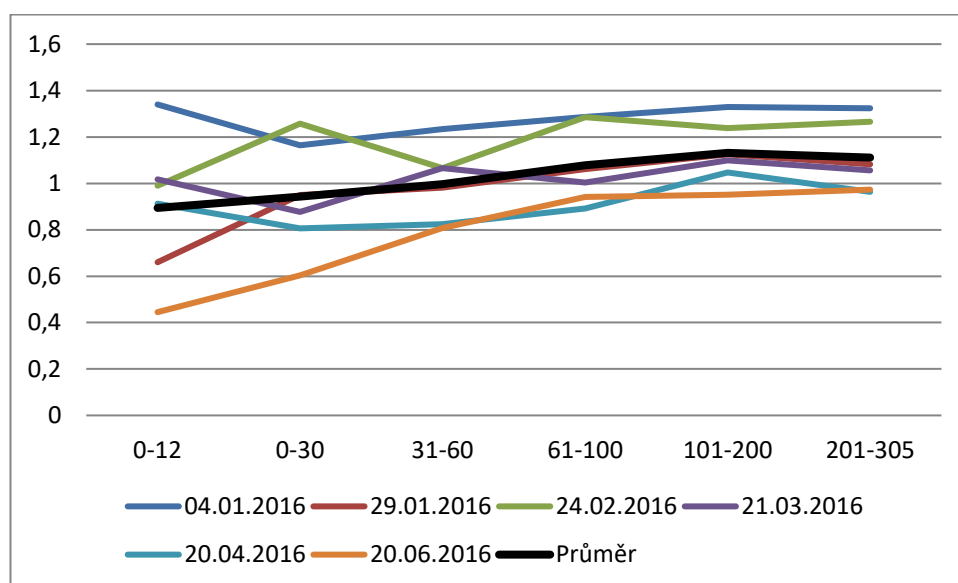


Graf č. 4, znázorňuje výskyt BHB v mléce, kde je téměř ve všech případech vidět postupný pokles této ketolátky. Stejně jako u acetonu i zde je ve stejném vyšetření (4.1.2016) viditelný nárůst množství BHB do 60 dne laktace, poté je patrný pozvolný pokles. Nejvyšší průměrná hodnota BHB byla naměřena $0,108 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejnižší $0,025 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.

7.3 Obsah volných mastných kyselin (VMK) v mléce

V grafu 5 je uveden obsah volných mastných kyselin v mléce v $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$

Graf 5: Obsah VMK v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)



Na rozdíl od acetonu a BHB obsah VMK v mléce dojnic s postupující laktací mírně stoupá, jak je vidět na grafu č. 5. Ve všech pokusných odběrech je vidět kolísavý obsah VMK, ale při znázornění průměru je znát plynulý nárůst. Nejvyšší průměrná hodnota VMK byla zjištěna $1,340 \text{ mmol}\cdot 100 \text{ g tuku}^{-1}$ a nejnižší průměrná hodnota na počátku laktace byla $0,445 \text{ mmol}\cdot 100 \text{ g tuku}^{-1}$. Nejvyšší obsah VMK byl ve všech odběrech (ve všech sledovaných kontrolách užítkovosti) ve 2. třetině laktace a kromě odběru 20.6.2016 přesahoval $1,0 \text{ mmol}\cdot 100 \text{ g tuku}^{-1}$. Obsah nad $1,2 \text{ mmol}\cdot 100 \text{ g tuku}^{-1}$ vykazovaly VMK v případě odběru 4.1.2016 téměř ve všech fázích laktace a v případě odběru 24.2.2016, kromě 0 – 12 dne a 31 – 60 dne, rovněž v průběhu celé laktace.

7.4 Vztah mezi ketolátkami, močovinou, mléčným tukem a volnými mastnými kyselinami v mléce

Tabulka 10: Korelace 24.2.2016

Počet dní	VMK:TUK	ACETON:VMK	BHB:VMK	MOČOVINA:VMK
0-12 dní	0,167	-0,221	0,548	0,648
0-30 dní	-0,386	-0,357	-0,226	0,061
31-60 dní	-0,380	-0,270	-0,308	0,147
61-100 dní	-0,287	0,079	-0,021	-0,079
0-100 dní	-0,290	-0,106	-0,136	0,027
101-200 dní	-0,134	-0,057	-0,098	0,029
201-305 dní	-0,148	-0,210	-0,257	-0,011

Tabulka č.10 ukazuje závislost mezi jednotlivými látkami v mléce dojníc. Největší závislost se ukázala mezi močovinou:VMK a BHB: VMK v prvních 12 dnech, dále se pak udržovala mírně nad nebo pod 0. V ostatních ukazatelích se téměř vždy závislost ukázala záporná, ale opět jen mírně.

Tabulka 11: Korelace 21.3.2016

Počet dní	VMK:TUK	ACETON:VMK	BHB:VMK	MOČOVINA:VMK
0-12 dní	-0,288738442	-0,740114696	-0,672480659	0,927860881
0-30 dní	-0,330868891	-0,28991265	-0,176206477	0,509398673
31-60 dní	-0,246398605	0,407705914	0,249061242	0,012269394
61-100 dní	-0,13283309	0,015708425	0,169103903	0,128765796
0-100 dní	-0,214147814	0,05832657	0,135320288	0,173844583
101-200 dní	0,097389491	0,068577563	0,113676404	0,068126108
201-305 dní	-0,029426148	0,035420293	0,014044987	-0,038339962

Tabulka č. 11 ukazuje negativní korelaci jen v případě volných mastných kyselin a tuku ve zbytku porovnávaných jednotek se ukázala pozitivní korelace, ale ve většině případů se hodnoty pohybují mírně nad 0. V případě močoviny a VMK je závislost vysoká v prvních 12 dnech.

Tabulka 12: Korelace 4.1.2016

Počet dní	VMK:TUK	ACETON:VMK	BHB:VMK	MOČOVINA:VMK
0-12 dní	-0,355344102	0,966180339	0,56333142	0,504918065
0-30 dní	0,027612406	-0,126483081	-0,19340606	-0,057432503
31-60 dní	0,282840171	-0,41280783	-0,334035911	-0,557585126
61-100 dní	-0,04528075	-0,214035438	-0,218221845	-0,21943898
0-100 dní	0,054763691	-0,207239028	-0,231620986	-0,344985948
101-200 dní	-0,099063475	0,035286123	0,050756875	-0,014093182
201-305 dní	-0,07284574	-0,004972603	-0,043754152	-0,025229563

Tabulka korelací č. 12 ze dne 4.1. ukazuje ve všech látkách hodnotu okolo nuly, a tedy neutrální závislost. V prvních 12 dnech laktace je ale ve většině případů, kromě korelace VMK: tuk, pozitivní hodnota ukazující závislost.

Tabulka 13: Korelace 24.6.2016

Počet dní	VMK:TUK	ACETON:VMK	BHB:VMK	MOČOVINA:VMK
0-12 dní	1	-1	-1	-1
0-30 dní	0,461426588	-0,702454915	-0,717568734	-0,506648578
31-60 dní	-0,229419822	-0,753263868	-0,538881315	0,796957067
61-100 dní	0,05924586	-0,222253154	-0,05953696	0,19124169
0-100 dní	-0,115367794	-0,564908277	-0,550302499	0,303104197
101-200 dní	0,016273247	-0,326264505	-0,146520674	-0,155826559
201-305 dní	-0,029814226	-0,207886153	-0,208297484	0,087041935

Podle tabulky 13 se pozitivní korelace projevila v prvních 30 dnech mezi VMK a tukem. U ostatních se hodnoty pohybovaly velmi pod 0 a ukazují tedy negativní závislost.

Tabulka 14: Korelace 29.1.2016

Počet dní	VMK:TUK	ACETON:VMK	BHB:VMK	MOČOVINA:VMK
0-12 dní	0,427121098	-0,971700708	-0,881894702	-0,127731856
0-30 dní	-0,376026792	0,095846923	0,25763971	0,082776686
31-60 dní	-0,148738643	0,310320222	0,260575039	-0,042387107
61-100 dní	-0,143632716	-0,082440984	-0,328875817	-0,084917856
0-100 dní	-0,180059888	0,116165713	0,016899382	-0,006313157
101-200 dní	0,017190924	0,047168806	0,104481466	0,069653817
201-305 dní	-0,033236723	0,116003878	0,082853376	0,082073291

Korelace podle tabulky 14 ukazují závislost mezi VMK a tukem v prvních 12 dnech laktace, mezi acetonem:VMK a BHB:VMK je vysoká nezávislost v těchto dnech. V ostatních případech se hodnoty pohybují okolo 0.

8 Diskuze

8.1 Výskyt subklinických ketóz

V průběhu 6 kontrol užítkovosti (od ledna do června 2016) bylo analyzováno mléko u 1 407 krav. Výskyt subklinických ketóz byl definován podle obsahu ketolátek v mléce (aceton a kyselina betahydroxymáselné – BHB). Subklinické ketózy určuje obsah acetonu nad $0,4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Hofírek a kol, 2009) a BHB nad $0,20 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Geishauser a kol., 2000) respektive nad $0,25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Hofírek a kol., 2004). Klinická forma onemocnění, které se vyskytují v trávicím aparátu (malátnost, pokles dojivosti, lízavka, zvětšený břišní objem, zápach po acetonu) nebo na nervovém aparátu (podrážděnost, neklid, střídavé vstávání a lehání, deprese, křeče), (Hofírek a kol., 2009), nebyly v chovu zaznamenány.

Z tabulek a grafů (graf č. 1, 2, tab. č. 7, 8) vyplývá, že nejvyšší výskyt subklinických ketóz byl v zimním období (leden, únor), a to zejména v první třetině laktace. Vzhledem k metabolické zátěži a zvýšeným nárokům na energii (Jeong a kol, 2018), byl nejčastější výskyt ve vzestupné fázi laktace, viz graf 2. V rámci prvního měsíce laktace se v chovu Chyšná (tabulka 9), ve kterém probíhalo sledování, vyskytla většina subklinických ketóz (8,5% případů do 30 dní laktace). V uvedeném období je zvláště rizikových prvních 12 dní (14 dnů), ve kterém se vesměs manifestují subklinické ketózy, jejichž etiologie (příčina) je shodná s jaterní steatózou (alimentární ketóza II. typu), (Šlosárková et al., 2015). V chovu Chyšná bylo do 12 dnů zaznamenáno 13 % případů. Viña a kol (2016) uvádí výskyt subklinických ketóz v oblasti Galicie (Španělsko) až ve 40 %. Ve srovnání s výsledky uvedeného autora byl výskyt subklinických ketóz v chovu Chyšná výrazně nižší (výskyt subklinických ketóz za celou laktaci 10,3 %). Uvedené srovnání poukazuje na dobrý nutriční stav dojnic v chovu Chyšná, který je podmíněn i velmi významnou spoluprací s krmivářským poradcem Ing. Petrem Brabencem a firmou Fremis Čechtice včetně pravidelných metabolických vyšetření, které uvedená firma zajišťuje.

8.2 Výskyt subklinických ketóz v dalším období během laktace

Ve srovnání s první třetinou laktace (prvních 100 dní) byl výskyt subklinických ketóz v následujícím období významně nižší. Graf 2 ukazuje výskyt subklinických ketóz po celou dobu laktace. Je zřetelné, že nejvíce se toho onemocnění projevilo

v prvních 100 dnech laktace, kdy bylo zjištěno u 3 % krav. Ve druhé třetině laktace byl nález subklinických ketóz výrazně nižší v případech 20.4.2016 a 24.6.2016 nebyla prokázána žádná. Naopak ve třetí třetině laktace se subklinické ketózy opět prokázaly a to u 1,4 % krav. Tyto případy lze zařadit spíše k subklinickým ketózám, jejichž etiologie je spojena s vyčerpáním z jiných zdravotních příčin (metritida, dislokace slezu, mastitida, traumatické procesy, onemocnění pohybového aparátu, infekční onemocnění spojené se zvýšenou teplotou), (Hofírek a kol, 2009). Mírně zvýšené hodnoty v zimním období mohou být zapříčiněné zkrmováním konzervovaných objemných krmiv a snížením svalové námahy při pastevním chovu v zimním období (Doležal a kol, 2000).

8.3 Obsah ketoláték v mléce

Obsah acetonu v mléce je jedním z ukazatelů subklinické ketózy. Jeho zvýšený výskyt na počátku laktace (graf 3) je běžný z důvodu odbourávání tělesných rezerv, především tukových, ke krytí poporodního energetického deficitu (Doležal a kol, 2000). Atypický je výskyt subklinických ketóz v pokusném odběru 4.1.2016, kdy byl aceton na počátku laktace velmi nízký ($0,089 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) a velmi rychle narůstal do 100 dní laktace na hodnotu $1,280 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro zamezení zvýšení hodnot těchto metabolitů je nutné upravit výživu a pokrýt energetický deficit krav po porodu. Je možné podat energetické glukoplastické preparáty a nezbytně zabránit ztučnění krav ke konci laktace (Doležal a kol, 2000). Aceton se při ketóze zvyšuje nad $0,4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Hofírek a kol, 2009). Tabulka 15 ukazuje výsledky dalších hodnot, v průměru se aceton nepřiblížil hodnotě $0,4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ani v jednom případě, ale v jednotlivých obdobích se hodnota vyšší prokázala téměř ve všech termínech kontroly užitkovosti, v některých případech byla hodnota zvýšená o 320% (4.1.2016 v první třetině laktace).

Obsah kyseliny betahydroxymáselné (BHB) je považován za nejlepší ukazatel pro subklinickou ketózu (Zakian a kol, 2017). Obsah BHB se při subklinické ketóze zvyšuje na více než $0,25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Hofírek a kol, 2009). Z grafu 4 je patrné, že téměř vždy je viditelný nárůst do prvních 60 dní laktace, v kontrole užitkovosti 20.6.2016 se ale obsah BHB rychle snižoval již od počátku laktace. Při vyhodnocování 29.2.2016 byl také pozvolný pokles, ale ne tak výrazný. 4.1.2016 se v maximálních hodnotách vyšplhal obsah BHB v mléce až na $0,390$ ke konci první třetiny laktace.

Ve třetí třetině laktace se opět mírně zvýšil obsah BHB, to poukazuje na sekundární ketózu zapříčiněnou nedostatkem energie z jiných zdravotních důvodů (Hofírek a kol, 2009).

8.4 Obsah volných mastných kyselin v mléce

Volné mastné kyseliny (VMK, FFA) vznikají při lipolýze mléčného tuku na glycerol a VMK. Hladina VMK patří mezi indikátory energetického metabolismu v období laktace. Normální obsah VMK v mléce je 0,5 mmol·100 g mléčného tuku. Čím vyšší je obsah VMK, tím větší je riziko vzniku ketóz (Hanuš, 2010). Zvýšení obsahu VMK může být vyvoláno i lipolýzou v souvislosti se skladováním mléka, teplotou mléka, mechanickým poškozením tukových kapének při transportu a dalšími abiotickými faktory (Samková a kol., 2008) i fyziologickým stavem dojníc, například stádiem laktace, dojivostí a dalšími (Rasmusenn a kol., 2006). Podle Rasmusenna a kol. (2006) se průměrné hodnoty VMK pohybují v rozmezí 0,24- 1,16 mmol·100 g tuku. Koncentrace 1,0-1,5 mmol·100 g tuku jsou považovány za nežádoucí. Z grafu č. 5 je patrné, že obsah volných mastných kyselin v mléce s postupující laktací stoupá. Ve druhé třetině laktace se téměř ve všech odběrech, kromě 20. 6. 2016, pohyboval nad hodnotou 1,0 mmol·100 g tuku. Obsah nad 1,2 mmol·100g tuku vykazovaly VMK v případě odběru 4.1.2016 téměř ve všech fázích laktace a v případě odběru 24.2.2016, kromě prvních 60 dní, rovněž v průběhu celé laktace.

8.5 Vztahy VMK ke klátkám a dalším parametrům

Vzhledem k tomu, že obsah VMK souvisí s případy energetického deficitu a jejich zvýšená koncentrace je spojena s rizikem vzniku ketóz (Hofírek a kol, 2009), měl by být uvedený vztah vyjádřen i pozitivními korelačními koeficienty mezi ketolátkami a VMK. Z tabulek korelačních koeficientů však uvedený vztah není jednoznačný. Vysoké korelační koeficienty mezi BHB v mléce a VMK ($r = 0,563$) a mezi obsahem acetonu v mléce a VMK ($r = 0,966$) byl 4.1.2016 v období 0. - 12. den laktace. Uvedený stav nasvědčuje výraznému odbourávání depotního tuku (Zhang a kol, 2016). Energetickému deficitu odpovídá i vysoký korelační koeficienty mezi VMK a močovinou v mléce ($r = 0,505$), (Samková a kol, 2008). Uvedené vztahy již nejsou tak významné v následujících odběrech (KU). V období 29.1.2016 jsou pozitivní, i když nižší koeficienty mezi ketolátkami a VMK 31. – 60. den laktace, 24. 2.2016 je 0. - 12. den laktace vysoký korelační koeficient mezi VMK a BHB a mezi VMK a

močovinou. Pozitivní korelace mezi VMK a tukem v mléce jsou v odběrech 24.6., 24.2. a 29.1. 2016 v prvních 12 dnech a v případě 24. 6. dosáhl koeficient hodnoty 1 a pozitivní byl až do 30 dní laktace ($r=0,461$).

Zvyšování obsahu močoviny v mléce je dalším ukazatelem negativní energetické bilance (Doležal a kol, 2000). Její obsah v mléce je výsledkem energetického a dusíkatého metabolismu zvířete, a je zcela odvislý od úrovně výživy (Samková a kol, 2012). Pozitivní korelace jsou znatelné téměř po celou dobu laktace při KU 24. 2. 2016 a 21. 3. 2016, kdy v prvních 12 dnech je závislost velmi vysoká a v případě 21. 3. 2016 až do 30 dní. Při vyšetření 4. 1. se pozitivní závislost prokázala opět v prvních 12 dnech, ale po zbytek laktace je korelace negativní, přičemž v 31 – 60 dnech velmi výrazně. V KU 24. 6. 2016 a 29. 1. 2016 jsou korelace velmi nejednoznačné a kolísavé, v prvním případě (24. 6. 2016) je dokonce velmi negativní závislost v prvních 30 dnech.

Zvyšující se obsah VMK kvůli lipolýze je nežádoucí, jedná se o hydrolýzu triacylglycerolů tukových kapének (Samková a kol, 2008). Výsledky v našem sledování by tedy měly mít negativní hodnoty korelace, to je ovšem nejednoznačné. V případě 24. 2. 2016 a 29. 1. 2016 se negativní korelace prokázala téměř v celé laktaci, kromě prvních 12 dní, kdy závislost byla pozitivní. V KU 21. 3. 2016 se prokázala opět téměř vždy negativní závislost, kromě 101 – 200 dní, ale hodnotu 0,097 můžeme považovat za nevýznamnou. Ve zbývajících 2 případech (4. 1. 2016 a 24. 6. 2016) jsou hodnoty velmi kolísavé a nejednoznačné. Ve 3 kontrolách se ale prokázala negativní závislost, a tedy potvrzení hypotézy, že VMK stoupají s rozkládajícím se tukem v mléce.

8.6 Vztahy BHB v mléce k acetonu v mléce

Při porovnávání dynamiky obsahu acetonu v mléce a BHB v mléce v jednotlivých odběrech (graf 3 a graf 4) je zjevná obdobná dynamika uvedených forem ketoláték v mléce. Kromě odběru 4.1.2016. Vzájemnou souvislost vyjadřují i korelační koeficienty vypočítané z průměrných hodnot, které se pohybovaly mezi $r=0,80$ (20. 6. 2016) a $r=0,92$ (21. 3. 2016). Uvedené vztahy odpovídají Křížové a kol (2016).

9 Závěr

Na základě analýzy obsahu kyseliny betahydroxymáselné, acetonu, volných mastných kyselin a močoviny v mléce u 1 407 krav holštýnského plemene v 1 kontrolách užítkovosti lze uvést tyto závěry:

1. Výskyt subklinických ketóz se prokázal u 8,5 % vysokoužitkových dojnic do 30 dní laktace a 13% případů za prvních 12 dní laktace, toto období je velmi kritické na výživu.
2. Výskyt subklinických ketóz byl ale v chovu Chyšná nižší než v jiných chovech, za celou laktaci se projevilo toto onemocnění jen u 10,3 % dojnic a poukazuje to na velmi významnou spolupráci s krmivářským poradcem Ing. Brabencem a firmou Fremis Čechtice.
3. Zvýšený obsah acetonu v mléce na počátku laktace je běžný z důvodu odbourávání tělesných rezerv ke krytí porodního energetického deficitu. V průměru se u dojnic neprokázal zvýšený obsah acetonu nad 0,4 mmol·l⁻¹ (hraniční hodnota k určení ketózy), ale v jednotlivých odběrech se vyšší hodnota prokázala ve všech odběrových dnech, u některých vzorků byla hodnota zvýšená o 320%.
4. Kyselina betahydroxymáselná je nejlepším ukazatelem subklinických ketóz a její hodnota se zvyšuje nad 0,25 mmol·l⁻¹. Do 60 dní laktace je patrný nárůst této ketolátky opět z důvodu energetického deficitu. Obsah BHB se postupně snižoval až do třetí třetiny laktace, kdy se opět mírně zvýšil, to ale poukazuje na sekundární ketózu zapříčiněnou nedostatkem energie z jiných zdravotních důvodů.
5. Obsah volných mastných kyselin stoupá s postupující laktací, a to poukazuje na energetický deficit dojnic. Zvýšený obsah volných mastných kyselin se projevil ve všech kontrolách užítkovosti.
6. Výsledky vztahů volných mastných kyselin ke ketolátkám a dalším parametrům nejsou jednoznačné. V některých odběrech se prokázala vysoká pozitivní závislost mezi těmito látkami, hlavně v prvních 12 dnech laktace, a tedy důkaz energetického deficitu. V dalších odběrech ale hodnoty velmi kolísaly a nejsou průkazné.
7. V chovu Chyšná se díky zvýšené zootechnické, veterinární a krmivářské péči ani při vysoké užítkovosti neobjevily klinické ketózy.

8. V chovech se zvýšeným výskytem ketóz je vhodná konzultace s krmivářským poradcem a sestavení nové krmné dávky. Krmná dávka musí pokrýt energetické požadavky dojnic po porodu, a měla by dovolit dojnici vyprodukovat co největší množství mléka bez zdravotních problémů.

10 Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1: Obsah dusíkatých látek v kravském mléce	12
Tabulka 2: Zastoupení jednotlivých bílkovin v celkových bílkovinách mléka	13
Tabulka 3: Syrovátkové bílkoviny mléka	14
Tabulka 4: Obsah vitamínů rozpustných v tuku v kravském mléce	21
Tabulka 5: Obsah vitamínů rozpustných ve vodě v kravském mléce.....	22
Tabulka 6: Průměrný obsah solí a makroelementů v mléce	23
Tabulka 7: Výskyt subklinických ketóz v % v průběhu prvních 100 dnů laktace (podle termínů KU)	34
Tabulka 8: Výskyt subklinických ketóz v % v průběhu 305 denní laktace (podle termínů KU)	35
Tabulka 9: Výskyt subklinických ketóz v % v období leden 2016 - červen 2016.....	36
Tabulka 10: Korelace 24.2.2016	39
Tabulka 11: Korelace 21.3.2016	39
Tabulka 12: Korelace 4.1.2016	40
Tabulka 13: Korelace 24.6.2016	40
Tabulka 14: Korelace 29.1.2016	40
Graf 1: Výskyt subklinických ketóz v průběhu prvních 100 dní laktace (%).....	34
Graf 2: Výskyt subklinických ketóz v průběhu 305 denní laktace (%)	35
Graf 3: Obsah acetonu v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)	37
Graf 4: Obsah BHB v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$).....	37
Graf 5: Obsah VMK v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$).....	38

11 Seznam literatury

AKERS, R., M., 2002: Lactation and the Mammary gland, Blackwell publish company, Iowa, 278 s. ISBN 0-8138-2992-5

DOLEŽAL, Oldřich. Mléko, dojení, dojírny. Praha: Agrospoj, 2000, 241 s.

DUFFILD, T. F., RABIEE, A. R., LEAN, I. J. (2008): A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. J. Dairy Sci., 91 (4):1334-46s

FRELICH, J., Volfová K., Tonka T., Maršálek M., Zedníková J., Buňatová Z., Stránská H., Kleinová A., Štěrbá J., Vejčík A. (2011) : Chov hospodářských zvířat I. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 129 s. ISBN 978-80-7394-298-4.

GEISHAUSER, T., LESLIE, K., TENHAG, J. (2000): Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. J. Dairy Sci., 83: 296-299s.

GRIEGER C. a kol., Hygiena mléka a mléčných výrobků. Bratislava: Příroda [u.a.], 1990. ISBN 8007002537.

Hanuš, O., Manga, I., Vyletělová, M., Genurová, V., Kopecký, J., Jedelská, R. Význam sledování minoritních složek mléka pro zdraví zvířat a analytické možnosti jejich monitoringu. Mlékařství.cz, Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín; Národní referenční laboratoř pro syrové mléko Rapotín [online]. 2010 [cit. 2017-03-19]. Dostupné z: <http://www.mlekarstvi.cz/>

HOFÍREK, Bohumír. *Nemoci skotu*. Brno: Noviko, 2009. ISBN 978-80-86542-19-5.

HOFÍREK, B., PECHOVÁ, A., DOLEŽEL, R., PAVLATA, L., DVOŘÁK, R., FLEISCHER, P. (2004): Produkční a preventivní medicína v chovech skotu. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 184s.

JAGOŠ, P. et al. Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu. 1. vyd. Praha : SZN, 1985. 472 s.

Jensen, R. G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 295 – 350.

JEONG, Jae-Kwan, In-Soo CHOI, Sung-Ho MOON, Soo-Chan LEE, Hyun-Gu KANG, Young-Hun JUNG, Soo-Bong PARK a Ill-Hwa KIM.

Effect of two treatment protocols for ketosis on the resolution, postpartum health, milk yield, and reproductive outcomes of dairy cows. *Theriogenology* [online]. 2018, **106**, 53-59 [cit. 2018-02-22]. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.09.030. ISSN 0093691x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X17304600>.

JEŽEK, J., M.R. CINCOVIĆ, M. NEMEC, B. BELIĆ, R. DJOKOVIĆ, M. KLINKON a J. STARIĆ. Beta-hydroxybutyrate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences* [online]. 2017, **20**(3), - [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.1515/pjvs-2017-0061. ISSN 2300-2557. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/pjvs.2017.20.issue-3/pjvs-2017-0061/pjvs-2017-0061.xml>

KŘÍŽOVÁ, Zuzana, Vladimír KAŇKA, Jan TRÁVNÍČEK, Roman KONEČNÝ, Jan HLADKÝ a Jitka KAUTSKÁ. Účinek monenzinu na mléčnou produkci a obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce dojnic. *Mlékařské listy*. 2016, (27), 2.

KUDRNA, Václav. Produkce krmiv a výživa skotu. 1. vyd. Praha: Agrospoj, 1998, 361 s.

KULOVANÁ, Eliška. Ketózy, vážný problém vysoce dojných stád. *Náš chov* [online]. 2002 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <http://naschov.cz/ketozy-vazny-problem-vysoce-dojnych-stad/>

LOUDA, F. a kol., Základy chovu mléčných plemen skotu. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky, 1994. Živočišná výroba (Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR). ISBN 80-7105-070-9.

PAVLATA, L., PECHOVÁ, A., DVOŘÁK, R. Diferenciální diagnostika syndromu ulehnutí u krav. *Veterinářství*, 2008, 58, s. 43–51.

REECE, William O. a [přeložili Jiří Cibulka ... et]. AL]. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. 1. české vyd. Praha: Grada, 2011, 473 s. ISBN 80-247-3282-3.

REECE, William O. *Fyziologie domácích zvířat*. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-7169-547-5.

SAILER, K.J., R.S. PRALLE, R.C. OLIVEIRA, S.J. ERB, G.R. OETZEL a H.M. WHITE. Technicalnote: ValidationoftheBHBCheckblood β -hydroxybutyrate meter as a diagnostictoolforhyperketonemia in dairycows. *JournalofDairy Science* [online]. 2018, **101**(2), 1524-1529 [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.3168/jds.2017-13583. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311268>

SAMKOVÁ, Eva. Mléko: produkce a kvalita: Milk: production and quality : vědecká monografie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2012. ISBN 9788073943837.

SAMKOVÁ, E., PEŠEK, M., ŠPIČKA, J., 2008 : Mastné kyseliny mléčného tuku skotu a faktory jejich zastoupení, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 90 s., ISBN 978-80-7394-104-8

SOVA, Zdeněk. *Fyziologie hospodářských zvířat: celost. vysokošk. učebnice pro vys. školy zeměděl. a veter.* 2., přeprac. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. Živočišná výroba (Státní zemědělské nakladatelství). ISBN 80-209-0092-6.

SVOBODA, M. a kol. Abeceda mlékárenství. 2 vydání. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1966. ISBN 04-815-66.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., SKŘIVÁNEK, M. (2015): Ketóza. Produkční poruchy dojníc v tranzitním období. Příloha měsíčníku *Náš chov*, 6-8s.

Viña, C., Fouz, R., Camino, F., Sanjuán, ML, Yus, E. a Diéguez, FJ (2017), Studie o některých rizikových faktorech a účincích ketózy skotu na dojnice z oblasti Galicie). *J Anim Physiol Anim Nutr*, 101: 835-845. dva: 10.1111 / jpn.12471

Vranković, L., Aladrović, J., Octenjak, D., Bijelić, D., Cvetnić, L., and Stojević, Z.: Milkfatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows, *Arch. Anim. Breed.*, 60, 205-212, <https://doi.org/10.5194/aab-60-205-2017>, 2017.

ZAKIAN, A, M TEHRANI-SHARIF, MR MOKHBER-DEZFOULI, M NOURI a PD CONSTABLE. Evaluation of a point-of-care electrochemical meter to detect subclinical ketosis and hypoglycaemia in lactating dairy cows. *Australian Veterinary Journal* [online]. 2017, **95**(4), 123-128 [cit. 2018-03-07]. DOI: 10.1111/avj.12568. ISSN 00050423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/avj.12568>

ZHANG, Guanshi, Dagnachew HAILEMARIAM, Elda DERVISHI, Seyed Ali GOLDANSAZ, Qilan DENG, Suzanna M. DUNN a Burim N. AMETAJ. Dairy cows affected by ketosis show alterations in innate immunity and lipid and carbohydrate metabolism during the dry off period and postpartum. *Research in Veterinary Science* [online]. 2016, **107**, 246-256 [cit. 2018-03-03]. DOI: 10.1016/j.rvsc.2016.06.012. ISSN 00345288. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528816301199>

Volné mastné kyseliny v mléce. Agronavigátor [online]. Ing. Dana Nehasilová, 2003 [cit. 2017-03-19]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/>

12 Přílohy

Tabulka 15: Obsah acetonu v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) v jednotlivých údobích kontroly užítkovosti v r. 2016

Datum KU	Parametr	Dny laktace						
		0-12	0-30	31-60	61-100	0-100	101-200	201-305
04.01.2016	n	4	25	30	34	89	68	97
	x	0,107	0,142	0,196	0,218	0,189	0,156	0,160
	sx	0,030	0,046	0,114	0,226	0,159	0,064	0,076
	max	0,150	0,250	0,560	1,280	1,280	0,370	0,530
	min	0,070	0,070	0,050	0,040	0,040	0,060	0,010
29.01.2016	n	3	21	42	47	110	99	103
	x	0,153	0,128	0,131	0,138	0,133	0,118	0,118
	sx	0,026	0,049	0,048	0,047	0,048	0,047	0,052
	max	0,190	0,210	0,230	0,240	0,240	0,240	0,340
	min	0,130	0,040	0,030	0,030	0,030	0,020	0,010
24.02.2016	n	4	21	26	58	105	102	96
	x	0,292	0,209	0,136	0,118	0,141	0,120	0,107
	sx	0,167	0,128	0,056	0,068	0,088	0,124	0,789
	max	0,520	0,520	0,300	0,430	0,520	1,230	0,620
	min	0,050	0,010	0,050	0,010	0,010	0,010	0,010
21.03.2016	n	3	15	25	44	84	107	99
	x	0,160	0,156	0,137	0,112	0,131	0,129	0,135
	sx	0,042	0,072	0,048	0,050	0,056	0,050	0,053
	max	0,220	0,390	0,220	0,230	0,390	0,390	0,330
	min	0,130	0,080	0,050	0,010	0,010	0,030	0,010
20.04.2016	n	7	20	32	36	88	110	97
	x	0,165	0,170	0,117	0,100	0,127	0,089	0,091
	sx	0,084	0,026	0,046	0,042	0,077	0,051	0,051
	max	0,280	0,370	0,210	0,190	0,370	0,350	0,400

	min	0,030	0,030	0,030	0,020	0,020	0,010	0,010
20.06.2016	n	2	15	11	31	57	96	95
	x	0,190	0,135	0,111	0,092	0,107	0,112	0,109
	sx	0,120	0,064	0,028	0,039	0,049	0,045	0,057
	max	0,310	0,310	0,170	0,170	0,310	0,260	0,310
	min	0,070	0,050	0,080	0,010	0,010	0,010	0,010

Tabulka 16: Obsah VMK v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) v jednotlivých údobích kontroly užítkovosti v r. 2016

Datum KU	Parametr	Dny laktace						
		0-12	0-30	31-60	61-100	0-100	101-200	201-305
04.01.2016	n	4	25	30	34	89	68	97
	x	1,340	1,164	1,234	1,287	1,235	1,329	1,323
	sx	0,337	0,313	0,353	0,419	0,373	0,416	0,459
	max	1,810	1,850	1,870	2,090	2,090	2,020	2,640
	min	1,010	0,650	0,110	0,070	0,070	0,030	0,010
29.01.2016	n	3	21	42	47	110	99	103
	x	0,660	0,950	0,982	1,061	1,001	1,125	1,082
	sx	0,099	0,312	0,443	0,416	0,412	0,384	0,317
	max	0,740	1,620	2,340	2,000	2,340	2,040	1,770
	min	0,520	0,330	0,030	0,390	0,030	0,090	0,330
24.02.2016	n	4	21	26	58	105	102	96
	x	0,990	1,256	1,065	1,285	1,225	1,238	1,265
	sx	0,482	0,444	0,423	0,473	0,465	0,484	0,482
	max	1,540	1,910	1,880	2,480	2,480	2,450	2,270
	min	0,260	0,120	0,070	0,010	0,010		
21.03.2016	n	3	15	25	44	84	107	99
	x	1,017	0,877	1,066	1,004	1,000	1,099	1,056
	sx	0,389	0,308	0,452	0,304	0,361	0,391	0,339

	max	1,540	1,540	2,290	1,640	2,290	2,280	2,010
	min	0,610	0,480	0,460	0,380	0,380		0,030
20.04.2016	n	7	20	32	36	88	110	97
	x	0,913	0,806	0,824	0,892	0,839	1,047	0,964
	sx	0,563	0,050	0,317	0,277	0,325	0,279	0,310
	max	1,960	1,960	1,630	1,620	1,960	2,010	2,060
	min	0,190	0,150	0,120	0,270	0,120	0,590	0,160
20.06.2016	n	2	15	11	31	57	96	95
	x	0,445	0,603	0,807	0,941	0,822	0,951	0,973
	sx	0,285	0,239	0,204	0,221	0,265	0,230	0,217
	max	0,730	1,110	1,120	1,420	1,420	1,460	1,480
	min	0,160	0,160	0,410	0,500	0,160	0,330	0,190

Tabulka 17: Obsah BHB v mléce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) v jednotlivých údobích kontroly užítkovosti v r. 2016

Datum KU	Parametr	Dny laktace						
		0-12	0-30	31-60	61-100	0-100	101-200	201-305
04.01.2016	n	4	25	30	34	89	68	97
	x	0,073	0,080	0,099	0,090	0,090	0,081	0,082
	sx	0,025	0,037	0,053	0,076	0,060	0,047	0,046
	max	0,110	0,210	0,260	0,390	0,390	0,280	0,280
	min	0,050	0,030	0,040	0,010	0,010	0,010	0,010
29.01.2016	n	3	21	42	47	110	99	103
	x	0,073	0,072	0,070	0,064	0,068	0,054	0,059
	sx	0,021	0,037	0,032	0,027	0,031	0,026	0,034
	max	0,100	0,160	0,140	0,130	0,160	0,140	0,220
	min	0,050	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
24.02.2016	n	4	21	26	58	105	102	96
	x	0,105	0,108	0,071	0,052	0,068	0,052	0,052

	sx	0,067	0,075	0,038	0,039	0,053	0,073	0,056
	max	0,190	0,350	0,160	0,230	0,350	0,650	0,460
	min	0,040	0,020	0,020	0,010	0,010	0,010	0,010
21.03.2016	n	3	15	25	44	84	107	99
	x	0,040	0,047	0,060	0,043	0,049	0,048	0,053
	sx	0,008	0,035	0,023	0,028	0,029	0,029	0,029
	max	0,050	0,160	0,10	0,120	0,160	0,200	0,140
	min	0,030	0,010	0,020	0,010	0,010	0,010	0,010
20.04.2016	n	7	20	32	36	88	110	97
	x	0,080	0,083	0,050	0,033	0,052	0,029	0,037
	sx	0,039	0,090	0,027	0,019	0,040	0,019	0,030
	max	0,140	0,200	0,120	0,100	0,200	0,080	0,340
	min	0,030	0,030	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
20.06.2016	n	2	15	11	31	57	96	95
	x	0,090	0,054	0,026	0,025	0,033	0,035	0,037
	sx	0,060	0,035	0,014	0,016	0,026	0,024	0,035
	max	0,150	0,150	0,060	0,060	0,150	0,120	0,270
	min	0,030	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010