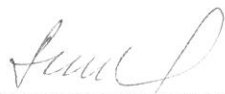


## Prohlášení

Diplomová práce s názvem „Posouzení faktorů ovlivňujících přítomnost reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce“ (The evaluation of factors affecting the occurrence of antibiotic residues in raw milk) nemůže být zatím vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2022 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.



.....  
doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

vedoucí diplomové práce



.....  
Bc. Natalia Climova

autorka diplomové práce

V Českých Budějovicích

29. dubna 2022



Fakulta zemědělská  
a technologická  
Faculty of Agriculture  
and Technology

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

## Diplomová práce

Posouzení faktorů ovlivňujících přítomnost reziduí inhibičních  
látek v syrovém kravském mléce

Autorka práce: Bc. Natalia Climova

Vedoucí práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

Konzultant práce: doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice  
2022

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Natalia CLIMOVA
Osobní číslo:	Z20384
Studijní program:	N0721A370001 Kvalita a zpracování zemědělských produktů
Studijní obor:	Kvalita a zpracování zemědělských produktů
Téma práce:	Posouzení faktorů ovlivňujících přítomnost reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce
Zadávací katedra:	Katedra potravin, biotechnologií a kvality zemědělských produktů

### Zásady pro vypracování

Rezidua inhibičních látek (RIL) jsou jedny z hlavních ukazatelů hygienické jakosti mléka a určují jeho vhodnost pro další zpracování. Nejčastějším zdrojem RIL v mléce dojnic jsou veterinárně léčivé přípravky.

Cílem diplomové práce bude sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně RIL v mléce dojnic a posouzení metod jejich stanovení. Součástí práce bude analýza vybraných faktorů, které na tyto ukazatele působí.

Diplomová práce bude vypracována na základě aktuálního Opatření děkana ZF JU, dle příslušné šablony (<http://www.zf.jcu.cz/studium/dokumenty%20pro%20studenty/formulare-a-dokumenty-ke-stazeni/sablony-zaverecnych-praci>). Vlastní práce bude členěna dle osnovy:

1. Úvod – význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. Literární přehled – současný stav poznání týkající se přítomnosti inhibičních látek v mléce dojnic, faktorů, které na ně působí a nejčastěji využívaných metod detekce RIL získaný studiem nejnovější vědecké a odborné literatury
3. Cíl práce
4. Materiál a metodika – charakteristika chovů, resp. vzorků, popis použitých analytických metod včetně metod statistických
5. Výsledky a diskuse – tabulkové a grafické zpracování získaných dat, jejich statistické vyhodnocení a porovnání s dostupnými literárními údaji
6. Závěr – stručné shrnutí výsledků, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky
7. Seznamy (použité literatury dle platných citačních zásad, obrázků, tabulek, grafů, zkratk).

Rozsah pracovní zprávy: 35-40 stran textu  
Rozsah grafických prací: 10-15 stran (tabulky, grafy, fotografie)  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- Oliver J.P. et al.: Invited review: Fate of antibiotic residues, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes in US dairy manure management systems. J. Dairy Sci., 2020, 103: 1051-1071.
- Lee M.H. et al.: Public health risks: Chemical and antibiotic residues – Review. Asian Australas. J. Anim. Sci., 2001, 14: 402-413.
- Rossi R. et al.: Multiclass methods for the analysis of antibiotic residues in milk by liquid chromatography coupled to mass spectrometry: A review. Food Addit. Contam. Part A-Chem., 2018, 35: 241-257.
- Databáze WoS, CASLIN, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, Proquest, dostupné na <http://www.lib.jcu.cz/>
- Dokumenty, publikace a informace na internetových portálech <http://www.vyzivaspol.cz/>, <http://www.foodnet.cz/>, [www.agronavigators.cz](http://www.agronavigators.cz), [www.mze.cz](http://www.mze.cz) a [www.czso.cz](http://www.czso.cz); dále odborné publikace v časopisech Výživa a potraviny, Mlékařské listy aj.
- Zákony, vyhlášky a nařízení ČR a EU vztahující se k dané problematice

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.**  
Katedra potrav. biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Konzultant diplomové práce: **doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.**  
Katedra potrav. biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Datum zadání diplomové práce: **20. března 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **15. dubna 2022**



**doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D.**  
děkan

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA**   
**V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**  
studijní oddělení  
Studentůvák 1048, 370 05 České Budějovice



**doc. Ing. Pavel Smetana, Ph.D.**  
vedoucí katedry

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne .....

.....

Podpis

## **Abstrakt**

Následující pasáž **Abstrakt** o rozsahu 1 strany je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.

## **Poděkování**

Úvodem diplomové práce bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce doc. Ing. Evě Samkové, Ph.D. a dále také MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D., za cenné rady a pomoc během zpracování diplomové práce.

Diplomová práce byla zpracována s podporou Ministerstva Zemědělství ČR (QJ21010326) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 005/2022/Z).

## Obsah

Úvod.....	8
1 Literární přehled.....	9
1.1 Veterinární léčivé přípravky – antibiotika.....	10
1.1.1 Charakteristika a rozdělení antibiotik .....	10
1.1.2 Technologická a zdravotní rizika .....	13
1.2 Pesticidy .....	17
1.2.1 Charakteristika a rozdělení pesticidů .....	17
1.2.2 Použití a zdravotní rizika .....	19
1.3 Kontrola reziduí v České republice .....	21
1.3.1 Legislativní opatření k výskytu reziduí.....	22
1.3.2 Maximální limity reziduí.....	25
1.3.3 Ochranné lhůty .....	27
1.4 Moderní metody stanovení RIL .....	28
1.4.1 Metody stanovení reziduí antibiotik.....	28
1.4.2 Metody stanovení reziduí pesticidů .....	33
2 Cíl práce .....	36
3 Materiál a metodika.....	37
4 Výsledky a diskuse.....	38
Závěr .....	39
Seznam použité literatury.....	40
Seznam obrázků .....	50
Seznam grafů.....	51
Seznam tabulek .....	52
Seznam použitých zkratk.....	54



---

## Úvod

Následující pasáž **Úvod** o rozsahu 1 strany je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.

# 1 Literární přehled

Za určitých podmínek mohou v potravinách vznikat nebo do nich z vnějšího prostředí pronikat látky, které mohou působit negativně na zdraví člověka. Pro látky, které se do potravin dostaly neúmyslně v zemědělské prvovýrobě, při skladování, dopravě, prodeji, ale i během technologického nebo kulinárního zpracování, případně v důsledku znečištění životního prostředí, se vymezuje pojem látky znečišťující, látky kontaminující nebo potravinové kontaminanty. Ty se často rozlišují na kontaminanty primární čili exogenní, pocházející z vnějších zdrojů, a kontaminanty sekundární neboli endogenní, vznikající v potravině vlivem různých fyzikálních a chemických vlivů. Zemědělská produkce je jedna z oblastí, při kterých dochází k primární kontaminaci potravin. Patří sem mimo jiné veterinární ošetření a používání pesticidních přípravků (Velíšek, 2002).

Evropská Komise dne 14. října 2020 zveřejnila novou strategii pro udržitelnost v oblasti chemických látek. Cílem Evropské unie (EU) je dosahování nulového znečištění. V souladu s Evropskou zelenou dohodou se strategie snaží o prostředí bez toxických látek, kde jsou chemikálie vyráběny a používány způsobem, který maximalizuje jejich přínos pro společnost, včetně dosažení zeleného a digitálního přechodu, a zároveň zabraňuje poškození planety pro současné i budoucí generace (obrázek 1.1).



**Obrázek 1.1: Strategie omezení toxických látek – nová hierarchie v nakládání s chemikáliemi**

V plánu je vývoj bezpečných chemických látek, posílení ochrany lidského zdraví a životního prostředí, zjednodušení a posílení právního rámce pro chemické látky, včetně zásad řádného nakládání s nimi po celém světě (Evropský Parlament, 2021).

V této diplomové práci bude pozornost věnována především exogenním kontaminantům, a to reziduíům léčivých přípravků, dostávajícím se do potravin v důsledku

---

veterinárního ošetření zvířat (dále jen RIL), a reziduím pesticidů, používaným k ochraně rostlin a zamezení ztrát při skladování.

## 1.1 Veterinární léčivé přípravky – antibiotika

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 ze dne 11. prosince 2018 o veterinárních léčivých přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES popisuje veterinární léčivý přípravek takto: jakákoli látka nebo kombinace látek, která splňuje alespoň jednu z těchto podmínek:

- a) je prezentována s vlastnostmi léčit nebo mít preventivní účinek v případě onemocnění zvířat;
- b) účelem jejího použití u zvířat nebo jejího podávání zvířatům je obnova, úprava či změna fyziologických funkcí prostřednictvím farmakologického, imunologického nebo metabolického účinku;
- c) účelem jejího použití u zvířat je stanovení lékařské diagnózy;
- d) účelem jejího použití je eutanázie.

Pokud existují důvody, že by veterinární léčivý přípravek mohl představovat potenciální závažné riziko pro lidské zdraví, zdraví zvířat nebo pro životní prostředí, mělo by být na úrovni Unie provedeno vědecké hodnocení tohoto přípravku, které povede k jednotnému rozhodnutí o přínosu a riziku, a toto rozhodnutí pak bude závazné pro příslušné členské státy (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6).

### 1.1.1 Charakteristika a rozdělení antibiotik

Mezi nejpoužívanější skupiny veterinárních léčiv patří antimikrobiální látky a antiparazitární přípravky. Příklady nejdůležitějších skupin farmakologicky aktivních látek používaných ve veterinární medicíně jsou uvedeny v tabulce 1.1.

Tabulka 1.1: Rozdělení veterinárních léčiv

Skupina léčiv	Název
<b>antibiotika</b>	
β-laktamová – peniciliny	benzylpenicilin (penicilin G) ampicillin

Skupina léčiv	Název
	amoxicillin kloxacillin
β-laktamová – cefalosporiny	ceftiofur cefaloridin
tetracyklinová	tetracyklin chlortetracyklin oxytetracyklin
aminoglykosidová	dihydrostreptomycin gentamycin kanamycin
makrolidová	tylosin spiramycin (selektomycin) erythromycin
skupina chloramfenikolu	chloramfenikol thiamfenikol
linkosamidy	linkomycin
sulfonamidy	sulfadiazin sulfadimidin sulfadoxin sulfadimethoxin (dinosol) trimethoprim
chinolony	enrofloxacin
<b>antiparazitární látky</b>	
kokcidostatika	monensin
anthelmintika	
benzimidazoly	thiabendazol albendazol

Skupina léčiv	Název
probenzimidazoly	netobimin febantel
makrolidové endektocidy	ivermektin doramektin
pyrethroidy	permethrin
organofosforové pesticidy	foxim
<b>ostatní</b>	
nesteroidní protizánětlivé látky	karprofen ketoprofen
analgetika, antipyretika	salicylová kyselina
látky s účinkem na autonomní nervový systém	klenbuterol
<b>látky s účinkem na centrální nervovou soustavu</b>	
sedativa	pentobarbital
analeptika	amfetamin

Zdroj: Velíšek (2002)

ÚSKVBL (2019) zveřejňuje dva seznamy veterinárních léčiv podle § 99 odst. 1, písm. c) zákon/9a č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, seznamy veterinárních léčivých přípravků registrovaných v České republice (ČR) a v rámci Společenství. První seznam platí pouze pro území ČR, druhý seznam uvádí léčiva, které vydala rozhodnutí o registraci Evropská Komise. Toto rozhodnutí platí na území všech členských států EU. V červnu roku 2020 bylo na stránce Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv uvedeno 2104 schválených registrovaných léčivých přípravků.

Rozdělení antibiotik (ATB) a chemoterapeutik se rozlišuje rovněž podle účinku na patogenní mikroorganismus (obrázek 1.2).



**Obrázek 1.2: Rozdělení antibiotik a chemoterapeutik podle účinku na mikroorganismus (Zdroj: Wikiskripta, 2021)**

Výše uvedené léčivé přípravky jsou v chovu dojnic nejčastěji používané při léčbě zánětů mléčné žlázy.

Záněty mléčné žlázy (mastitidy) jsou celosvětově považovány za nejčastěji se vyskytující a ekonomicky nejvýznamnější onemocnění. Z 99 % jsou příčinou zvýšení počtu somatických buněk (PSB) v mléce (Zámostný, 2013).

Mastitidy vždy souvisí s nízkou produkcí mléka, změnami konzistence mléka (hustoty), sníženou možností adekvátního zpracování mléka, nízkým obsahem bílkovin a vysokým rizikem pro hygienu mléka, protože může obsahovat i patogenní mikroorganismy. Existuje přímá korelace mezi PSB a kvalitou mléka, tedy čím vyšší hodnoty PSB, tím horší kvalita mléka (Sharma et al., 2011).

PSB je jeden z ukazatelů tzv. hygienického balíčku (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004).

### 1.1.2 Technologická a zdravotní rizika

Důvodem sledování RIL je nebezpečí pro konzumenta a problémy při technologickém zpracování mléka.

## Technologická rizika

Problémy při technologickém zpracování mléka mohou souviset se složením mléka, ale také s jeho kontaminací nežádoucími složkami. Například použití mléka s vysokými hodnotami PSB, které patří k přirozeným inhibičním látkám, může negativně ovlivnit nejen koagulaci mléka, zrání sýrů a jejich výtěžnost, ale může mít vliv na chemické složení, texturu sýrů, a způsobovat také nežádoucí senzorické vady sýrů (Moradi et al., 2021).

Přítomnost různých inhibičních látek má tlumivý vliv na rozvoj a aktivitu mlékařských kultur a zákysů. V případě, že se nachází v mléce ve vyšších než minimálních inhibičních koncentracích, projeví se jejich inhibiční účinek během technologického zpracování mléka (Navrátilová, 2002).

Vzhledem k bakteriostatickému nebo baktericidnímu působení na růst bakterií mléčného kysání (Janštová et al., 2012; Chiesa et al., 2020) působí přítomnost RIL v syrovém mléce negativně především při výrobě fermentovaných mléčných výrobků, tvarohů, sýrů, másla vyráběného ze zakysané smetany (Samková et al., 2012).

Některé změny v souvislosti s RIL při výrobě fermentovaných mléčných produktů jsou uvedeny v tabulce 1.2.

Tabulka 1.2: Vliv reziduí inhibičních látek na technologické vlastnosti mléka

Druh mléka	Produkt	Antibiotikum	Účinek	Zdroj
Kravské mléko	sýr	linkomycin	snížení pH, zvýšení počtu mezofilních aerobních bakterií, snížení koncentrace kyseliny mléčné	Chiesa et al., 2020
Kravské mléko	jogurt	paklobutrazol (fungicid)	změna mikrobiálního složení, inhibice metabolismu mikroorganismů, zvýšení poměru <i>Staphylococcus aureus</i>	Guo et al., 2020
Kozí mléko	sýr	erythromycin tylosin spiramicinu	inhibice startovacích kultur, snížení kysací schopnosti	Quintanilla et al., 2018

Druh mléka	Produkt	Antibiotikum	Účinek	Zdroj
Kozí mléko	sýr	oxytetracyklin	snížení pH, snížení enzymatické aktivity, snížení obsahu volných mastných kyselin, zvýšení celkové doby výroby	Quintanilla et al., 2020
Kozí mléko	sýr	enrofloxacin	snížení obsahu tuku, zvýšení obsahu bílkovin, snížení produkce, zvýšení obsahu volných mastných kyselin a aminokyselin	Quintanilla et al., 2021
Ovčí mléko	sýr	oxytetracyklin	prodloužení doby srážení startovacími kulturami	Cabizza et al., 2017
Ovčí mléko	jogurt	cefalexin	zvýšení kyselosti, inhibice růstu <i>Streptococcus thermophilus</i> , zvýšení doby zrání, změna poměru L(+):D(-) kyseliny mléčné	Novés et al., 2015

Quintanilla et al. (2021) zjistili, že ne každá skupina ATB může způsobit vady sýrů. Technologické a senzorické vlastnosti zrajícího kozího sýra nebyly ovlivněny přítomností reziduí enrofloxacinu (baktericidní ATB ze skupiny chinolony). Erythromycin a tylosin (bakteriostatická ATB ze skupiny makrolidy) po ukončení ochranné lhůty za sedm dní nezpůsobily vady sýrů, což nebylo potvrzeno u spiramicinu (Quintanilla et al., 2018).



---

## Zdravotní a hygienická rizika

Rezidua pesticidů, rezidua veterinárních přípravků a mykotoxiny jsou třemi rizikovými skupinami vstupu karcinogenů do lidského organismu při tzv. západním stylu výživy (Kalač, 2003). Vlastnosti reziduí ATB v mléce jsou obzvláště znepokojující kvůli vytvoření bakteriální rezistence nebo vyvolání přecitlivělosti na ATB. Navíc ohřev nebo pasterizace mléka nemá na ATB vliv, a v mnoha případech je pasterizací ovlivněna pouze mikrobiální aktivita (Vinícius de Faria et al., 2021). Světová zdravotnická organizace (WHO) nazvala antimikrobiální rezistenci „stále závažnější hrozbou pro globální veřejné zdraví, která vyžaduje opatření napříč všemi vládními sektory a společnostmi“. Přibývá důkazů, že antibiotická rezistence u lidí je podporována rozšířeným používáním neterapeutických ATB u zvířat (Martin et al., 2015).

Kalač (2003) rozlišuje několik rizik, které mohou působit kontaminující látky:

- ✓ rizika značná, ale dlouhodobé účinky je obtížné určit. To se týká především toxinů mikroorganismů, průmyslových kontaminantů, reziduí veterinárních léčiv a pesticidů
- ✓ určitá rizika existují, ale znalost o účincích jsou nedostatečné (např. přírodní toxické látky)
- ✓ rizika malá (např. přídavné látky)
- ✓ rizika spíše potenciální než reálná (např. antinutriční látky).

Hladiny reziduí veterinárních léčiv jsou podmíněny farmakokinetickými parametry: absorpcí, distribucí v tkáních, metabolismem a vylučováním. Nejdůležitější faktory podmiňující přechod léčivého přípravku z krevní plazmy do mléka jsou:

- stupeň ionizace léčivého přípravku
- jeho lipofilita
- vazba na proteiny
- relativní molekulová hmotnost (Velíšek, 2002).

Přítomnost reziduí ATB nebo dalších chemoterapeutik v mléce znamená riziko pro spotřebitele. Výše rizika závisí na druhu ATB, na jejich biologických zvláštnostech i na jejich koncentraci v mléce. K nejčastěji uváděným rizikům patří alergické reakce, možnost vzniku rezistence na ATB a nepříznivý vliv na přirozenou mikroflóru

---

lidského organismu. Nebezpečná je zejména přítomnost penicilinu, na který má poměrně mnoho lidí zvýšenou citlivost. Stopové dávky ATB mohou stimulovat vznik rezistentních kmenů mikroorganismů (Navrátilová, 2002).

Vzhledem k tomu, že rezidua ATB mají zdravotní a technologická rizika, použití ATB ve veterinární praxi zůstává nezbytné. V biochovech, kde je použití ATB omezené, zůstávají hodnoty PSB během dvou laktací v nadlimitní výši (Fernandes et al., 2021).

## **1.2 Pesticidy**

Pesticidy jsou organické či anorganické látky nebo směsi látek chemické či biologické povahy, které se používají hlavně v zemědělství k ochraně rostlin před nejrůznějšími nežádoucími organismy (rostlinné plevely, živočišní škůdci, mikroorganismy aj.). Chemické pesticidy jsou uměle syntetizovány, biologické pesticidy (tzv. biopesticidy) jsou výsledkem činnosti určitých mikroorganismů. Funkcí pesticidů je kontrolovat a regulovat výskyt nežádoucích (nejčastěji přemnožených) organismů v místech, kde způsobují škody. Jsou určeny hlavně k prevenci, mírnění, zapuzení či ničení těchto organismů nebo škod jimi způsobených (Kubišová, 2008).

### **1.2.1 Charakteristika a rozdělení pesticidů**

Pesticidy lze rozdělit dle několika kritérií. Běžným kritériem je dle cílového škodlivého organismu. V tabulce 1.3 jsou uvedeny základní skupiny pesticidů rozdělených podle účinku proti jednotlivým škodlivým činitelům.

**Tabulka 1.3: Klasifikace pesticidů podle biologické účinnosti**

<b>Skupina pesticidů</b>	<b>Účinnost</b>
<b>zoocidy</b>	hubení škůdců živočišného původu
Insekticidy	ochrana proti hmyzu
Akaracidy	ochrana proti roztočům
Ovicidy	ničení vajíček hmyzu a roztočů
Nematocidy	ochrana proti háďátkům a červům
Moluskocidy	ochrana proti měkkýšům
Avicidy	hubení ptáků
Piscicidy	hubení ryb
Rodenticidy	hubení hlodavců
<b>herbicidy</b>	proti plevelným rostlinám, které se vyskytují v porostech kulturních plodin
Graminocidy	zastavení růstu jednoděložných trav ve dvouděložných rostlinách a dřevinách
Arborocidy	hubení stromů a keřů
Algicidy	hubení řas
<b>fungicidy</b>	proti fytopatogenním houbám, některé z nich mají i baktericidní účinek
<b>antimikrobiální látky a biocidy</b>	likvidace mikroorganismů jako jsou bakterie a viry
<b>dezinfekční a sanitační prostředky</b>	ničení a deaktivace původce nakažlivých chorob, jako jsou mikroorganismy na neživých objektech (např. plísně na omítkách)

*Zdroj: ALS (2015)*

Dalším typem klasifikace pesticidů je klasifikace podle chemického složení (obrázek 1.3).

organochlorové deriváty	• DDT, aldrin, dieldrin, lindan
organofosforové pesticidy	• chlorpyrifos, dimethoát, forát
pyrethroidy	• cypermethrin, bifenthrin, deltamethrin
karbamáty	• fenoxycarb, karbofuran, karbaryl
triazinové a diazinové pesticidy	• atrazin, cyanazin, terbutylazin
pesticidy na bázi močoviny	• diuron, isoproturon, chloroturon
pesticidy na bázi bipyridilů	• dikvat a parakvat
pesticidy na bázi kovů	• fenylrtuť, tributylcin, chlorid rtuťnatý
pesticidy na bázi glyfosátu	

**Obrázek 1.3: Rozdělení pesticidů podle chemického složení**

Podle působení na ošetřovaný organismus lze dělit pesticidy na **kontaktní**, kde účinná látka neproniká do rostlinné tkáně a zůstává na povrchu pouze na místech, kam dopadla při aplikaci (DDT, dikvat), na **systémové**, které pronikají kutikulou do buněk a jsou rozváděny cévním systémem (jsou dokonalejší, ale náchylné ke vzniku rezistence, např. glyfosát, terbutylazin) a na **kombinované** přípravky, obsahující jak kontaktní, tak systémovou látku (ALS, 2015).

### 1.2.2 Použití a zdravotní rizika

První zaznamenané použití pesticidů bylo asi 4500 př. n. l. Sumery, kteří používali sloučeniny síry k hubení hmyzu a roztočů. Přibližně 3200 př. n. l. používali Číňané rtuť a sloučeniny arsenu k hubení vší. Až do 40. let 20. století byly při hubení škůdců stále široce používány anorganické látky, jako je chlorečnan sodný a kyselina sírová, nebo organické chemikálie pocházející z přírodních zdrojů. Rozvoj syntetických pesticidů se zrychlil po druhé světové válce s objevem účinků DDT (dichlordifenyltrichlorethan), HCB (hexachlorbenzen), aldrinu, dieldrinu, endrinu, chlordanu a jiných (IUPAC, 2010).

Kromě nesporných pozitivních aspektů vyplývajících z používání pesticidů (vyšší výnosy, vyšší nutriční, sensorická a technologická jakost ošetřených produktů) existují i negativní dopady na životní prostředí a zdraví člověka (Velíšek, 2002).

Zdravotní rizika vyplývající z přítomnosti reziduí pesticidů v potravinách mohou být akutní a chronická. Akutní zdravotní rizika vznikají při krátkodobém příjmu rezidua určitého pesticidu při překročení akutní referenční dávky (ARfD = „Acute Reference Dose“) stanovené pro tuto látku. Chronická zdravotní rizika vznikají při dlouhodobém příjmu rezidua určitého pesticidu při překročení stanovené hodnoty jeho přijatelného denního příjmu (ADI = „Acceptable Daily Intake“) (SZÚ, 2015). Kumulace reziduí pesticidů v lidském organismu může způsobit rakovinu a poškodit endokrinní, nervový a imunitní systém (Ramezani et al., 2022). V tabulce 1.4 jsou uvedeny povolené a nepovolené vybrané pesticidy, včetně zdravotních rizik na lidský organismus.

**Tabulka 1.4: Seznam povolených a zakázaných pesticidů v ČR a jejich toxicita na lidský organismus**

Pesticid	Status	Akutní toxicita	Chronická toxicita				
			Karcinogenní	Mutagenní	Reproduktivní	Endokrinní disruptor	Neurotoxická
Cypermethrin	p	•					
Deltamethrin	p					•	
Permethrin	np		•		•	•	•
Chlordan	np	•	•	•	•	•	•
DDT	np		•	•	•	•	•
HCB	np		•			•	
Heptachlor	np		•		•		•
HCH	np		•	•			•
Lindan	np						•
Diazinon	np			•			•
Forát	np						•
pirimifosmethyl	np			•			
Aldrin	np		•			•	•
Cyromazin	np	•			•		

*np = nepovolená látka, p = povolená, DDT = dichlordifenyltrichloretan, HCB = hexachlorbenzen, HCH = hexachlorcyklohexan*

*Zdroj: PPDB (Pesticide Properties Database) (2022)*

---

Už v roce 1959 bylo prokázáno, že rozklad pesticidů je dlouhodobý proces a rezidua pesticidů se mohou objevovat v mléce i po 8 týdnech od doby omezení podávání kontaminovaného krmiva (Gannon et al., 1959).

Rozklad pesticidů může trvat různě dlouhou dobu, dle poločasu rozpadu jsou děleny do 3 kategorií:

1. perzistentní pesticidy – poločas rozpadu je menší než 30 dnů (např. malathion)
2. středně perzistentní pesticidy – poločas rozpadu je 30-100 dnů (např. benomyl)
3. vysoce perzistentní pesticidy – poločas rozpadu je více 100 dnů (např. prometon).

Rozklad pesticidů na metabolity neznamená snížení jeho toxicity. Metabolitem se rozumí rozkladné produkty přípravků na ochranu rostlin, které vznikají v životním prostředí po aplikaci v biotických nebo abiotických procesech. Degradace pesticidů probíhá působením fyzikálně-chemických a biologických vlivů (ALS, 2015).

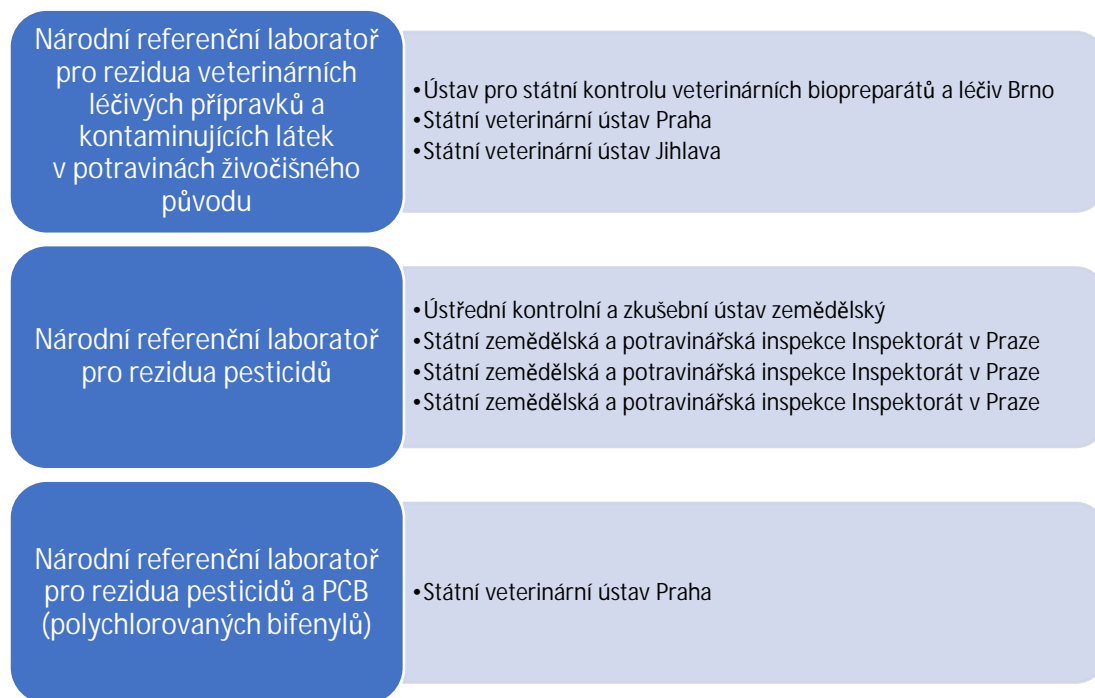
### **1.3 Kontrola reziduí v České republice**

Vzhledem k tomu, že se pesticidy mohou dostávat do potravinového řetězce, a tedy i do mléka, je nutná pravidelná kontrola. Program "Monitoring cizorodých látek" zahrnuje sledování cizorodých látek v celém potravním řetězci, nejen v potravinách, ale i v surovinách. Každoroční sledování přináší ucelený pohled na zatížení agrárního a potravinářského sektoru jednotlivými kontaminanty. Monitorování je pro ČR závazné a vychází z každoročních doporučení Evropské Komise k získání srovnatelných dat v daných oblastech, která slouží buď k tvorbě hygienických limitů u látek, u nichž limity stanoveny zatím nejsou, nebo k mapování výskytu určitých látek na území EU (Informační centrum bezpečnosti potravin, 2021).

V ČR Státní veterinární inspekce (SVS) vykonává dozor nad zdravím zvířat, nad zdravotní nezávadností potravin živočišného původu a nad ochranou území ČR před zavlečením nebezpečných nákaz (Samková et al., 2020). Státní zemědělská a potravinářská inspekce SZPI zjišťuje obsah pesticidů v potravinách rostlinného původu a krmivech. V souladu s článkem 30 nařízení (ES) č. 396/2005 se členské státy účastní kontrolního programu Společenství s cílem zajistit dodržování s maximálními limity reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu nebo na jejich povrchu (European Food Safety Authority, 2022). V ČR už existuje program

pro roky 2022–2024. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) provádí kontrolu krmiv, povolování ochranných přípravků proti škodlivým organismům a pomocných prostředků na ochranu rostlin a kontroluje jejich uvádění na trh a používání (MZe ČR, 2021).

V ČR Ministerstvo zemědělství na základě nařízení Evropského parlamentu a Rady 2017/625 uveřejňuje seznam národních referenčních laboratoří (obrázek 1.4).



**Obrázek 1.4: Národní referenční laboratoře pro potraviny a krmiva (Zdroj: Informační centrum bezpečnosti potravin, 2021)**

### 1.3.1 Legislativní opatření k výskytu reziduí

Podle nařízení EU (tabulka 1.5) a jiných kontrolních norem a předpisů každý výrobce má za úkol dodržovat všechna pravidla pro bezpečnost a zdravotní nezávadnost potravin.

**Tabulka 1.5: Vybrané evropské předpisy týkající se reziduí antibiotik a pesticidů**

Evropské předpisy	Popis
Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES)	
2019/6	o veterinárních léčivých přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES

Evropské předpisy	Popis
396/2005	o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu
470/2009	stanoví se postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu
1907/2006	o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek
178/2002	stanoví se obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin
853/2004	stanoví se zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu
1107/2009	o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh
Nařízení Komise (ES)	
č. 839/2008	mění se nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o přílohy II, III a IV, které stanoví maximální limity reziduí pesticidů v některých produktech a na jejich povrchu.
č. 149/2008	mění se nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 vytvořením příloh II, III a IV, které stanoví maximální limity reziduí u produktů uvedených v příloze I uvedeného nařízení
č. 899/2012	mění se přílohy II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro acefát,alachlor, anilazin, azocyklotin, benfurakarb, butylát, kaptafol, karbaryl, karbofuran, karbosulfan, chlorfenapyr, chlorthal-dimethyl, chlorthiamid, cyhexatin, diazinon, dichlobenil, dikofol, dimethipin, diniconazol, disulfoton, fenitrothion, flufenzin, furathiokarb, hexakonazol, laktofen, mepronil, methamidofos, methopren, monokrotofos, monuron, oxykarboxin, oxydemeton-methyl, parathion-

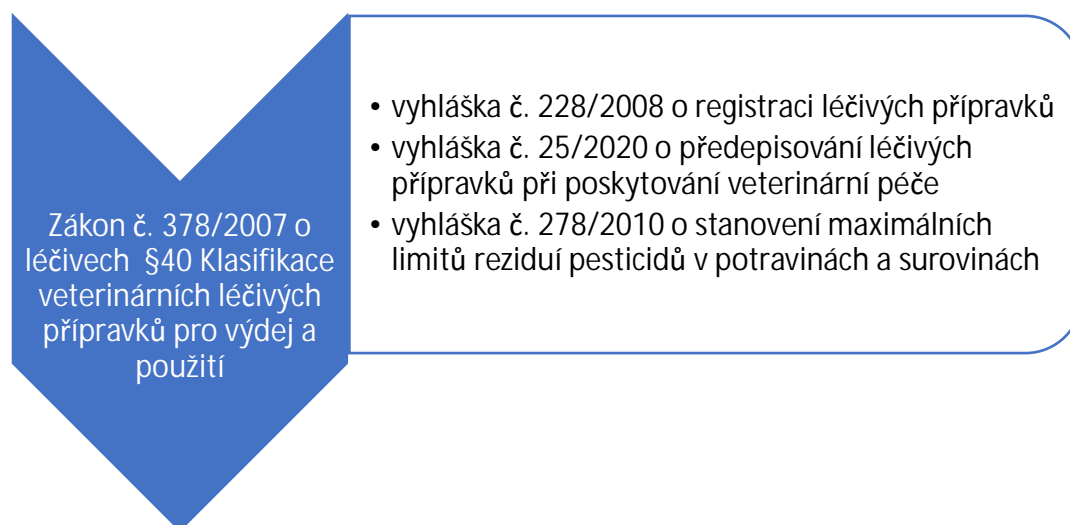


Evropské předpisy	Popis
	methyl, forát, fosalon, procymidon, profenofos, propachlor, quinclorac, kvintozen, tolylfluamid, trichlorfon, tridemorf a trifluralin v některých produktech a na jejich povrchu, a kterým se do uvedeného nařízení doplňuje příloha V s uvedením standardních hodnot
č. 834/2013	mění se přílohy II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro acechinocyl, bixafen, diazinon, difenokonazol, etoxazol, fenhexamid, fludioxonil, isopyrazam, lambda-cyhalothrin, profenofos a prothiokonazol v některých produktech a na jejich povrchu
2016/1866	mění se přílohy II, III a V nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro 3-decen-2-on, acibenzolar-S-methyl a hexachlorbenzen v některých produktech a na jejich povrchu
2017/623	mění se přílohy II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro acechinocyl, amitraz, kumafos, diflufenikan, flumechin, metribuzin, permethrin, pyraklostrobin a streptomycin
2017/978	mění se přílohy II, III a V nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro fluopyram, hexachlorcyklohexan (HCH), $\alpha$ -izomer, hexachlorcyklohexan (HCH), $\beta$ -izomer, hexachlorcyklohexan (HCH), suma izomerů s výjimkou $\gamma$ -izomeru, lindan (hexachlorcyklohexan (HCH), $\gamma$ -izomer), nikotin a profenofos v některých produktech a na jejich povrchu
č. 37/2010	o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu
č. 1662/2006	stanoví se zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu a mění se nařízení č. 853/2004

Zdroj: Evropská Komise (2022); European Union Law (2022).

---

V obrázku 1.5 jsou popsány národní předpisy o veterinárních léčivých přípravcích a pesticidech.



**Obrázek 1.5: Národní legislativa o léčivých přípravcích a pesticidech (Zdroj: Zákony pro lidi, 2022)**

Ve výše uvedených předpisech jsou uvedeny limity pro kontaminující látky. Ne všechna léčiva a pesticidy mají stanoveny maximální limity reziduí (MRL). Pro léčiva jsou též stanoveny ochranné lhůty, což je předem stanovená doba, která musí uplynout mezi ukončením podáváním léčiva a svoz mléka, aby rezidua v těchto potravinách klesla na hladinu neohrožující zdraví konzumenta ( $\leq$  MRL) (Velíšek, 2002).

### 1.3.2 Maximální limity reziduí

Maximálními limity reziduí (MRL) se rozumějí horní přípustné limity koncentrace reziduí farmakologicky účinných látek a pesticidů v potravinách nebo krmivech nebo na jejich povrchu. Jsou obvykle vyjádřené v mg/kg nebo  $\mu$ g/kg.

Pro farmakologicky účinné látky v potravinách živočišného původu stanovuje postupy pro stanovení MRL Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009. Látky, pro které je MRL stanoven, jsou uvedeny v příloze k nařízení Komise 37/2010 spolu s příslušnými hodnotami MRL specifikovanými pro jednotlivé farmakologicky aktivní látky, pro cílové druhy zvířat, resp. pro příslušné tkáně potravinových zvířat nebo produkty z nich.

Limity jsou výsledkem toxikologických a epidemiologických studií. Zahrnují takové bezpečnostní faktory, aby potraviny obsahující toxickou látku mohly být konzumovány denně po celý život bez prokazatelných negativních účinků (Velíšek, 2002).

Porovnání MRL pro vybrané druhy ATB, tak jak je stanovilo několik regulačních agentur celého světa, jsou uvedeny v tabulce 1.6.

**Tabulka 1.6: Porovnání hodnot MRL (maximální limity reziduí) pro vybrané druhy antibiotik v mléce v různých zemích**

Skupina	ATB	MRL (µg/kg)				
		ANVISA	EC	JFCRF	MAPRC	FAO/ FDA
Aminoglykosidy	kanamycin	150	150	700	nz	nz
	streptomycin	200	200	200	200	200
Chloramfenikoly	chloramfenikol	np	np	np	np	np
	thiamfenikol	nd	50	nd	50	nd
β-laktamy	amoxicillin	4	4	4	10	4
	penicillin G	4	4	4	4	4
	kloxacillin	30	30	20	30	10
Sulfonamidy	sulfadiazin	100	100	70	100	10
	sulfatiazol	100	100	90	100	10
Tetracykliny	tetracyklin	100	100	100	100	100
	oxytetracyklin	100	100	100	100	100

Zdroj: Vinícius de Faria, et al. (2021).

*np = nepovolená, nd = nedoporučená, nz = není zmíněná, ATB = antibiotika, ANVISA (Brazílie), EC = Evropská Komise, JFCRF (Japonsko), MAPRC (Čínská lidová republika), FAO/FDA = Organizace Spojených národů pro výživu a zemědělství/Úřad pro kontrolu potravin a léčiv.*

MRL pro pesticidy v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu stanovuje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 a nařízení Komise (ES) č. 839/2008. Příklady hodnot MRL pro některé pesticidy jsou uvedeny v tabulce 1.7.

**Tabulka 1.7: Maximální limity reziduí (MRL) vybraných pesticidů v mléce**

<b>Pesticid</b>	<b>MRL (mg/kg)</b>	<b>Pesticid</b>	<b>MRL (mg/kg)</b>
Cypermethrin	0,05	HCH	0,01
Deltamethrin	0,05	Lindan	0,01
Permethrin	0,05	Diazinon	0,02
Chlordan	0,002	Forát	0,01
DDT	0,04	Pirimifosmethyl	0,01
HCB	0,005	Aldrin	0,006
Heptachlor	0,004	Cyromazin	0,01

*DDT = dichlordifenytrichloretan, HCB = hexachlorbenzen, HCH = hexachlorcyklohexan*

*Zdroj: Evropská Komise-databáze Evropské Komise o pesticidech (2022)*

MRL léčivých přípravků nejsou jediným kritériem bezpečnosti potravin. Jsou stanoveny rovněž ochranné lhůty (OL) po používání ATB pro zajištění, aby škodlivá rezidua uvedených léčivých přípravků nevstoupila do potravinového řetězce.

### **1.3.3 Ochranné lhůty**

Ochranná lhůta (OL) je minimální doba mezi posledním podáním veterinárního léčivého přípravku zvířeti a produkcí potravin z tohoto zvířete, která je za běžných podmínek použití nezbytná k tomu, aby bylo zajištěno, že tyto potraviny nebudou obsahovat rezidua v množstvích, která ohrožují veřejné zdraví (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6).

Podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (2019/6) odpovědnost za stanovení OL stanoví veterinární lékař. V případě zvířat určených k produkci potravin by veterinární lékaři měli zajistit, aby byla předepsána odpovídající OL tak, aby škodlivá rezidua uvedených léčivých přípravků nevstoupila do potravinového řetězce, přičemž obzvláště obezřetně je nutno postupovat v případech, kdy jsou podávána antimikrobika.

V případě mléka ze zvířat, která produkují mléko pro lidskou spotřebu, nesmí být OL kratší než:

- nejdelší OL stanovená pro mléko v souhrnu údajů o přípravku pro jakýkoli druh zvířete vynásobená koeficientem 1,5;

- 
- sedm dnů, pokud léčivý přípravek není registrován pro zvířata, která produkují mléko pro lidskou spotřebu
  - jeden den, pokud je ochranná lhůta léčivého přípravku nulová.

Dodržování OL má vysoký význam pro dodržování kvality mléka a jeho zdravotní nezávadnost.

#### **1.4 Moderní metody stanovení RIL**

Vzhledem k tomu, že přítomnost RIL v mléce má zdravotní a technologická rizika, byl popsán čtyřstupňový systém kontroly mléka (Zajác, 2016):

1. První stupeň kontroly je prováděn na farmách prostřednictvím screeningových rychlostestů farmářem nebo řidičem cisterny.
2. Druhý stupeň kontroly se provádí v laboratořích mlékáren, které jsou vybaveny různými druhy selektivních nebo širokospektrálních testů.
3. Třetí stupeň kontroly mléka na přítomnost RIL jsou národní referenční laboratoře (blíže kapitola 1.3), které využívají pro analýzy kapalinovou a plynovou chromatografii.
4. Poslední stupeň kontroly mléka na přítomnost RIL je monitoring dozorových orgánů, zejména Státní veterinární správy, která každý rok vypracovává plán kontroly reziduí kontaminujících látek u zvířat a produktů živočišného původu.

##### **1.4.1 Metody stanovení reziduí antibiotik**

K detekci a stanovení RIL se využívají různé metody. Nejpoužívanější metody stanovení RIL jsou uvedeny v diplomové práci Střelečkové (2014). Jsou to:

- screeningové širokospektrální rychlotesty – Eclipse 50 a 100, Delvotest® SP-NT (destičky a ampule), Kalidos MP TB test
- screeningové selektivní rychlotesty – Twinsensor, Charm ROSA Test
- screeningové mikrobiologické plotnové metody – STAR metoda
- fyzikálně-chemické metody – gelová elektroforéza, radioimunoanalýza (RIA) - CHARM II, chromatografie kapalinová (LC) a plynová (GC)
- imunoenzymatické metody – ELISA testy

Rychlé screeningové testy jsou metody kvalitativní. Výsledek stanovení poskytuje informaci o přítomnosti/ nepřítomnosti dané látky nebo skupiny látek ve vzorku v závislosti na hladině citlivosti testu. Citlivost testů je udávána výrobcem. Výhodou testů je jednoduché provedení a rychlost stanovení (1-10 min.) (Navrátilová, 2016).

Širokospektrální rychlotesty (tabulka 1.8) jsou obecně založeny na detekci inhibice růstu citlivých bakteriálních kmenů. Většina testů využívá jako testovací mikroorganismus *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, který je vynikajícím testovacím mikroorganismem pro své vlastnosti, z nichž nejvýznamnější je schopnost rychlého růstu při zvýšených teplotách (64 °C) a vysoká citlivost ke skupině  $\beta$ -laktamových ATB. Širokospektrální rychlotesty mají výhodu časové a finanční nenáročnosti, nevýhodou však mohou být falešně pozitivní výsledky. Podle výrobce je Delvotest® SP-NT určený k vyšetření syrového kravského mléka, Eclipse 50 nebo 100 a Kalidos jsou určeny k testování kravského, kozího a ovčího mléka (Navrátilová et al., 2013).

**Tabulka 1.8: Detekční limity širokospektrálních rychlotestů k vybraným léčivým přípravkům vzhledem ke stanoveným MRL**

<b>Antibiotikum</b>	<b>MRL</b>	<b>Delvotest SP-NT</b>	<b>Eclipse 50</b>	<b>Eclipse 100</b>	<b>Kalidos MP</b>	<b>Kalidos TB</b>
Penicilin	4	3	3-4	3	2-4	2-4
Ampicilin	4	3	4-5	4	3-4	3-4
Cloxacilin	30	16	35	30	15-40	15-40
Cefalonium	20	8	20	20	neuveďeno	neuveďeno
Tetracyklin	100	700	100	100	100-200	100-200
Oxytetracyklin	100	680	100	100	100-200	100-200
Sulfadiazin	100	170	100	100	25-100	25-100
Neomycin	1500	340	1500	400	neuveďeno	neuveďeno
Streptomycin	200	1800	1500	400	400-800	400-800
Erytromycin	40	180	400-800	200	neuveďeno	neuveďeno

*Zdroj: Navrátilová et al. (2013).*

Selektivní rychlotesty (tabulka 1.9) jsou určeny k detekci jedné nebo více skupin léčiv. Příkladem selektivního rychlotestu je Twinsensor BT (Unisensor S.A., Belgium), který detekuje přítomnost  $\beta$ -laktamových a tetracyklinových ATB.

**Tabulka 1.9: Seznam vybraných selektivních rychlostestů**

Název testu	Druhy detekovaných léčiv
Twinsensor BT	tetracyklinová + $\beta$ -laktamová ATB spolu s cefalosporiny
Quinosensor	norfloxacin, enrofloxacin, danofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, sarofloxacin, ciprofloxacin, flumequin
Trisensor	tetracyklinová + $\beta$ -laktamová ATB spolu s cefalosporiny + sulfonamidy
Betaxpress	$\beta$ -laktamová ATB
Twinexpress BT	tetracyklinová + $\beta$ -laktamová ATB spolu s cefalosporiny + sulfonamidy
MRL BL/TET Test	tetracyklinová + $\beta$ -laktamová ATB spolu s cefalosporiny

Zdroj: Hanuš et al. (2012).

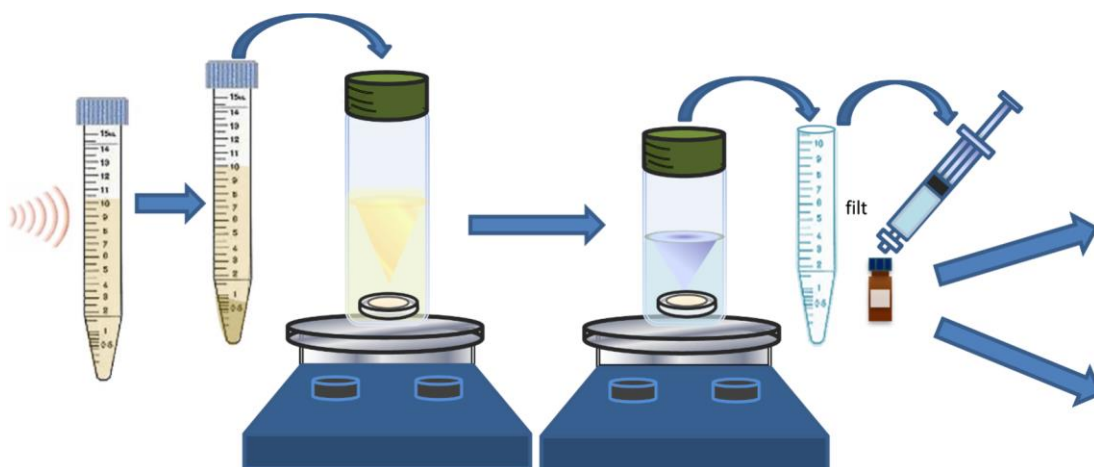
Mikrobiologické plotnové metody jsou standardizované metody, které detekují anti-bakteriální látky za použití citlivých bakteriálních kmenů. Principem testu je agarová difuze na plotnách a posouzení růstu testovacího kmene. Difuze antimikrobiální látky se ukáže formou tvorby zón inhibice růstu testovacího kmene na jednotlivých plotnách. Kalibrovaným měřidlem se měří velikost inhibiční zóny. Tyto metody jsou vhodné pro detekci antimikrobiálních látek a jejich skupinovou identifikaci. V České republice se používá tzv. „Metoda šesti ploten“ (tabulka 1.10).

**Tabulka 1.10: Metoda šesti ploten**

Testovací kmen	pH půdy	Kultivace (°C)	Druhy detekovaných léčiv
<i>Bacillus subtilis</i> BGA	6,0	30	tetracyklinová ATB
<i>Bacillus subtilis</i> BGA	8,0	30	aminoglykosidová ATB
<i>Kocuria rhizophila</i>	8,0	37	makrolidová + $\beta$ -laktamová ATB
<i>Bacillus subtilis</i> BGA+TMP	7,2	30	sulfonamidy + tetracyklinová ATB
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> v.c.	8,0	64	$\beta$ -laktamová + aminoglykosidová ATB
<i>Escherichia coli</i>	8,0	37	chinolony

Zdroj: Hanuš et al. (2012).

Nejpřesnější metody pro detekce RIL (kvantitativní) jsou fyzikálně-chemické metody (tabulka 1.11), které se stále modernizují. Např. Castillo-Aguirre et al. (2021) popsal stanovení ATB v kravském mléce pomocí sorpční extrakce na rotačním disku a kapalinové chromatografie. Metoda spočívá v aplikaci sorpční látky s rotujícím diskem extrakce (RDSE). RDSE už byla používána pro testování moči a krevní plazmy, a podle autorů ji lze využít i v mléce. Konečné stanovení analytů bylo provedeno za použití kapalinové chromatografie s detekcí v UV nebo viditelné oblasti (HPLC-DAD) či s hmotnostní detekcí (UPLC-TOF / MS) (obrázek 1.6).



Obrázek 1.6: Metoda stanovení reziduí antibiotik pomocí sorpční extrakce na rotačním disku (Castillo-Aguirre et al., 2021)

Tabulka 1.11: Vybrané fyzikálně-chemické a jiné moderní metody stanovení RIL v mléce

Metoda	Antibiotikum	Koncentrace (µg/kg)	Zdroj
Gelová elektroforéza			
CE-DAD	sulfonamidy	4,1-6,1	Semail et al., 2022
Radioimunoanalýza			
CHARM Blue Yellow	penicilin	1-2	Wu et al., 2019
	ampicilin	2-3	
	cloxacilin	10-20	
	tetracyklin	75-100	
	sulfadiazin	75-100	
	neomycin	75-150	
	tylosin	20-30	



Metoda	Antibiotikum	Koncentrace (µg/kg)	Zdroj
Kapalinová chromatografie			
HPLC	makrolidové endektocidy	0,03-0,05	Macedo et al., 2015
LC-HRMS	tetracykliny makrolidy chinolony β-laktamy sulfonamidy	0,10-0,15 0,12-0,90 0,20-0,33 0,22-5,11 0,22-0,25	Chiesa et al., 2020
LC-MS/MS	peniciliny, sulfona- midy, aminoglyko- sidy, cefalosporiny a tetracykliny	0,02-58	László et al., 2018
RDSE+ HPLC-DAD	oxytetracyklin, en- rofloxacin, ciprof- loxacin, sulfadoxin, trimethoprim	50-300	Castillo-Aguirre et al., 2021
UPLC – TOF/MS	trimethoprim, cipro- floxacin, enrofloxa- cin	5-50	Castillo-Aguirre et al., 2021
UPLC-MS/MS	ampicilin gentamicin oxytetracyklin tylosin sulfadiazin	2,3-6,5 20-270 25-300 15-95 25-110	Wu et al., 2019
UHPLC-Q-Orbitrap HRMS	ampicilin chloramfenikoly	0,390 0,049	Izzo et al., 2022
Plynový chromatografie			
GC-MS	peniciliny	3-10	Meetschen, a Petz, 1991
Elektrochemické metody			

Metoda	Antibiotikum	Koncentrace (µg/kg)	Zdroj
voltametrie médiích SDS/acetát	penicilin	2,5-20	Sila et al., 2021
Imunoenzymatická metoda			
ELISA	peniciliny tetracykliny	4 1,8	Kabrite et al., 2019

Podle autorů Sachi et al. (2019) jsou nejčastěji popsány metodiky detekce reziduí ATB v mléce chromatografickými metodami a nejvíce byla zkoumaná β-laktamová ATB – penicilin a cefalosporin.

#### 1.4.2 Metody stanovení reziduí pesticidů

Existují dvě metody analýzy pesticidů: multi-reziduální a metody pro jednotlivé sloučeniny (chlórečnany, ethylenoxid, glyfosát, dithiokarbamáty, fosfonové kyseliny, ethephon a další). Podle metody přípravy vzorků multi-reziduální metoda se dělí na QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged, Safe) a S19. Metoda QuEChERS byla vyvinuta v roce 2003 pro rezidua veterinárních léčiv. Doposud se touto metodou analyzují vzorky rostlinného původu, pro vzorky živočišného původu se používá postup S19, ale je snaha převést všechny analýzy na metodu QuEChERS (eurofins, 2022). Vzhledem k tomu, že metoda QuEChERS není pro mléko zatím vhodná, používá se systém GDME (Lobato et al., 2021), kde se hodnotí objem extrakčního činidla, čas extrakce a teplota extrakce pesticidů z potravin živočišného původu.

Na analýzách reziduí pesticidů v ČR se podílejí tyto laboratoře (SVS ČR, 2020):

- ✓ Státní veterinární ústav Praha,
- ✓ Inspektorát Státní zemědělské a potravinářské inspekce v Praze,
- ✓ Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Národní referenční laboratoř,
- ✓ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

V tabulce 1.12 jsou uvedeny moderní metody analýzy reziduí pesticidů v mléce.

Tabulka 1.12: Moderní metody detekce reziduí pesticidů v mléce

Metoda	Překlad	Druh pesticidů	Koncentrace (µg/kg)	Zdroj
<b>Plynová chromatografie</b>				
GC-ECD	GC s elektrochemickým detektorem	alfa, gama-HCH beta-HCH HCB heptachlor chlorpyrifos aldrin dieldrin DDT	0,00015 0,0009 0,00015 0,00015 0,0003 0,00015 0,00015 0,0009	Ramezani et al., 2022
GC-FPD*	GC s plamenovým fotometrickým detektorem	organochlorové	0,009-2,66 ng/ml	Naksen et al., 2016
GC-MS/MS	GC s hmotnostním detektorem	organochlorové	0,011-0,034	Anwarul Hasan et al. 2022
GDME s GC-ECD a GC-MS	plynová difúzní mikroextrakce s GC s detektorem elektronového záchytu a hmotnostní spektrometrií	alfa-HCH HCB beta-HCH lindan aldrin alfa-endosulfan DDE dieldrin	4,6 3,7 4,1 4,1 4,8 4,1 4,3 4,8	Lobato et al., 2021
<b>Kapalinová chromatografie</b>				
HPLC-MS/MS	kapalinová chromatografie s hmotnostním detektorem (triplequadropole)	dimetoat imidakloprid pirimikarb karbaryl fenitrothion hexythiazox	0,22 0,13 0,17 0,26 0,27 0,18	Nemati et al., 2022

<b>Metoda</b>	<b>Překlad</b>	<b>Druh pesticidů</b>	<b>Koncentrace (µg/kg)</b>	<b>Zdroj</b>
		fosalon	0,09	
UHPLC- MS/MS	UHPLC s hmot- nostním detekto- rem	diazinon pirimifosmethyl malation karbofuran	0,0003 0,0009 0,0015 0,0003	Ramezani et al., 2022
UHPLC-Q- Orbitrap HRMS	UHPLC s hmot- nostním detekto- rem	cypermethrin, deltamethrin cyhalothrin	0,390 0,195 0,390	Izzo et al., 2022

GC = plynová chromatografie, (U)HPLC = (ultra)vysokoúčinná kapalinová chroma-  
tografie, \*mateřské mléko

V ČR monitoring výskytu reziduí pesticidů v potravinách živočišného původu provádí  
Státní veterinární správa (SVS).

---

## 2 Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo sledování vybraných ukazatelů kvality mléka včetně RIL v mléce dojnic a posouzení metod jejich stanovení. Součástí práce byla analýza vybraných faktorů, které na tyto ukazatele působí.

Práce byla obohacena o vyhodnocení monitoringu pesticidů v České republice v období let 2006 až 2020.

Diplomová práce byla vypracována v rámci projektů:

- 1) QJ21010326: Možnosti ovlivňování výskytu inhibičních látek v mléce jako účinný nástroj vedoucí k podpoře zdraví zvířat a ke zvyšování kvality a bezpečnosti potravin;
- 2) GA JU 005/2022/Z One Health: genetické, environmentální a technologické faktory ovlivňující živočišnou produkci, kvalitu a bezpečnost potravin a zdraví zvířat a člověka.

---

### **3 Materiál a metodika**

Následující pasáž **Materiál a metodika** o rozsahu 7 stran je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.

---

## 4 Výsledky a diskuse

Následující pasáž **Výsledky a diskuse** o rozsahu 23 strany je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.

---

## **Závěr**

Následující pasáž **Závěr** o rozsahu 1 strany je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.



---

## Seznam použité literatury

1. ALS, (2015). *ALS pesticidy*. [online] [cit. 01. 03. 2022]. Dostupné z: <https://www.alsglobal.cz/media-cz/pdf/pesticidy-2015.pdf>
2. Anwarul Hasan, G.M.M. (2022). Multi residue analysis of organochlorine pesticides in fish, milk, egg and their feed by GC-MS/MS and their impact assessment on consumers health in Bangladesh. *NFS Journal*, 27:28-35
3. Asif Hebbal, M. et al. (2020). Occurrence of oxytetracycline residues in milk samples from Palakkad, Kerala, India. *Veet World*, 13(6): 1056-1064
4. Ball, J. et al. (2019). Comparison of treatment protocols for bovine respiratory disease in high-risk, newly received beef calves. *Applied Animal Science*, 35(3): 278-283
5. Informační centrum bezpečnosti potravin (2020). *DDT*. [online] [cit. 12. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76658.aspx>
6. Informační centrum bezpečnosti potravin (2021). *Monitoring cizorodých látek*. [online] [cit. 14. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/monitoring-cizorodych-latek.aspx>
7. Briyne, N. et al. (2014). Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Veterinary Record*, [online] [cit. 12. 04. 2022]. Dostupné z: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1136/vr.102462?src=getft>
8. Cabizza, R. et al. (2017). Transfer of oxytetracycline from ovine spiked milk to whey and cheese. *International Dairy Journal*, 70:12-17
9. Castillo-Aguirre, A. et al. (2021). Determination of veterinary antibiotics in cow milk using rotating-disk sorptive extraction and liquid chromatography. *Microchemical Journal*, 162:105851
10. Coetzee, J. et al. (2020). Association between antimicrobial drug class selection for treatment and retreatment of bovine respiratory disease and health, performance, and carcass quality outcomes in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 98(4):109

- 
11. Crispie, F. et al. (2004). Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal – a review. *Irish Veterinary Journal*, 57(7): 412-418
  12. ČCN – České cechovní normy (2022). *Syrové kravské mléko*. [online] [cit. 18. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.cechovninormy.cz/index.php/cechovni-normy/104-syrove-kravske-mleko>
  13. ČMSCH, (2022). *Výsledky kvality nakupovaného mléka v roce 2021*. [online] [cit. 23. 03. 2022]. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/novinky/vysledky-kvality-nakupovaneho-mleka-v-roce-2021-po/>
  14. Dobšíková, R. et al. (2012) *Farmakologie v produkci potravin*. Brno: VFU. ISBN 978-80-7305-616-2.
  15. Du, B. et al. (2019). Presence of tetracyclines, quinolones, lincomycin and streptomycin in milk. *Food Control*, 100(2): 171–175
  16. Duan, J. et al. (2018). Residue behavior of organochlorine pesticides during the production process of yogurt and cheese. *Food Chemistry*, 245(15):119-124
  17. European Union Law (2022). [online] [cit. 17. 04. 2022]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html>
  18. eurofins (2022). *Analytické metody pro stanovení pesticidů v ovoci a zelenině*. [online] [cit. 18. 04. 2022]. Dostupné z: [https://cdnmedia.eurofins.com/european-east/media/2859120/eurofins\\_analytick%C3%A9-metody-pro-stanoven%C3%AD-pesticid%C5%AF-v-ovoci-a-zelenin%C4%9B\\_1-9-2021.pdf](https://cdnmedia.eurofins.com/european-east/media/2859120/eurofins_analytick%C3%A9-metody-pro-stanoven%C3%AD-pesticid%C5%AF-v-ovoci-a-zelenin%C4%9B_1-9-2021.pdf)
  19. European Food Safety Authority (2020). The 2018 European Union report on pesticide residues in food. [online] [cit. 30. 03. 2022]. Dostupné z: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6057>
  20. European Food Safety Authority (2022). The 2020 European Union report on pesticide residues in food. [online] [cit. 14. 04. 2022]. Dostupné z: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2022.7215>
  21. European Medicines Agency (2008). *Committee for veterinary medicinal products. Penicillins. Summary report*. [online] [cit. 11. 04. 2022]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/penicillins-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/penicillins-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf)

- 
22. Evropská Komise (2022). *Databáze Evropské Komise o pesticidech (v 2.2)*. [online] [cit. 13. 03. 2022]. Dostupné z: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=search.pr>
23. Evropský Parlament (2021). *Chemické látky a pesticidy*. [online] [cit. 27. 02. 2022]. Dostupné z: <https://www.europarl.europa.eu/factsheets/cs/sheet/78/chemicke-latky-a-pesticity>
24. Gannon, N. et al. (1959). Insecticide residues in the milk of dairy cows fed insecticides in their daily ration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, [online] [cit. 28. 03. 2022]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60106a003>
25. Guo, H.-M. (2020). The potential risks of paclobutrazol residue on yogurt fermentation from the level of chiral enantiomers. *Journal of Dairy Science*, 103(9):7682-7694
26. Fernandes, L. et al. (2021). Effect of subclinical mastitis detected in the first month of lactation on somatic cell count linear scores, milk yield, fertility, and culling of dairy cows in certified organic herds. *Journal of Dairy Science*, 104(2):2140-2150
27. Hanuš, O. et al. (2012). Kontrola jakosti mléka. In: Samková, E. a kol. *Mléko: produkce a kvalita*. První vydání, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, pp.178-203. ISBN 978-80-7394-383-7
28. Hasoňová, L. et al. (2019). Výskyt DDT v syrovém mléce v období 2005-2018. *Mlékařské listy*, 174(3); 9-11
29. Hasoňová, L. et al. (2022). Vybrané parametry kvality syrového mléka lčených dojnic v ochranné lhůtě a po jejím ukončení. *Mlékařské listy*, 33(1):9-11
30. Honkanen-Buzalski, T. a Suhren, G. (1999): Residues of antimicrobial agents in milk and their significance to public health and milk processing. *International Dairy Federation, Bulletin* 345: 11–12.
31. Chiesa, L. et al. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *LWT (Food Science and Technology)*, 131:109783
-

- 
32. IUPAC-International Union of pure and applied chemistry (2010). History of pesticide use. [online] [cit. 28. 03. 2022]. Dostupné z: [https://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com\\_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=31](https://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=31)
33. Izzo, L. et al. (2022). Multiclass and multi-residue screening of mycotoxins, pharmacologically active substances, and pesticides in infant milk formulas through ultra-high-performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry analysis. *Journal of Dairy Science*, 105(4): 2948-2962
34. Janštová, B. et al. (2012). Technologie mléka a mléčných výrobků. [online] [cit. 26. 03. 2022]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/Technologie-ml%C3%A9ka-a-ml%C3%A9%C4%8Dn%C3%BDch-v%C3%BDrobk%C5%AF.pdf>
35. Jelínková, S. (2017). Mastitidy – nejnákladnější onemocnění. *Zemědělský týdeník + Poľnohospodársky týždenník*, 50: 12-13
36. Kabrite, S. et al. (2019). Identification and dietary exposure assessment of tetracycline and penicillin residues in fluid milk, yogurt, and labneh: A cross-sectional study in Lebanon. *Veterinary World*, 12(4):527-534
37. Kalač, P. (2003). *Funkční potraviny. Kroky ke zdraví*. Dona, České Budějovice. ISBN 80-7322-029-6
38. Komise evropských společenství (2006). Pesticides monitoring report 2006. [online] [cit. 30. 03. 2022]. Dostupné z: [http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide\\_residues/report\\_2006\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide_residues/report_2006_en.pdf)
39. Kopáček, J. (2020) Vady sýrů a faktory, které je ovlivňují. *Workshop v rámci projektu QK1710156 s finanční podporou MZe / NAZV v programu ZEMĚ*. [online] [cit. 01. 03. 2022]. Dostupné z: [https://www.vumlekarensky.cz/upload/soubory/pdf/Kopacek\\_Vady\\_syru.pdf](https://www.vumlekarensky.cz/upload/soubory/pdf/Kopacek_Vady_syru.pdf)
40. Kubišová, J. (2008). *Charakteristika organofosforových látek v rámci všech pesticidů*. Rigorózní práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
-

- 
41. László, N. et al. (2018). LC-MS study of the heat degradation of veterinary antibiotics in raw milk after boiling. *Food Chemistry*, 267:178-186
42. Lobato, A. et al. (2021). Organochlorine pesticide analysis in milk by gas-diffusion microextraction with gas chromatography-electron capture detection and confirmation by mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1636:461797
43. MacDiarmid, S. C. (2011). Antibacterial drugs used against mastitis in cattle by the systemic route. *New Zealand Veterinary Journal*, 26(12): 290-295
44. Macedo, F. et al. (2015). Short communication: Macrocyclic lactone residues in butter from Brazilian markets. *Journal of Dairy Science*, 98(6):3695-3700
45. Martin, M.J. et al. (2015). Antibiotics Overuse in Animal Agriculture: A Call to Action for Health Care Providers. *American Journal of Public Health*, 105(12): 2409–2410
46. Meetschen, U. a Petz, M. (1991). Gas chromatographic method for the analysis of residues of seven penicillins in food of animal origin. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 193(4): 337-343
47. Mokh, S. et al. (2020). Antimicrobial residues survey by LC-MS in foodproducing animals in Lebanon. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 13(2): 121–129
48. Moradi, M. et al. (2021). The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: A review. *International Dairy Journal*, 113:104884
49. MZe ČR-Ministerstvo zemědělství České republiky (2016). *Zpřesnění pravidel certifikace produktů v režimu jakosti Q1 u producentů a zpracovatelů zemědělských produktů*. [online] [cit. 23. 03. 2022]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/legislativa/vestniky-mze/obsah\\_cz\\_mze\\_ministerstvo-zemedelstvi\\_legislativa\\_vestniky-mze\\_vestnik-mze-2016-1.html](https://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/legislativa/vestniky-mze/obsah_cz_mze_ministerstvo-zemedelstvi_legislativa_vestniky-mze_vestnik-mze-2016-1.html)
50. MZe ČR-Ministerstvo zemědělství České republiky (2021). *Víceletý kontrolní plán pro rezidua pesticidů 2022-2024*. [online] [cit. 14. 04. 2022]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/file/633130/Vicelety\\_kontrolni\\_plan\\_pro\\_rezidua\\_pesticidu\\_2022\\_2024\\_final\\_Mze.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/633130/Vicelety_kontrolni_plan_pro_rezidua_pesticidu_2022_2024_final_Mze.pdf)
-

- 
51. Naksen, W. et al. (2016). A single method for detecting 11 organophosphate pesticides in human plasma and breastmilk using GC-FPD. *Journal of Chromatography B*, 1025:92-104
52. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady jsou dostupné na webové stránce <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html>
53. Navrátilová, P. (2002). Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. *Veterinářství*, 52: 478–481.
54. Navrátilová, P. (2008). Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk – a review. *Czech Journal of Food Science*, 26: 393–401.
55. Navrátilová, P. et al. (2013). Širokospektrální testy schválené v ČR pro stanovení RIL v syrovém kravském mléce. *Mlékařské listy*, 140:1-3
56. Navrátilová, P. et al. (2016). Rychlé specifické testy pro kontrolu přítomnosti reziduí inhibičních látek v mléce. *Mlékařské listy*, 27(2):14-17
57. Nemati, M. et al. (2022). Development of dispersive solid-liquid extraction method based on organic polymers followed by deep eutectic solvents elution; application in extraction of some pesticides from milk samples prior to their determination by HPLC-MS/MS. *Analytica Chimica Acta*, 1199:339570
58. Nielsen, C. et al. (2010). Economic consequences of mastitis and withdrawal of milk with high somatic cell count in Swedish dairy herds. *The Animal Consortium*, 4(10): 1758-1770
59. Niemi, R. E. et al. (2020). Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. *Preventive Veterinary Medicine*, 180:105028
60. Niemi, R. E. et al. (2022). Selective dry cow therapy effect on milk yield and somatic cell count: A retrospective cohort study. *Journal of Dairy Science*, 105(2): 1387-1401
61. Novés, B. et al. (2015). Technological failures caused by cephalixin in set-type sheep's milk yogurt, *CyTA - Journal of Food*, 13:3, 408-414

- 
62. Owens, W. E. et al. (1988). Antibiotic Treatment of Mastitis: Comparison of Intramammary and Intramammary Plus Intramuscular Therapies. *Journal of Dairy Science*, 71(11): 3143-3147
63. Parkinson, T. et al. (2011). Comparative efficacy of three dry-cow antibiotic formulations in spring – calving New Zealand dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal*, 48(5): 129-135
64. Pengov, A. a Kirbis, A. (2009). Risks of antibiotic residues in milk following intramammary and intramuscular treatments in dairy sheep. *Analytica Chimica Acta*, 637(1):13-17
65. PPDB- Pesticide Properties Database (2022). [online] [cit. 15. 04. 2022]. Dostupné z: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/search.htm>
66. Quintanilla, P. et al. (2018). Antibiotic residues in milk and cheeses after the off-label use of macrolides in dairy goats. *Small Ruminant Research*, 167: 55-60
67. Quintanilla, P. et al. (2020). Impact of the presence of oxytetracycline residues in milk destined for the elaboration of dairy products: The specific case of mature goat cheese. *International Dairy Journal*, 101: 104595
68. Quintanilla, P. et al. (2021). Enrofloxacin treatment on dairy goats: Presence of antibiotic in milk and impact of residue on technological process and characteristics of mature cheese. *Food Control*, 123: 107762
69. Ramezani, A. et al. (2022). Determination of multi-class pesticides residues of cow and human milk samples from Iran using UHPLC-MS/MS and GC-ECD: A probabilistic health risk assessment. *Environmental Reasearch*, 208:112730
70. RASFF (2021). RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed. [online] [cit. 29. 03. 2022]. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/food/safety/rasff-food-and-feed-safety-alerts\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/rasff-food-and-feed-safety-alerts_en)
71. Rêgo, I. et al. (2019). Organochlorine pesticides residues in commercial milk: a systematic review. *Acta Agronómica*, 68(2):99-107
72. Reyes, J. et al. (2015). Evaluation of the efficacy of intramuscular versus intramammary treatment of subclinical *Streptococcus agalactiae* mastitis in dairy cows in Colombia. *Journal of Dairy Science*, 98(8): 5294-5303

- 
73. Sachi, S. et al. (2019). Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(3): 315–332
74. Samková, E. et al. (2012). *Mléko: produkce a kvalita*. Vědecká monografie. České Budějovice: ZF JU. ISBN 978-80-7394-383-7
75. Samková, E. et al. (2020). *Kvalita vybraných zemědělských produktů*. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích: Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-840-5
76. Sana, S. et al. (2021). Spatial trends and human health risks of organochlorinated pesticides from bovine milk; a case study from a developing country, Pakistan. *Chemosphere*, 276:130110
77. Semail, N.-H. et al. (2022). Simultaneous preconcentration and determination of sulfonamide antibiotics in milk and yoghurt by dynamic pH junction focusing coupled with capillary electrophoresis. *Talanta*, 236:122833
78. Sharma, N. et al. (2011): Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24:429–438
79. Sila, J. M. et al. (2021). Electrochemical Determination of Penicillin G in Cow Milk and pharmaceuticals in SDS/Acetate buffer. *International Journal of Electrochemical Science*, 16:210444
80. Směrnice Rady 86/363/EHS ze dne 24. července 1986 o stanovení maximálních limitů reziduí pesticidů v potravinách živočišného původu a na jejich povrchu (Úř. věst. L 221, 7.8.1986, s. 43). [online] [cit. 29. 04. 2022]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1986L0363:20080314:CS:PDF>
81. SOP 02: Detekce reziduí inhibičních látek selektivním rychlotestem (TWINSENSOR BT), Centrální laboratoř MADETA a.s., 2011, 4 s.
82. SOP 03: Detekce reziduí inhibičních látek v mléce a mlékárenských výrobcích komerčními testy dle návodu výrobce ECLIPSE, Centrální laboratoř MADETA a.s., 2012, 5 s.
83. SOP 08: Detekce reziduí inhibičních látek komerčně dodávaným testem (DELVOTEST), Centrální laboratoř MADETA a.s., 2012, 6 s.
-



- 
84. Střelečková, V. (2014). *Stanovení reziduí antibiotik v mléce léčených dojníc*. Diplomová práce. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta
85. SVS ČR (2022). *Státní veterinární správa České republiky. Informační bulletiny Kontaminace potravinového řetězce cizorodými látkami*. [online] [cit. 1. 03. 2022]. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/>
86. SVS ČR (2021). *Výroční zpráva Státní veterinární správy za rok 2020*. [online] [cit. 29. 03. 2022]. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/wp-content/files/dokumenty-a-publikace/Vyrocní-zprava-Statni-veterinarni-spravy-za-rok-2020.pdf>
87. SVS ČR (2020). *Víceletý kontrolní plán pro rezidua pesticidů 2021-2023*. [online] [cit. 18. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/wp-content/files/dokumenty-a-publikace/Vicelety-kontrolni-plan-pro-rezidua-pesticidu-2021-2023.pdf>
88. SZÚ-Státní Zdravotní Ústav (2015). *Rezidua pesticidů v potravinách – zdravotní rizika a aktuální stav*. [online] [cit. 18. 04. 2022]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/rezidua-pesticidu-v-potravinach-zdravotni-rizika-a-aktualni>
89. Tasci, F et al. (2021). Determination of antibiotics and their metabolites in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Food Control*, 127: 108147
90. Technické normy ČSN (2022). [online] [cit. 23. 03. 2022]. Dostupné z: <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-57-0529-570529-210352.html#>
91. ÚSKVBL-Ústav pro Státní Kontrolu Veterinárních Biopreparátů a Léčiv (2019). *Seznam VLP*. [online] [cit. 25. 02. 2022]. Dostupné z: <https://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/registrace-vlp/seznam-vlp>
92. Velíšek, J. (2002). *Chemie potravin 3*. OSSIS, Tábor. ISBN 80-902391-2-9
93. Vinícius de Faria, L. et al. (2021). Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. *Analytica Chimica Acta* 1173:338569
94. Wikiskripta (2021). *Antibiotika*. [online] [cit. 17. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/Antibiotika>
-

- 
95. Wu, Q. et al. (2019). A microbiological inhibition method for the rapid, broad-spectrum, and high-throughput screening of 34 antibiotic residues in milk. 102(12) :10825-10837
96. Zajác, P. et al. (2016). Kontrola inhibičných látok v surovom kravskom mlieku v Slovenskej republike. *Infovet*, 1(23):40-44
97. Zákony pro lidi, 2022. *Sbírka zákonů*. [online] [cit. 23. 04. 2022]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/>
98. Zámotný, L. (2013). *Analýza vybraných jakostních ukazatelů mléka*. Diplomová práce, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

---

## Seznam obrázků

Obrázek 1.1: Strategie omezení toxických látek – nová hierarchie v nakládání s chemikáliemi .....	9
Obrázek 1.2: Rozdělení antibiotik a chemoterapeutik podle účinku na mikroorganismus (Zdroj: Wikiskripta, 2021) .....	13
Obrázek 1.3: Rozdělení pesticidů podle chemického složení .....	19
Obrázek 1.4: Národní referenční laboratoře pro potraviny a krmiva (Zdroj: Informační centrum bezpečnosti potravin, 2021) .....	22
Obrázek 1.5: Národní legislativa o léčivých přípravcích a pesticidech (Zdroj: Zákony pro lidi, 2022).....	25
Obrázek 1.6: Metoda stanovení reziduí antibiotik pomocí sorpční extrakce na rotačním disku (Castillo-Aguirre et al., 2021) .....	31

---

---

## Seznam grafů

Graf 4.1: Vliv skupiny antibiotik použitých při léčbě/zaprahování na vybrané jakostní ukazatele mléka..... **Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.2: Vliv různých faktorů na počet somatických buněk (log PSB); červeně označená vodorovná linka značí limitní hodnotu PSB (tj. 400 tis./ml) dle evropských předpisů; *p*-hladina významnosti ..... **Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.3: Vliv ochranné lhůty (OL) na detekce reziduí inhibičních látek v kravském mléce ..... **Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.4: Podíly vyšetřených a pozitivních vzorků (%) na přítomnost reziduí pesticidů v závislosti na druhu mléka v období 2006-2020 (n=6851).**Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.5: Počty pozitivních vzorků organochlorových pesticidů v mléce kravském, ovčím a kozím v období 2006-2020. HCB = hexachlorbenzen, HCH = hexachlorcyklohexan, DDT = dichlordifenyltrichloreтан**Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.6: Maximální hodnoty (mg/kg) reziduí vybraných pesticidů v období 2016-2020 (modře označené sloupce) a jejich porovnání s MRL Evropských předpisů. HCB = hexachlorbenzen, HCH = hexachlorcyklohexan, 2006 = Směrnice Rady 86/363/EHS, 2008 = Nařízení Komise 839/2008, 2022 = aktuální na rok 2022 hodnoty MRL podle oficiální stránky Evropské Komise**Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.7: Monitoring výskytu reziduí DDT ( $\Sigma$ ) v období 2006-2020 v ČR ..**Ошибка! Закладка не определена.**

Graf 4.8: Monitoring výskytu reziduí hexachlorbenzenu v období 2006-2020 v ČR ..... **Ошибка! Закладка не определена.**

---

---

## Seznam tabulek

Tabulka 1.1: Rozdělení veterinárních léčiv .....	10
Tabulka 1.2: Vliv reziduí inhibičních látek na technologické vlastnosti mléka .....	14
Tabulka 1.3: Klasifikace pesticidů podle biologické účinnosti .....	18
Tabulka 1.4: Seznam povolených a zakázaných pesticidů v ČR a jejich toxicita na lidský organismus .....	20
Tabulka 1.5: Vybrané evropské předpisy týkající se reziduí antibiotik a pesticidů... ..	22
Tabulka 1.6: Porovnání hodnot MRL (maximální limity reziduí) pro vybrané druhy antibiotik v mléce v různých zemích .....	26
Tabulka 1.7: Maximální limity reziduí (MRL) vybraných pesticidů v mléce .....	27
Tabulka 1.8: Detekční limity širokospektrálních rychlotestů k vybraným léčivým přípravkům vzhledem ke stanoveným MRL.....	29
Tabulka 1.9: Seznam vybraných selektivních rychlotestů.....	30
Tabulka 1.10: Metoda šesti ploten .....	30
Tabulka 1.11: Vybrané fyzikálně-chemické a jiné moderní metody stanovení RIL v mléce .....	31
Tabulka 1.12: Moderní metody detekce reziduí pesticidů v mléce .....	34
Tabulka 3.1: Léčivé přípravky použité k léčbě a zaprahování (n=145*).....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 3.2: Rozdělení kontaminantů do skupin a počet analýz v mléce přežvýkavců v letech 2006–2020 v ČR.....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 4.1: Parametry syrového kravského mléka pro splnění režimu jakosti Q CZ .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 4.2: Základní parametry jakosti mléka lčených dojnic v závislosti na indikaci použití léčiva .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 4.3: Základní parametry jakosti mléka lčených dojnic v závislosti na počtu léčivých složek v použitém léčivém přípravku	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 4.4: Základní parametry jakosti mléka v závislosti na dodržení stanovené doby ochranné lhůty (OL).....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Tabulka 4.5: Vliv sledovaných faktorů na výsledky detekce reziduí inhibičních látek pomocí testů Delvotest T, Twinsensor BT 020 a Eclipse 50 u vzorků kravského mléka (n = 114).....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>

---

---

Tabulka 4.6: Celkové počty vyšetřených, pozitivních a nadlimitních vzorků pesticidů v mléce kravském, ovčím a kozím v období 2006-2020 **Ошибка! Закладка не определена.**

Tabulka 4.7: Vyhodnocení monitoringu reziduí pesticidů v ČR za období 2006-2020 v závislosti na druhu mléka..... **Ошибка! Закладка не определена.**

Tabulka 4.8: Vyhodnocení monitoringu reziduí pesticidů v ČR u kravského, ovčího a kozího mléka v závislosti na období ..... **Ошибка! Закладка не определена.**

---

---

## **Seznam použitých zkratek**

Následující pasáž **Seznam použitých zkratek** o rozsahu 2 stran je zatím z elektronické verze vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře.

---